



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**

**Instituto de Investigaciones Agropecuarias y
Forestales
Programa Institucional de Maestría en Ciencias
Biológicas**



**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE TRES NUCLEOPOLIEDROVIRUS SOBRE
DISTINTAS POBLACIONES MEXICANAS DEL GUSANO
COGOLLERO, *Spodoptera frugiperda* J. E. SMITH
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

TESIS

Que presenta:

Biol. DIANA VELY GARCÍA BANDERAS

Para obtener el grado académico de:

Maestra en ciencias biológicas

Directora de tesis:

DRA. ANA MABEL MARTÍNEZ CASTILLO

Morelia, Michoacán, México. Marzo de 2016.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por permitirme llevar a cabo mi proyecto de tesis dentro de sus instalaciones.

A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por financiar este proyecto de tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada.

A la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo, por darme la oportunidad de trabajar bajo su tutela sin haberme conocido y ofrecerme su entera confianza para llevar a cabo este proyecto, por su paciencia y su motivación que han sido fundamentales para mi formación como investigador y sobre todo por la gran enseñanza que me ha compartido en este proyecto.

Al Dr. Fernando Tamayo Mejía por sus oportunas y acertadas aportaciones realizadas a la presente investigación y por la revisión del escrito, por la confianza, respaldo incondicional que me ha brindado desde siempre, por esas grandes palabras que me motivaron y alentaron para seguir en este magnífico mundo de la ciencia.

Al Dr. Samuel Pineda Guillermo por sus conocimientos compartidos durante esta etapa de mi formación académica y por sus aportaciones al presente trabajo de investigación además de sus valiosas observaciones al escrito de la misma.

Al Dr. José Isaac Figueroa de la Rosa por su confianza y sencillez que lo caracterizan por su apoyo, conocimientos brindados durante esta etapa de mi formación académica y revisión del escrito.

Dr. Rodrigo Lasa Covarrubias por enriquecer enormemente este trabajo de investigación con sus conocimientos y por sus acertadas aportaciones en este trabajo, además de sus valiosas observaciones en revisión del escrito.

Al M. C. Juan Cisneros Hernández, investigador del colegio de la frontera Sur Unidad Tapachula, Chiapas, al Dr. José Luis Corrales Madrid, investigador de la Universidad Autónoma de Sinaloa, y a los biólogos Luis y Enrique por la ayuda brindada en la colecta del material biológico.

A Misael, Mayra, Lucero, Berenice, Anel, Rossy y Nereo por enseñarme a no darme por vencida, por su apoyo incondicional y por enseñarme el verdadero valor de la una sincera amistad.

A mis amigos y compañeros de laboratorio, a Yadira, Ofelia, Norma, Alicia, Fabiola, Mirella, Laura, Ariana, Perla, Olga, Dalia, Eder, Saúl, Jesús Palma, Jesús Herrera, Daniel, Sinue y Manuel Chavarrieta a quienes aprecio mucho por todos los momentos gratos que hemos pasado y por brindarme su valioso apoyo cuando más lo necesité.

¡Para todos y para quienes por descuido no mencioné infinitas gracias!

DEDICATORIA

A Dios por acompañarme en todo momento y darme la fortaleza de salir adelante en esas veces que creí no poder.

A “mis héroes”, mis padres Enio y Juanita por darme el impulso necesario para cambiar el rumbo, por demostrarme que en la vida nunca se deja de aprender y que solo con perseverancia y dedicación podemos alcanzar lo que mereceremos.

A mis hermanos Juan Pablo, Yoceli Crisol y Edgardo Enrrrique por creer en mí y darme todo su apoyo incondicional para alcanzar mis metas.

“No estudio por saber más, sino por ignorar menos”

Sor Juana Inés de la Cruz

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS	i
RESUMEN	ii
ABSTRACT	iii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 El maíz <i>Zea mays</i>	3
2.1.1 Principales plagas del maíz	3
2.2 Importancia de <i>S. frugiperda</i>	5
2.2.1 Ciclo de vida y hábitos.....	6
2.3 Biotipos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	8
2.4 Métodos de control.....	9
2.4.1 Control cultural.....	9
2.4.2 Control químico.....	10
2.4.3 Control biológico	11
2.5 Los baculovirus	12
2.5.1 Generalidades	12
2.5.2 Estructura y composición de los baculovirus	13
2.5.3 Ciclo de infección y sintomatología.....	15
2.5.4 Ecología de los baculovirus	17
2.5.5 Diversidad de los baculovirus	18
2.5.6 Nucleopoliedrovirus múltiple de <i>S. frugiperda</i> (SfMNPV)	20
III. HIPÓTESIS	22
IV. OBJETIVOS	23
4.1 Objetivo general	23
4.2 Objetivos específicos	23
V. MATERIALES Y MÉTODOS	24
5.1 Poblaciones y cría de <i>S. frugiperda</i>	24
5.2 Procedencia de los virus y su replicación.....	25

5.3	Determinación de la concentración letal media (CL ₅₀) de los aislados del SfMNPV	26
5.4	Determinación del tiempo medio para morir (TMM) y producción de OBs por larva	27
VI.	RESULTADOS	29
6.1	Determinación de la CL ₅₀ de los aislados del SfMNPV	29
6.2	Determinación del tiempo medio para morir (TMM) y producción de OBs31	
VII.	DISCUSIÓN	35
VIII.	CONCLUSIONES	41
IX.	BIBLIOGRAFÍA	42

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

FIGURAS

- Figura 1.** Daño causado por gusano cogollero en una parcela de maíz..... 5
- Figura 2.** Ciclo de vida de *S. frugiperda* (imágenes de Diana V. García Banderas).
..... 7
- Figura 3.** Sintomatología de una larva de *S. frugiperda* previa a la muerte (A) y una muerta (B) por la acción del SfMNPV (imágenes de Diana V. García). 16
- Figura 4.** Esquematación del ciclo de infección de un nucleopoliedrovirus (Adaptado de Motoko *et al.*, 2014). 17
- Figura 5.** Diferencias morfológicas utilizadas para la separación de sexos en estado de pupa. En el 9º segmento abdominal de los machos se encuentra, sobre un área circular, una pequeña elevación señalada por una incisión. La hembra no presenta relieve tegumentario, hay una incisión longitudinal diferenciada que alcanza el margen del 7º segmento abdominal y se prologa por los segmentos 9º y 10º..... 25
- Figura 6.** Número de muertos por virus en larvas de segundo estadio de distintas poblaciones de *S. frugiperda* causada por los aislados SfMNPV-NIC, SfMNPV-MER y SfMNPV-CHI. 32
- Figura 7.** Tiempo medio para morir (TMM) (horas) de los aislados SfMNPV-NIC, SfMNPV-MER y SfMNPV-CHI en larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* procedentes de cinco poblaciones distintas. Barras con la misma letra no difieren significativamente (Weibull, $P < 0.05$). 33

CUADROS

- Cuadro 2.** CL₉₀ estimada para cada aislado en las cinco poblaciones de *Spodoptera frugiperda*..... 28
- Cuadro 3.** Análisis de regresión a las 192 horas de larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* muertas por la exposición a los aislados de SfMNPV-NIC, SfMNPV-MER y SfMNPV-CHI. 30
- Cuadro 4.** Mediana de la producción de OBs por larva de los aislados SfMNPV-CHI, SfMNPV-MER y SfMNPV-NIC en larvas de segundo estadio de cinco poblaciones de *S. frugiperda*..... 34

RESUMEN

Los baculovirus son un grupo de virus patógenos, específicos de artrópodos, que en la actualidad se utilizan como bioinsecticidas en varios países del mundo. En este estudio se evaluó la actividad biológica de tres aislados del nucleopoliedrovirus múltiple de *S. frugiperda* (SfMNPV-CHI, SfMNPV-MER y SfMNPV-NIC, provenientes de los estados de Chiapas, Mérida y Nicaragua, respectivamente) sobre distintas poblaciones mexicanas del gusano cogollero (GC), *Spodoptera frugiperda*, J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), la plaga más importante del maíz, *Zea mays* L., en México. Las poblaciones de este insecto se colectaron en los estados de Chiapas (Sf-CHI), Michoacán (Sf-MICH), Guanajuato (Sf-GTO) y Sinaloa (Sf-SIN). Además, se utilizó una colonia de laboratorio como referencia (Sf-LEA). Entre la población de campo (Sf-SIN) (rango de 5.30×10^4 a 4.56×10^4 OBs/ml) (OBs, cuerpos de inclusión por sus siglas en inglés) y la colonia Sf-LEA (rango de 1.14×10^4 a 2.59×10^4 OBs/ml) no se observaron diferencias entre los valores de las CL_{50} s de los distintos virus evaluados. Similarmente, los valores de la CL_{50} de los aislados SfMNPV-NIC y SfMNPV-CHI no mostraron diferencias en las poblaciones de *S. frugiperda*. En contraste, el virus SfMNPV-MER fue 7.6 veces menos activo que el virus SfMNPV-NIC en la población Sf-CHI, pero éste último fue 6.5 y 3.1 veces más patogénico en las poblaciones Sf-MICH y Sf-GTO, respectivamente. Los valores menores del tiempo medio para morir se observaron en la población Sf-LEA (rango de 89 a 100 hpi), mientras que los mayores se observaron en la población de Sf-GTO (rango de 142 a 156 hpi). La producción de OBs/larva se observó en un rango entre 2.12 y 16.8×10^7 . Con excepción de la población Sf-GTO, la mayor producción de OBs/larva se obtuvo con los aislados SfMNPV-NIC y SfMNPV-CHI en las otras cuatro poblaciones evaluadas (Sf-LEA, Sf-CHI, Sf-MICH y Sf-SIN). En conclusión, en la mayoría de las poblaciones del GC la actividad de los aislados nativos fue similar al virus exótico. Sin embargo, la velocidad de acción y producción de OBs/larva fueron contrastantes entre las poblaciones, por lo que se requieren estudios genéticos detallados que permitan conocer la naturaleza de estas diferencias. Así mismo, se requieren estudios futuros que determinen su eficacia en condiciones de campo.

Palabras clave: Baculovirus, patogenicidad, virulencia, productividad, gusano cogollero.

ABSTRACT

Baculoviruses are arthropod-specific viruses currently used as biological insecticides in several countries of the world. In this study, the biological activity of three isolates of nucleopolyhedrovirus of *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV-CHI, SfMNPV-MER y SfMNPV-NIC, from the State of Chiapas, Merida and Nicaragua, respectively) was evaluated in different Mexican populations of the fall armyworm (FAW), the principal pest of maize, *Zea mays* L., in Mexico. The insect populations were collected in the states of Chiapas (Sf-CHI), Michoacan (Sf-MICH), Guanajuato (Sf-GTO), and Sinaloa (Sf-SIN). As reference, a laboratory colony (Sf-LEA) was used. No differences were observed in the LC_{50s} values among isolates evaluated on the Sf-SIN population (range from 5.30×10^4 to 4.56×10^4 OB/ml) (OB, occlusion bodies) and the Sf-LEA colony (range from 1.14×10^4 to 2.59×10^4 OBs/ml). Similarly, the LC_{50s} values of SfMNPV-NIC and SfMNPV-CHI isolates were no different in all insect populations tested. In contrast, the SfMNPV-MER isolate was 7.6-fold less active than SfMNPV-NIC isolate in the Sf-CHI population, but this was 6.5 and 3.1-fold more pathogenic in Sf-MICH and Sf-GTO populations, respectively. The lowest values of time mean to death were observed in Sf-LEA colony (range from 89 to 100 hpi), while the highest values were observed in the Sf-GTO population (range from 142 to 156 hpi). The production of OBs per larva was observed between 2.12 and 16.8×10^7 . The SfMNPV-NIC and SfMNPV-CHI isolates had the highest productivity in four of the five populations evaluated. In conclusion, in the most FAW populations the activity of native isolates was similar to the exotic virus. However, the speed of action and production of OBs per larva were contrasting among the populations evaluated, therefore detailed genetic studies are required to know the nature of these differences. Future studies are also needed to determine its effectiveness in field conditions.

I. INTRODUCCIÓN

El maíz, *Zea mays* L., es el cultivo agrícola más importante en México al ocupar anualmente alrededor de ocho millones de hectáreas (Ha), de las cuales cerca del 20% se encuentran bajo riego y el resto se siembra bajo temporal (Guzmán-Soria *et al.*, 2011; SAGARPA, 2013). El 75% de esta superficie utiliza semillas de variedades criollas adaptadas a las condiciones climáticas y socioeconómicas de los productores (SAGARPA, 2013). Sin embargo, los maíces híbridos también juegan un papel determinante en la producción del grano. Los principales estados productores en México son: Jalisco, Veracruz, Chiapas, Tamaulipas, Oaxaca, Zacatecas, Michoacán y Guanajuato. (Guzmán-Soria *et al.*, 2011; SIAP, 2014).

El maíz es atacado por diversos insectos plaga que pueden afectar su desarrollo y rendimiento. Entre éstas destaca el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), el cual puede atacar a la planta desde las primeras etapas de desarrollo hasta la etapa de floración (Murúa *et al.*, 2006). Para el año 2013, al menos 18 entidades federativas reportaron pérdidas considerables por el gusano cogollero. Por ejemplo, en la región del Bajío, donde se incluyen los estados de Jalisco, Aguascalientes, Michoacán, Guanajuato y Querétaro, se registró un total de 846,450 ha dañadas con incidencias de ataque que oscilaron del 13 al 60%. *S. frugiperda* se puede comportar como trozador de la planta en etapas tempranas, lo cual ha provocado que el agricultor tenga que resembrar el cultivo de maíz y con ello incrementar los costos de producción (F. Tamayo, conversación personal).

Los insecticidas químicos han sido la forma más común para controlar a *S. frugiperda*. No obstante, su uso excesivo tiene un impacto negativo en las poblaciones de organismos no blanco (Williams *et al.*, 1999) y puede favorecer el desarrollo de resistencias (Chandler y Summer, 1991). Wyckhuys *et al.* (2013) señalaron que, de acuerdo a una exploración realizada en la base de datos Arthropod Pesticide Resistance, *S. frugiperda* ha desarrollado resistencia a 29 insecticidas químicos en países en desarrollo. Esta situación ha incrementado la necesidad de estudiar alternativas ecológicamente aceptables mediante el uso de entomopatógenos tales como los baculovirus para su control, los cuales se pueden integrar como parte de un programa de manejo integrado de esta plaga (MIP), ya que estos baculovirus causan un menor impacto al medio ambiente por ser específicos de artrópodos.

La familia Baculoviridae es la más numerosa y ampliamente estudiada, con aplicaciones reconocidas en el desarrollo de insecticidas biológicos en programas de control de plagas agrícolas y forestales (Moscardi, 1999; Williams *et al.*, 1999; Cisneros *et al.*, 2002; Armenta *et al.*, 2003). El nucleopoliedrovirus múltiple de *S. frugiperda* (SfMNPV) ha sido aislado de poblaciones del gusano cogollero en Estados Unidos de América, Nicaragua, Colombia, Argentina (Shapiro *et al.*, 1991; Berretta *et al.*, 1998; Escribano *et al.*, 1999; Barrera *et al.*, 2011) y México (Ríos-Velasco *et al.*, 2011). Algunos de estos aislados han sido evaluados bajo condiciones de campo en el sureste de México para el control de *S. frugiperda* (Williams *et al.*, 1999), lo cual ha resultado en niveles importantes de mortalidad larvaria combinado con una mortalidad significativa del parasitismo natural (Armenta *et al.*, 2003).

Actualmente, en diversos países se emplean baculovirus para el control de diferentes plagas de importancia agrícola. Entre estos países destaca Brasil en donde se utilizan aislados nativos del SfMNPV con alta actividad bioinsecticida para *S. frugiperda*, obteniendo mortalidades del insecto entre el 89% y el 90% en campo (Valicente y Da Costa, 1995). Así mismo, en Colombia se han realizado aplicaciones de un virus nativo en parcelas con presencia de cogollero demostrando que es capaz de disminuir el porcentaje de daño tanto como un insecticida químico (Villamizar *et al.*, 2012). Sin embargo, es ampliamente reconocido que la actividad biológica de los NPVs puede variar dependiendo de su ubicación geográfica, características genéticas, origen del hospedero y características fenotípicas (Escribano *et al.*, 1999; Houdson *et al.*, 2001; Simón *et al.*, 2005, 2008; Barrera *et al.*, 2011). Debido a ello, los estudios encausados al uso de los baculovirus como agentes de control, requieren ser evaluados en términos de su actividad sobre la población que se desea controlar.

En el presente estudio, se evaluaron los parámetros de patogenicidad, virulencia y producción viral de tres aislados del SfMNPV sobre cuatro poblaciones mexicanas de *S. frugiperda*. Estos parámetros son los más comúnmente estudiados porque reflejan las características biológicas de los patógenos que son explorados como agentes de control (Tanada y Kaya, 1993; Houdson *et al.*, 2001; Martínez *et al.*, 2012).

II. ANTECEDENTES

2.1 El maíz *Zea mays*

El maíz es el segundo cultivo más importante a nivel mundial después del trigo (Paliwal, 2001). Globalmente, este grano se cultiva en más de 140 millones de hectáreas con una producción anual de más de 580 millones de toneladas; en 2009 alcanzó una producción de 787 millones (FAO, 2010). Los principales países productores de este grano son Estados Unidos de América, que puede contribuir hasta con 40% de la producción total, China, Brasil y México que contribuyen con el 19, 6 y 3%, respectivamente (SAGARPA, 2013).

En Latinoamérica, este cultivo tiene una importancia relevante debido a que constituye la base de la alimentación humana. Mesoamérica se considera como el centro de origen del maíz, el cual ha sido extendido alrededor del mundo debido a su gran capacidad para adaptarse a diversas condiciones ecológicas y edáficas (Doebley, 1987; Benz, 1999; Benz, 2001; OCDE, 2003; Benz, 2006). En México se producen diversas variedades del maíz, aunque la más importantes son el maíz blanco y amarillo, puesto que es la base de una gran cantidad de productos de consumo humano y pecuario, además de su uso industrial (Aragón-Cuevas *et al.*, 2006). Los principales estados productores del maíz blanco son: Sinaloa, Jalisco, Michoacán, Chiapas, Guerrero, Estado de México, Guanajuato, Veracruz y Puebla (SIAP, 2014). En relación al maíz amarillo, los estados de Chihuahua, Jalisco, Tamaulipas y Chiapas contribuyen con el 94% de su producción (SIAP, 2014).

2.1.1 Principales plagas del maíz

El cultivo del maíz es atacado por diversas plagas, las cuales limitan la óptima producción del cultivo. De acuerdo a sus hábitos alimenticios, las plagas de maíz, se pueden dividir en los siguientes grupos: los que se alimentan de la raíz, los herbívoros foliares y los que atacan al fruto. Espinosa-Islas *et al.*, (2005) y Nájera (2005) señalan que una de las principales plagas rizófagas es el complejo gallina ciega, del cual los géneros más representativos son *Phyllophaga*, *Anomala*, *Cyclocephala*, *Diplotaxis* y

Macrodactylus, entre los que destacan por su importancia *Phyllophaga ravidata* (Blanch) (Coleoptera: Melolonthidae), *P. vetula* (Horn) (Coleoptera: Melolonthidae) *P. dentex* Bates (Coleoptera: Melolonthidae), *P. misteca* (Bates) (Coleoptera: Melolonthidae), *P. rubella* Bates (Coleoptera: Melolonthidae), *Cyclocephala lunulata* Burmeister (Coleoptera: Melolonthidae) y *Anomala inconstans* Burmeister (Coleoptera: Melolonthidae) (Nájera, 1998). Sin embargo, existen otras especies como el gusano alfilerillo *Diabrotica virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae), la catarina del maíz *Colaspis spp.* (Coleoptera: Chrysomelidae) y el gusano de alambre *Agriotes spp.* (Coleoptera: Elateridae) que se pueden comportar como plagas secundarias, pero que aun así pueden afectar de manera significativa el cultivo. El gusano elotero, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) se alimenta del grano fresco ocasionando daños significativos.

Por otra parte, también existen diversas especies de insectos que se alimentan del follaje; entre ellos *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), el trips *Frankliniella williamsi* Hood (Thysanoptera: Thripidae), gusano soldado, *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), gusano trozador, *Agrotis spp.* (Lepidoptera: Noctuidae), barrenador del tallo, *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae), frailecillo, *Macrodactylus mexicanus* Buermeister (Coleoptera: Scarabaeidae), y los picudos *Geraeus senilis* Casey y *Nicentrites testaceipes* Champion (Coleoptera: Curculionidae). Las poblaciones de los ácaros como *Oligonychus mexicanus* McGregor y Ortega (Acari: Tetranychidae) y *Tetranychus spp.* (Prostigmata: Tetranychidae) incrementan cuando existen altas temperaturas y sequías prolongadas (CESAVEG, 2011). Es importante destacar que las especies de chapulines *Melanoplus differentialis* Thomas (Orthoptera: Acrididae) y *Sphenarium purpurascens* Charpentier (Orthoptera: Pyrgomorphidae) atacan al maíz desde la etapa de verticilo medio hasta la madurez y consumen todas las partes de las plantas (CIMMYT, 2014).

Dentro del complejo de plagas anteriormente señaladas, sólo se realizará una descripción de *S. frugiperda*, la cual es la plaga de mayor importancia económica del maíz en México y objeto del presente estudio.

2.2 Importancia de *S. frugiperda*

El gusano cogollero es considerado una de las plagas más importantes del maíz en las regiones tropicales y subtropicales de América, por el daño que realiza desde el inicio del desarrollo de la planta hasta antes de la cosecha (Carrillo, 1993). *Spodoptera frugiperda* es de los pocos insectos que se dispersan y reproducen a través de todo el continente americano (Abbas *et al.*, 1989), presenta un amplio rango de hospederos entre los que destacan maíz, sorgo, algodón, soya, papa, tomate y varias especies de pastos (Pacheco, 1994).

En diversas entidades de México, se han registrado pérdidas de producción causadas por este insecto que van de un 13 a 60%, y en ocasiones pérdidas totales del cultivo especialmente cuando este se encuentra en la etapa fenológica de floración. Al respecto en un estudio realizado en México por Rodríguez y de León (2008) muestran que las pérdidas en el rendimiento, causadas por la presencia de la plaga en el cultivo de maíz, oscilan entre 30 y 40%. Los daños más serios se presentan en las regiones tropicales y subtropicales (Del Rincón *et al.*, 2006).



Figura 1. Daño causado por gusano cogollero en una parcela de maíz.

2.2.1 Ciclo de vida y hábitos

El gusano cogollero es un insecto holometábolo, es decir pasa por cuatro estados bien diferenciados huevo, larva, pupa y adulto (Figura 2). El ciclo completo dura aproximadamente entre 35 y 40 días y depende de la temperatura y humedad (Murúa *et al.*, 2003). Cada hembra oviposita un promedio de 1044 ± 391 huevos a lo largo de su vida, agrupados en masas de 100 a 150 huevos cada una (Murúa y Virla, 2004a; Murúa *et al.*, 2008). Las masas de huevos son protegidas por secreciones del aparato bucal y escamas de su cuerpo que sirven como protección contra algunos enemigos naturales o factores ambientales adversos (Capinera, 1999). Los huevos son esféricos, blanquecinos, estriados, de aproximadamente de 0.5 mm de diámetro por 0.35 mm de largo, cada huevo posee de 48 a 50 costas radiales con notables costas transversales y tiene una duración aproximada de cinco días (Pacheco, 1994; Bautista, 2006). Las hembras depositan los huevos tanto en el haz como en el envés de las hojas de sus hospederos y habitualmente éstos son puestos en las primeras horas de la noche (Clavijo y Pérez-Greiner, 2000; Murúa *et al.*, 2009). Las larvas al salir del huevo permanecen agrupadas en la parte baja de la planta y refugiadas entre las hojas. Las larvas neonatas generalmente se alimentan del corion, más tarde se trasladan a diferentes partes de la planta o a las vecinas a través de un hilo de seda, evitando así la competencia por el alimento y el canibalismo, las larvas de los primeros estadios tienen hábitos trozadores, pero más tarde se comportan como un gusano defoliador (Pacheco, 1994; Chapman *et al.*, 2000). Las más jóvenes comen durante el día mientras que en los últimos estadios son más activas de noche. El período larval dura un promedio de 25 días, pasando generalmente por seis estadios (Murúa *et al.*, 2003; Murúa y Virla, 2004a; Murúa *et al.*, 2008). Cada estadio se puede diferenciar perfectamente mediante el ancho y longitud de la cabeza, los primeros estadios son de color verde con manchas y líneas oscuras dorsales; sin embargo, en los últimos estadios son de color verde o café brillante, la región lateral baja presenta tres líneas longitudinales color blanco claro, mientras que arriba de los espiráculos se presentan líneas de color oscuro y amarillento. El octavo segmento abdominal presenta los cuatro pináculos dorsales formando un cuadrilátero, la cabeza es reticulada mide de 2.6 a 2.8 mm de ancho y se observa una mancha amarillenta en forma de Y invertida (Bautista y Vejar, 2007).



Figura 2. Ciclo de vida de *S. frugiperda* (imágenes de Diana V. García Banderas).

Las larvas del último estadio descienden al suelo para dar inicio con la formación de la pupa, estas generalmente se encuentran a una profundidad de 3 a 5 cm durante un periodo de 9 a 13 días aproximadamente (Pacheco, 1994; Miranda *et al.*, 2002). Las pupas son de tipo obtecta de color café rojizo y miden entre 15 mm de largo y 5 mm en su parte más ancha (Murúa *et al.*, 2003). Los espiráculos se ubican en el ápice de una proyección del tegumento que se recurva hacia el extremo posterior, se encuentran desde el 2° al 7° segmento abdominal, el 8° es apenas visible. El cremáster de las hembras forma dos espinas rectas y delgadas (Angulo y Weigert, 1975; Bautista, 2006).

Los adultos vuelan con facilidad durante la noche, los cuales son atraídos por la luz, miden aproximadamente dos cm de longitud por 32 a 38 mm de expansión alar, son de color gris con tonos café (Pacheco, 1994; Murúa y Virla, 2004a). Presenta dimorfismo

sexual, puesto que las hembras las alas anteriores varían de gris a café, con manchas claras, mientras que las de los machos son beige con una mancha elíptica blanquecina cerca del centro y a un lado de esta mancha tiene otra franja diagonal de color claro dirigida del margen costal hacia el centro (Bautista, 2006).

2.3 Biotipos de *Spodoptera frugiperda*

El hábito polífago presentado por algunos insectos puede favorecer o resultar en la diferenciación de biotipos o razas hospederas (Dres y Mallet, 2002). En *S. frugiperda* se han identificado dos biotipos relacionados por sus preferencias de plantas hospederas (Pashley, 1986, Pecina-Quintero *et al.*, 2015). El “biotipo arroz” se ha asociado con arroz y pastos, mientras que el “biotipo maíz” predomina en maíz, algodón y sorgo (McMichael y Prowell, 1999). Estos biotipos han sido identificados en varios países, entre ellos: Estados Unidos, Puerto Rico, Guadalupe, República Dominicana, Jamaica, Costa Rica, Guyana Francesa, Colombia, Ecuador, Brasil, Argentina y México (Pecina-Quintero *et al.*, 2015).

Hay que destacar que estos biotipos son estructuralmente indistinguibles y pueden encontrarse en proceso de especiación, pero difieren en características tales como tasas de desarrollo, peso y sobrevivencia de larvas y pupas, entre otras características (Whitford *et al.*, 1992; Dres y Mallet, 2002). Además, Pashley y Martin (1987) observaron que cuando las hembras del biotipo maíz se cruzaban con machos del biotipo arroz, no se producía progenie y los espermátóforos no se transferían, lo cual fue evidencia de un aparente aislamiento reproductivo. Sin embargo, Whitford *et al.* (1988) obtuvieron una descendencia fértil en los cruces de ambos biotipos en laboratorio. Más tarde, López-Edwards *et al.* (1999) demostraron que entre las poblaciones mexicanas de los estados de Aguascalientes, Nuevo León y Yucatán existió compatibilidad reproductiva, ya que fueron capaces de producir una progenie fértil; sin embargo, no existió compatibilidad cuando individuos estas poblaciones se aparearon con individuos de Colima y Sinaloa. Lo anterior sugirió que las poblaciones de gusano cogollero del maíz podrían haber desarrollado aislamiento reproductivo tal vez, debido al aislamiento geográfico. Estos mismos autores indicaron que las poblaciones originarias de Nuevo León y Aguascalientes fueron más susceptibles al patógeno *Bacillus thuringiensis* Berliner (0.001 y 0.005 mg/L respectivamente) comparadas con la población de Sinaloa cuya CL₅₀ fue de 0.045 mg/L. Así mismo, se observaron

algunas diferencias en la susceptibilidad de dichas poblaciones a los insecticidas químicos carbofuran y endosulfan. La población de Aguascalientes resultó ser más susceptible al carbofuran comparada con la población de Nuevo León (0.033 y 1.36mg/L, respectivamente). No se encontraron diferencias significativas con respecto a la susceptibilidad de las poblaciones de Aguascalientes y Yucatán hacia el endosulfan (0.023 y 0.054 mg/L, respectivamente) (López-Edwards *et al.*, 1999)

Lo anterior sugiere que estas poblaciones son capaces de desarrollar diferencias en cuanto a la susceptibilidad hacia insecticidas químicos y biológicos con respecto a la región geográfica de la misma población (López-Edwards *et al.*, 1999). Sin embargo, existen factores como la resistencia que pueden contribuir para esta condición (Wyckhuys *et al.*, 2013).

2.4 Métodos de control

Las medidas de control de esta plaga difieren con la variedad de maíz y el estado de desarrollo de la planta. La integración de medidas fitosanitarias aumenta la posibilidad de lograr un control efectivo de las diversas plagas que atacan el maíz durante sus distintas etapas de crecimiento, no obstante el control de *S. frugiperda* se realiza mediante varios métodos:

2.4.1 Control cultural

Comprende una serie de medidas que tienen la finalidad de eliminar todo refugio que sirva de protección al insecto. La preparación del terreno y la eliminación de malezas tiene una contribución importante en la reducción de las poblaciones de la plaga, las pupas que permanecen en el suelo pueden ser controladas con esta actividad exponiéndolas a depredadores y a las condiciones adversas, así como, evitar la posibilidad de que la plaga encuentre hospederos alternos que hacen más difícil el combate de ésta por mantener un reservorio de la misma (Chacón y Zocco, 1994; CESAVEG, 2011).

2.4.2 Control químico

En la agricultura el uso de insecticidas sintéticos ha sido el método más empleado para el control de insectos plaga debido a su disponibilidad, simplicidad de empleo y resultados a corto plazo (McConnell y Hruska, 1993). Los principales grupos químicos de insecticidas para controlar las poblaciones de *S. frugiperda* se encuentran los organofosforados, piretroides y carbamatos.

Organofosforados. Estos se encuentran dentro del grupo químico de los compuestos orgánicos derivados de la molécula del ácido fosfórico, este grupo de insecticidas son compuestos muy tóxicos para los vertebrados comparados con el resto de los insecticidas y no son muy persistentes en los sistemas agrícolas. Los insecticidas químicos del grupo de los organofosforados actúan por ingestión principalmente y en bajo efecto por inhalación, y por contacto por la absorción a través de los lípidos de la cutícula del insecto (Moreno *et al.*, 2010; Bisset, 2002). El modo primario de acción del grupo de los insecticidas organofosforados consiste en la inhibición de la acetilcolinesterasa, en las uniones sinápticas por medio de carbamilación o fosforilación en su centro activo (IRAC, 2011). Actúan como análogos de la acetilcolina. Los organofosforados forman enlaces covalentes muy estables con la enzima fosforilada, la liberación de esta enzima todavía puede ocurrir pero la reacción es mucho más lenta que con la acetilcolina. Por lo tanto, la acetilcolinesterasa no puede reaccionar eficientemente con la acetilcolina liberada, el transmisor no se restablece y la función del nervio se altera.

Piretroides. Son compuestos químicos sintéticos que se basan estructuralmente en una molécula obtenida de la piretrina, que es naturalmente producida por la planta ornamental *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trevii). Estos compuestos químicos actúan a nivel de la membrana nerviosa, interfiriendo en la conformación de proteínas en la interterfase lípido-proteica, provocando un aletargamiento en el bloqueo de los canales de sodio una vez después de que pasó el impulso (IRAC, 2011).

Carbamatos. Son sustancias orgánicas de síntesis conformadas por un átomo de nitrógeno unido a un grupo lábil, el ácido carbámico. Este tiene un efecto neurotóxico que, en la dosis correspondiente, conlleva a la muerte. Sus características principales son su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos, característica ésta que lo

posiciona en ventaja con respecto a los organoclorados de baja degradabilidad y gran acumulación. Al igual que los organofosforados actúan produciendo una inhibición de la acetilcolinesterasa. Sin embargo, la unión de los carbamatos a la colinesterasa es reversible siendo su acción relativamente más corta y su toxicidad más baja (Ellenhorn, 1997; Nogué, 1995; Ribas 1995). A pesar de que en un primer momento estos compuestos fueron de gran utilidad, las poblaciones de esta plaga generaron rápidamente resistencia hacia los insecticidas antes mencionados por al menos dos décadas en EE.UU. (Wood *et al.*, 1981; Georghiou y Mellon, 1983; Yu, 1992). Esta situación se repitió con poblaciones colectadas en maíz en México con los mismos grupos toxicológicos (Pacheco-Covarrubias, 1993; Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009) y con piretroides en Brasil (Diez-Rodríguez y Omoto, 2001).

2.4.3 Control biológico

El término control biológico se refiere al uso y manipulación de los enemigos naturales (parasitoides, depredadores y patógenos) para reducir las densidades poblacionales de las plagas a niveles que no superen el umbral económico y donde existe una interdependencia entre las poblaciones del enemigo natural y las del fitófago (Badii *et al.*, 2000).

Parasitoides. Los parasitoides pueden ocasionar porcentajes de mortalidad entre 35 y 70% (Armenta *et al.*, 2003). En México, se tienen un registro de por lo menos 40 especies de parasitoides (Molina *et al.*, 2003) entre los géneros más detectados se encuentran *Trichogramma spp* (Hymenoptera: Trichogrammatidae); *Chelonus spp* (Hymenoptera: Braconidae), *Apanteles sp* (Hymenoptera: Braconidae), *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae), *Meteorus laphygmae* Viereck (Hymenoptera: Braconidae), *Euplectrus spp* (Hymenoptera: Eulophidae), *Ophion spp* (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Pristomerus spinator* Fabricius (Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Capoletis spp* (Hymenoptera: Ichneumonidae) y varias especies de moscas parasitas de las familias Sarcophagidae y Tachinidae destacando *Archytas marmoratus* (Townsend) y *Lepesia archippivora* (Riley) (Diptera: Tachinidae). En regiones maiceras de México se ha demostrado la eficacia de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en el control biológico del gusano cogollero, cuando se libera la

avispa cada 10 días a partir de la tercera semana después de la siembra se logra un parasitismo de 92% con una dosis de 22,500 avispas por hectárea (Flores y Domínguez, 2003).

Depredadores. Los depredadores *Doru taeniatum* (Dohrn) (Dermaptera: Forficulidae), *Calosoma calidum* (Fabricius) (Coleoptera: Carabidae) y *Chrysopa* spp. (Neuroptera: Chrysopidae) son los enemigos naturales más abundantes del maíz en el Sur de México (Armenta *et al.* 2003; Cisneros *et al.* 2003). Al respecto Van-Huis (1981) mencionó que la depredación de los huevecillos de *S. frugiperda* por *D. taeniatum* puede causar un 57% de mortalidad en las poblaciones de campo en un estudio realizado en Nicaragua.

Patógenos. El gusano cogollero es susceptible a más de 16 especies de patógenos, entre los más importantes se encuentran los baculovirus (NPV y GV), hongos como *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Entomophthora aulicae* (Reich.), protozoarios; *Nosema laphygmae* Weiser, nematodos; *Hexameris* sp. y bacterias como *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Garden y Fuxa 1980).

2.5 Los baculovirus

2.5.1 Generalidades

Los baculovirus son un grupo de virus patógenos de artrópodos que deben su nombre a la forma de varilla o bastón de sus viriones (Caballero *et al.*, 2001). El tamaño del genoma oscila entre 85 y 166 kb y está organizado en una molécula circular de ADN de doble cadena (Blissard y Rohrmann, 1990). Los baculovirus producen dos tipos de partículas, una ocluida y otra no ocluida. El virus ocluido comprende decenas de viriones en una matriz de proteína que forma una estructura poliédrica llamado cuerpo de inclusión (OB, por sus siglas en inglés), el cual es el 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. Los viriones derivados de los OBs infectan a las células epiteliales del intestino medio para iniciar el primer ciclo de replicación o infección primaria. Subsecuentemente, los viriones no ocluidos salen de las células infectadas hacia el hemocele para causar la infección secundaria de otros tejidos y órganos

del insecto infectado. Para esto, el virus brotado parece utilizar el sistema respiratorio de tráqueas como una red de caminos para dispersarse en el insecto (Engelhard *et al.*, 1994).

Después de un cambio en su clasificación, la familia baculoviridae consta de cuatro géneros: *Alphabaculovirus*, que comprende los nucleopoliedrovirus específicos para lepidópteros, *Betabaculovirus*, que comprende los granulovirus específicos para lepidópteros, *Gammabaculovirus*, que comprende los nucleopoliedrovirus específicos para himenópteros fitófagos y *Deltabaculovirus*, que comprende los nucleopoliedrovirus específicos para dípteros (Jehle *et al.*, 2006).

La distribución espacial de los OBs de los baculovirus varía en función del tipo de ecosistema, las diferentes combinaciones baculovirus-insecto y de las distintas plantas sobre las que se alimentan los insectos hospederos (Fuxa, 2004). Además, el uso insecticida de los baculovirus, debido a su estrecho espectro de hospedero y a la ausencia de otros posibles efectos perjudiciales, constituye riesgos ambientales menores. Es por eso que en diferentes partes del mundo se ha demostrado que la utilización de bioinsecticidas basados en baculovirus puede reducir de forma significativa el consumo de plaguicidas químicos (Moscardi, 1999; Caballero *et al.*, 2009).

2.5.2 Estructura y composición de los baculovirus

La nucleocápsida. Su función básica es transportar la información genética del virus, en una forma altamente compactada, hasta la célula huésped (Federici, 1986). Esta estructura consiste en una vaina o cápsida cilíndrica, tapada en ambos extremos (base y tapa) cuyo interior constituye el núcleo donde se encuentra el ADN genómico enrollado y condensado. Presentan un diámetro entre 30 y 60 nm y una longitud entre 250 y 300 nm, aunque puede variar dependiendo del tamaño del genoma (Federici, 1986; Tanada y Hess, 1991). Su genoma oscila entre 80 y 180 kilopares de bases y se encuentra organizado en una molécula circular de ADN (Ayres *et al.*, 1994; Ahrens *et al.*, 1997). La estructura de la cápsida consiste en una serie de anillos apilados perpendicularmente que configuran la forma cilíndrica y entre cada anillo hay una separación aproximada de 4.5 nm (Federici, 1986).

Los viriones. Son los principales elementos infecciosos de los baculovirus tanto en la dispersión del virus entre los individuos de una población como entre los distintos órganos y tejidos dentro del mismo huésped (Caballero *et al.*, 2001). El virión maduro se forma cuando la nucleocápsida adquiere, en un momento determinado de la replicación del virus, una envuelta o membrana que tiene una estructura trilaminar típica compuesta por una capa de lípidos entre dos capas de proteínas (Federici, 1986). Dicha membrana da lugar a dos viriones diferentes, los derivados de los cuerpos de inclusión (ODVs) y los viriones brotados (BVs). Los ODVs se originan a partir de nucleocápsidas que permanecen en la misma célula en la que han sido sintetizadas dando lugar a la formación de viriones que quedan incluidos en los cuerpos o matrices codificados por el virus (Blissard y Rohrman, 1990).

Morfológicamente los OVDs se dividen en dos tipos: los que presentan una sola nucleocápsida por virión, denominados viriones simples y los que presentan un número variable de nucleocápsidas denominados viriones múltiples (Granados y Williams, 1986). Por su parte los BV contienen una sola nucleocápsida y todos son morfológicamente iguales, éstos se originan a partir de nucleocápsidas que una vez que han sido sintetizadas se mueven y abandonan las células del huésped; además son los responsables de diseminar la infección entre los órganos y los tejidos de la cavidad hemocélica del insecto (Blissard y Rohrmann, 1990). Muchos de los componentes estructurales de los BVs y ODVs son iguales, incluida la doble hebra de ADN circular, y las diferencias para adecuar sus respectivas funciones en un ciclo de infección radican principalmente en los componentes de sus respectivas envolturas (Posse *et al.*, 2010).

Cuerpos de inclusión. Los baculovirus al final del proceso infeccioso sintetizan grandes cantidades de poliedrina o granulina; según el género del virus, las cuales son proteínas que al cristalizarse forman una matriz en forma de poliedro irregular o gránulo. En los OBs quedan incluidos uno o varios viriones ODVs, dependiendo del tipo de virus, lo cual les permite preservar su capacidad infecciosa fuera del huésped, los OBs son insolubles en agua y resistentes a la putrefacción y desintegración por agentes químicos (Benz, 1986) y también a tratamientos físicos como la congelación, desecación o liofilización (Jacques, 1985), características que les permite la persistencia en el medio. En el género de los nucleopoliedrovirus los OBs de las distintas especies de virus varían entre 0.5 y 15 μm , la

forma de este puede ser cúbica, dodecaédrica, tetraédrica e irregular. El tamaño de los OBs de los granulovirus de las distintas especies es bastante homogéneo y varía entre 160 y 300 nm de ancho por 300-500 nm de largo (Federici, 1986).

2.5.3 Ciclo de infección y sintomatología

Existen cuatro mecanismos de entrada del baculovirus en el insecto: i) por vía oral, a través de alimento contaminado; ii) ruta transovum (contaminación de la superficie de huevo), iii) ruta transovárica (transmisión dentro del huevo) e iv) infección por medio de parasitoides durante la ovoposición (Granados, 1981; Mazzone, 1985). La más común se da cuando los OBs son ingeridos por las larvas al alimentarse, continúa con la dispersión de la enfermedad dentro del insecto y finaliza tras la muerte del mismo, con liberación de nuevos OBs que contienen las partículas infectivas. Durante el ciclo, se producen dos fenotipos de viriones con idéntico genotipo (Blissard y Rohrmann, 1990; Blissard, 1996), uno de los cuales (ODVs) es responsable de la transmisión horizontal de la enfermedad y el causante de la infección primaria del insecto. El otro (BVs) disemina la enfermedad dentro del hemocele del insecto, provocando la infección secundaria dando como resultado la generación de nuevos OBs y la muerte del insecto.

La infección primaria se lleva a cabo por la ingestión de los OBs presentes como contaminantes en el alimento de las larvas (Figura 4) y que debido a la alta alcalinidad de los jugos intestinales del insecto huésped (pH 8-11) que favorece una hidrólisis proteica de los OBs (Granados y Williams, 1986). Una vez liberados los viriones, éstos atraviesan la membrana peritrófica del intestino y se unen por fusión a las microvellosidades de las células epiteliales del intestino medio (Engelhard *et al.*, 1994). Posteriormente, las nucleocápsidas penetran en el citoplasma de las células y se dirigen hacia el núcleo en donde quedan desnudas liberando así el ADN (Granados y Williams, 1986). El material genético contenido en las nucleocápsidas se replica en el núcleo de las células. Según Blissard y Rohrmann (1990), el núcleo de la célula se hipertrofia y los nucléolos se dirigen hacia la periferia nuclear y decrecen en tamaño, para dar inicio a la transcripción de los primeros genes virales.

La infección secundaria de los baculovirus se logra debido a la diseminación de los BVs dentro del huésped. La entrada de los BVs a las células es producida por endocitosis. Mientras que algunos virus son retenidos en el intestino medio, otros son liberados e infectan diferentes tejidos; entre ellos: hemocitos, tráqueas, epidermis, tejido adiposo, muscular, nervioso, reproductivo, granular y células pericardiales (Passarelli, 2011). Durante el proceso de infección secundaria también se producen ODVs, éstos son gradualmente ocluidos dentro de una matriz proteica cristalina (poliedrina) para desarrollar los OBs, los cuales llenan el núcleo y son finalmente liberados tras la lisis celular (Sciocco, 2001; Cory, 2010) (Figura 3).

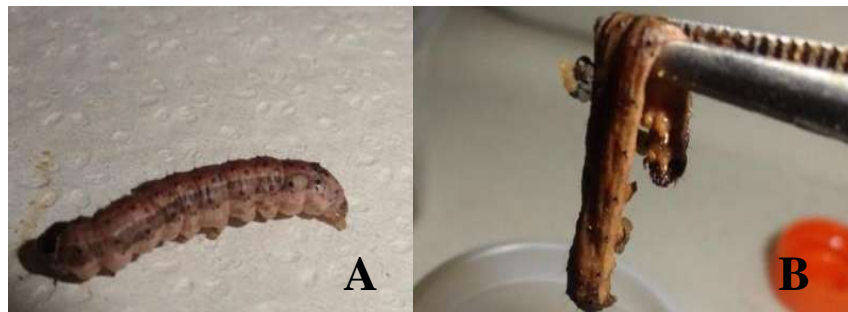


Figura 3. Sintomatología de una larva de *S. frugiperda* previa a la muerte (A) y una muerta (B) por la acción del SfMNPV (imágenes de Diana V. García).

Una determinada sintomatología se observa cuando la infección por los baculovirus se encuentra en estados avanzados. Generalmente, en las fases tardías de la infestación, se observan cambios en la coloración, debido a la acumulación de OBs en los tejidos afectados, tornándose de color blanquecino o amarillento, exhibiendo menor movilidad, mayor flacidez, pérdida de apetito y retraso en el desarrollo. Las larvas de lepidópteros tienden a alejarse del alimento y migran hacia la parte superior de la planta, para morir colgadas de las propatas (Sciocco, 2001). La aparición de los primeros signos de la enfermedad y tiempo letal dependen de determinados factores como: virulencia del aislamiento, dosis ingerida, edad larval, temperatura y estado nutricional. Por último, el integumento se degrada y se liberan millones de nuevos OBs para después dar origen a un nuevo ciclo de infección (Granados y Lawler, 1981).

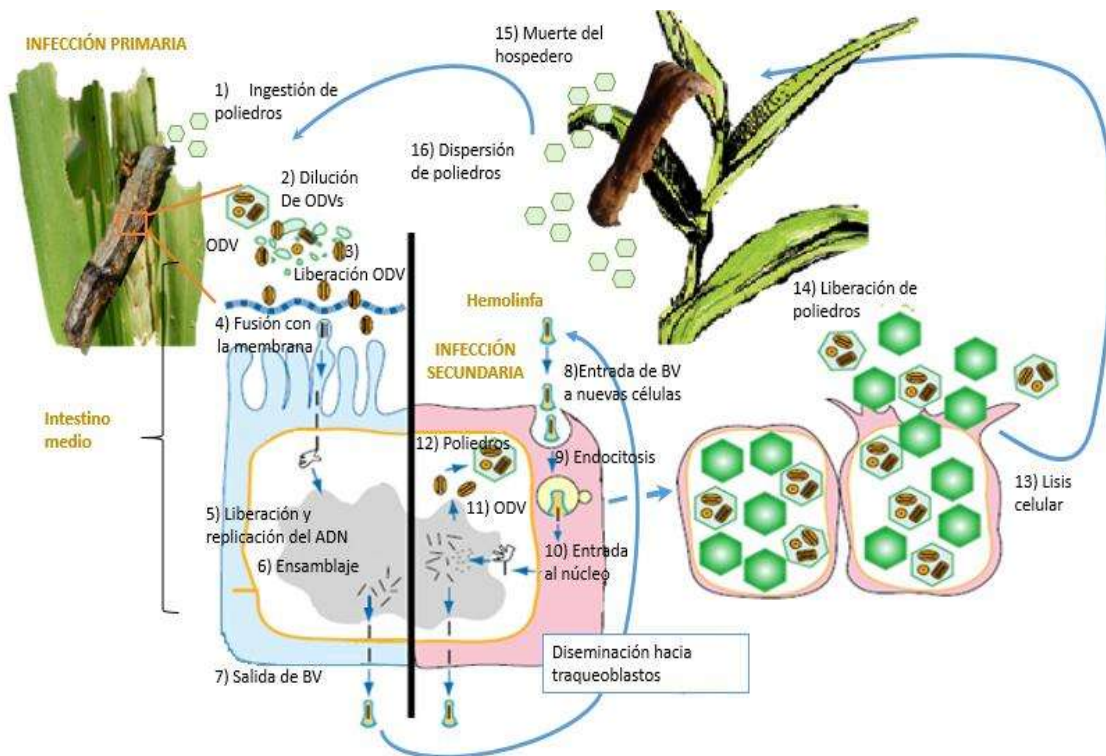


Figura 4. Esquematación del ciclo de infección de un nucleopoliedrovirus (Adaptado de Motoko *et al.*, 2014).

2.5.4 Ecología de los baculovirus

Los baculovirus son virus específicos de artrópodos cuyas características morfológicas, modo de acción y capacidad de persistencia en el ambiente los hacen excelentes candidatos para agentes de control biológico. Al mismo tiempo, los baculovirus son ideales para el estudio de la ecología de enfermedades. Para describir la ecología de los baculovirus, se utiliza la definición clásica de ecología como el estudio científico de la distribución y abundancia de los seres vivos y de sus relaciones entre sí con el medio físico. El estudio de la ecología de los baculovirus puede abordar desde aspectos moleculares y patológicos hasta evolutivos y de comportamiento (Dias-Vasconcelos, 2001).

Los estudios de ecología de virus se basan en relación a la sobrevivencia del hospedero o a la dinámica de población de éste. Sin embargo, un conocimiento profundo de su biología y ecología podrían ser la clave para que estos patógenos tengan impacto en

programas de manejo de insectos plaga (Cory y Evans, 2007; Cory, 2010). La persistencia de los baculovirus en el ambiente indica una importante adaptación fuera de su hospedero, en donde la infección de un nuevo hospedero se lleva a cabo a través de la transmisión horizontal. Aunque los OBs son susceptibles a la inactivación por radiación ultravioleta, pueden persistir en el ambiente por varios periodos de tiempo. Fuxa *et al.* (2007) señalan que los NPVs han controlado a insectos plaga durante varios años en suelos agrícolas expuestos a la lluvia, incluyendo a estos suelos a ciclos de rotación de cosecha.

El principal reservorio natural de los NPVs es el suelo, pero éstos pueden ser transportados abióticamente a insectos hospederos y a plantas (hojas y frutos) para iniciar epizootias. Los OBs que contienen viriones múltiples podrían ayudar a conservar su diversidad dentro de las poblaciones de virus y permitir una rápida adaptación (Cory y Evans, 2007). La capacidad de dispersión de los baculovirus depende de los cambios en el comportamiento del hospedero infectado, por la distancia que recorre y el sitio donde muere, lo anterior desencadena la propagación del virus dentro y entre generaciones de los hospederos (Cory y Myers, 2003).

Los baculovirus se pueden transmitir de manera horizontal y vertical. La transmisión horizontal se define como la transferencia del patógeno entre individuos de una misma generación. La eficiencia de dicha transmisión depende tanto de la densidad de población del virus como del huésped. Cuanto mayor es la densidad de los insectos susceptibles, mayor es la probabilidad de contacto entre el virus y el huésped. La transmisión vertical ha sido sugerida como una estrategia de sobrevivencia para el virus durante periodos de baja densidad de hospederos y cuando las oportunidades para la transmisión horizontal es restringida (Cory y Myers, 2003). En algunos grupos de insectos, como Lepidóptera, dicha transmisión aparece como un fenómeno común (Kukan, 1999), aunque los mecanismos y factores que regulan estos procesos no son totalmente comprendidos.

2.5.5 Diversidad de los baculovirus

La familia Baculoviridae se caracteriza por un alto grado de diversidad inter e intraespecífica. Los procesos de especiación de los virus están asociados con su hospedero

en co-evolución, lo cual se ve reflejado en los principales linajes de agrupación que coincide con el hospedero que infectan (Rohrman, 2013). Así, los baculovirus han evolucionado desde virus no ocluidos que infectan el tejido intestinal, y tejido graso, hasta virus que sólo se limitan a infectar células intestinales (*Gamma* y *Deltabaculovirus*) y finalmente a virus ocluidos con la habilidad de extender la infección a diversos tejidos (*Alphabaculovirus* y *Betabaculovirus*) (Herniou y Jehle, 2007).

La diversidad genotípica puede ser el resultado de recombinación natural (Hajós *et al.*, 2000) y de presencia de elementos transponibles (Jehle *et al.*, 1998) luego de infecciones simultáneas de múltiples genotipos. Estas variaciones en cuanto a la diversidad se han observado en regiones hipervariables del genoma (Stiles y Himmerich, 1998; Muñoz *et al.*, 1999; Cory *et al.*, 2005; Harrison *et al.*, 2008) y algunas de las regiones variables incluyen regiones homólogas y 27 genes *bro*, indicando la presencia de puntos calientes de recombinación (Erlandson, 2009). Mediante técnicas de clonación *in vivo* se demostró que el nucleopoliedrovirus de *Pannolis flammea* está compuesto de 24 genotipos (Cory *et al.*, 2005), el NPV de *S. exempta* por 17 genotipos (Redman *et al.*, 2010) y el NPV de *S. exigua* por 7 genotipos (Muñoz *et al.*, 1999). Así mismo, se han separado genotipos de *S. frugiperda* (SfMNPV) de aislados de campo provenientes de Nicaragua y Estados Unidos (Simón *et al.*, 2004; Harrison *et al.*, 2008).

La heterogeneidad intraespecífica está presente entre aislados que pertenecen a la misma especie provenientes de regiones geográficas distantes (diversidad interpoblacional) (Escribano *et al.*, 1999; Muñoz y Caballero, 2000; Rowley *et al.*, 2011) o incluso entre un sólo aislado, en el que existen mezclas de genotipos (diversidad intraespecífica) que difieren en su contenido genético (Muñoz y Caballero, 2000; Hodgson *et al.*, 2002; Simón *et al.*, 2004; Cory *et al.*, 2005; Figuereido *et al.*, 2009). Estas variantes genotípicas de nucleopoliedrovirus pueden ser co-ocuidas en un sólo OB, incluso dentro del mismo virión (Clavijo *et al.*, 2010). Se ha estimado que los ODV de nucleopoliedrovirus múltiples pueden contener hasta 29 genomas (Bull *et al.*, 2001), lo cual es favorable para la infección de larvas en estadios tardíos y en hospederos menos permisivos (Zwart *et al.*, 2009).

2.5.6 Nucleopoliedrovirus múltiple de *S. frugiperda* (SfMNPV)

El SfMNPV se encuentra clasificado dentro de la familia Baculoviridae, el cual ha sido estudiado ampliamente desde su primer reporte a comienzos de la década de los 70's (Summers y Anderson, 1973). Este virus prevalece en las poblaciones naturales de *S. frugiperda* y es capaz de generar epizootias cuando se encuentra en altas densidades (Hamm y Young, 1971). En un estudio de distribución y abundancia realizado por Williams (1999) en el sur de México, Belice y Guatemala, indicó que el virus puede estar presente en parcelas de maíz en producción, parcelas con residuos del cultivo o con antecedentes de infestación de la plaga.

El SfMNPV presenta una alta patogenicidad en contra de su hospedero homólogo y una virulencia semi-permisiva en hospederos alternativos como *S. exigua* y *S. littoralis* (Simón *et al.*, 2004). Con base en dichas características, se han obtenido diversos aislados de SfMNPV a partir de larvas recolectadas en varias regiones de Norte, Centro y Sur América (Maruniak *et al.*, 1984; Escribano *et al.*, 1999). A finales de la década de los noventa varios aislados del SfMNPV fueron caracterizados por Escribano *et al.* (1999). Estos autores 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 (SfMNPV-NIC) fue 15 veces más patogénico (2.04×10^5 OBs/ml) comparado con el virus de Argentina (3.06×10^6 OBs/ml) con base a los límites de confianza de las concentraciones letales medias determinadas para cada virus en larvas de segundo estadio.

Con base en el potencial que presentó SfMNPV-NIC, éste ha sido evaluado como un potencial bioinsecticida para el control del gusano cogollero del maíz (Moscardi, 1999; Williams *et al.*, 1999; Cisneros *et al.*, 2002; Armenta *et al.*, 2003). En experimentos realizados en campo de 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).

En un estudio posterior se determinó que el aislado SfMNPV-NIC posee una amplia diversidad genómica, ya que se identificaron nueve genotipos diferentes (Simón *et al.*,

2004), que en conjunto provocan una mayor actividad sobre el huésped (Simón *et al.*, 2005). En países como Brasil, Colombia y Perú se han realizado varios estudios para validar la efectividad del SfMNPV en laboratorio y campo (Moscardi, 1999; Barrera *et al.*, 2011; Vásquez *et al.*, 2002). El caso más sobresaliente es Brasil, donde el SfMNPV fue utilizado para tratar entre 5 000 y 10 000 ha de maíz en el año de 1995. Dicha extensión se ha incrementado hasta aproximadamente 20.000 ha para controlar larvas de primer y segundo estadio de *S. frugiperda* mediante una formulación granulada humectable a una concentración de 2.5×10^{11} OBs/ha (Moscardi, 1999; Szewczyk *et al.*, 2006). En un estudio realizado en México por Rios-Velasco *et al.* (2012) se caracterizaron mediante enzimas de restricción cuatro virus aislados de suelo (NAV1, CAD, AN1 y AN2), encontrando diferencias entre los aislados AN1 y AN2 con el resto de los demás, lo cual se vio reflejado en su patogenicidad.

III. HIPÓTESIS

La actividad biológica de aislados del SfMNPV difiere en las distintas poblaciones del insecto huésped.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la actividad biológica de tres aislados del SfMNPV sobre distintas poblaciones mexicanas de *S. frugiperda*.

4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar la patogenicidad de tres aislados del SfMNPV sobre cuatro poblaciones de *S. frugiperda*.
2. Evaluar la virulencia y producción de OBs de tres aislados del SfMNPV en larvas de cuatro poblaciones de *S. frugiperda*.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Poblaciones y cría de *S. frugiperda*

Durante 2014 y 2015 se colectaron cuatro poblaciones de *S. frugiperda* en cultivos de maíz en cuatro estados de México (Chiapas, Michoacán, Guanajuato y Sinaloa) (Cuadro 1). En cada sitio se colectaron alrededor de 150 larvas de tercer y cuarto estadio. La población originaria de Michoacán se colectó en una zona donde tradicionalmente se cultivan materiales criollos, mientras que el resto de las poblaciones se colectaron en zonas productoras de maíz híbrido. Después de la colecta, las larvas se colocaron en recipientes de plástico ventilados (24 x 14 x 4 cm de largo, ancho y alto) con hojas de maíz como alimento y se transportaron al laboratorio de Entomología Agrícola (LEA) del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

Cuadro 1. Poblaciones de *Spodoptera frugiperda* colectadas en cultivos de maíz ubicados en cuatro estados de México.

Lugar de colecta	Fecha de colecta	Localización del sitio de colecta	Tipo de cultivo
Población de Referencia (Sf-LEA)	Febrero, 2013	–	–
Motozintla, Chiapas, (Sf-CHI)	Julio, 2014	N 15 ° 22 ', O 92 ° 14', 1280 msnm	Híbrido
Erongaricuaró, Michoacán (Sf-MICH)	Julio, 2014	N 19° 35 ', O 10 ° 143', 2040 msnm	Criollo
Abasolo, Guanajuato (Sf-GTO)	Agosto, 2014	N 20 ° 27 'O 101 ° 31', 1710 msnm	Híbrido
Culiacancito, Sinaloa (Sf-SIN)	Febrero, 2015	N 24 ⁰ 49', O 107 ⁰ 32' 33 msnm	Híbrido

En el laboratorio, las larvas se colocaron individualmente en vasos de plástico provistos con dieta semisintética a base de sémola de maíz, germen de trigo, levadura y libre de formaldehído (modificada de Mihm, 1984). Las pupas se sexaron de acuerdo a las características morfológicas establecidas por Sannino *et al.* (1987) (Figura 5). Después de la emergencia, se colocaron ~15 parejas de adultos (proporción 1:1 ó 2:1 hembra: macho) en bolsas de papel de estraza del No. 12 que se alimentaron con una solución de miel de

abeja al 15%. Una vez iniciada la puesta de huevos, las bolsas de papel de estraza se reemplazaron diariamente. Como referencia se utilizó una población (Sf-LEA) que se ha mantenido durante dos años sin exposición a insecticidas en el LEA del IIAF de la UMSNH. El proceso de cría se realizó en una cámara de crecimiento Lumistell^{MR} (Biotécnica del Bajío, Celaya, Guanajuato) a 25 ± 2 °C, $75 \pm 5\%$ de humedad relativa y un fotoperiodo de 16:8 h (Luz: Oscuridad).

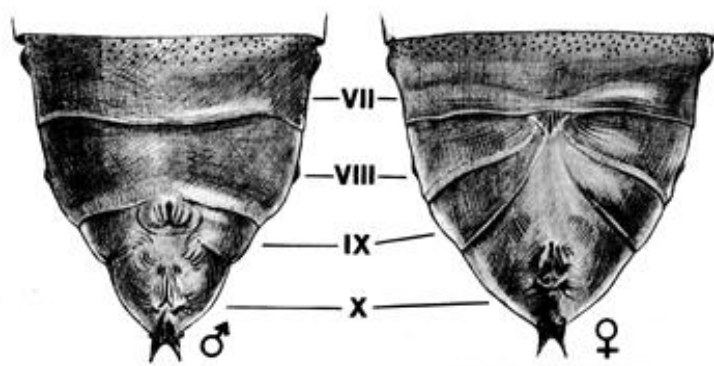


Figura 5. Diferencias morfológicas utilizadas para la separación de sexos en estado de pupa. En el 9° segmento abdominal de los machos se encuentra, sobre un área circular, una pequeña elevación señalada por una incisión. La hembra no presenta relieve tegumentario, hay una incisión longitudinal diferenciada que alcanza el margen del 7° segmento abdominal y se prologa por los segmentos 9° y 10° (Sannino *et al.*, 1987).

5.2 Procedencia de los virus y su replicación

Se utilizaron tres aislados del SfMNPV, dos de ellos procedieron de muestras de suelos colectadas en dos zonas del sur de México: Chiapas (SfMNPV-CHI) y Mérida (SfMNPV-MER) y el otro de larvas de *S. frugiperda* colectadas en Nicaragua (SfMNPV-NIC). Estos tres aislados fueron proporcionados por el Dr. Trevor Williams (Investigador del Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz). Para los bioensayos, el aislado SfMNPV-NIC se consideró como referencia debido a que es un virus previamente caracterizado y que ha mostrado un excelente potencial para el control de esta plaga (Escribano, 1999; Harrison *et al.*, 2008). La extracción de los virus de las muestras de suelo la realizó Jiménez-Fernández (2003), quien se basó en la metodología propuesta por Richards y Christian (1999).

Para la replicación de los tres aislados del SfMNPV se emplearon larvas de *S. frugiperda* de cuarto estadio (8-12 h después de la ecdisis), estas se colocaron individualmente en celdas cilíndricas (2 cm²) de cajas para cultivo de tejido de 24 celdas. Estas larvas se dejaron sin alimento cuatro horas antes de la inoculación. Cada celda contenía un trozo de dieta de aproximadamente 1 cm³ tratado uniformemente con 15 µl de una concentración de ~ 1x10⁸ OBs/ml de cada aislado del virus. Después de tres días, las larvas se colocaron en otras cajas, de las descritas anteriormente, con dieta libre de los aislamientos del virus. Las larvas se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales descritas previamente y se observaron diariamente hasta la manifestación de los síntomas de la infección (pérdida de movilidad y cambio en la coloración de blanquesino o amarillento a café oscuro). Estas larvas se maceraron, suspendieron en agua destilada y purificaron por filtración con el uso de dos mallas finas; una de 120 y otra de 80 micras. La cuantificación de los OBs se realizó en una cámara de Neubauer Improved (Hawksley, Lancing, Reino Unido) a 40x con un microscopio con contraste de fases Olympus BX41. La suspensión de cada uno de los aislados del SfMNPV se almacenó a -20 °C hasta su uso.

5.3 Determinación de la concentración letal media (CL₅₀) de los aislados del SfMNPV

La patogenicidad de los aislados SfMNPV-NIC, SfMNPV-CHI y SfMNPV-MER, sobre las poblaciones de *S. frugiperda* se determinó a través de la CL₅₀. Las larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* (0-8 horas después de la ecdisis) de la segunda generación (F2), de cada una de las poblaciones colectadas en campo, se inocularon con la técnica de contaminación por gota de Hughes y Wood (1981), con algunas modificaciones. Para ello, cada aislado del virus se resuspendió en agua destilada + colorante artificial azul (McCormick®, Inc, Estados Unidos) a 0.01% volumen/volumen y 20% de una solución de sacarosa como fagoestimulante. Con base al estudio realizado por Barrera *et al.* (2011) con un aislado de SfMNPV que causó una mortalidad entre 5 y 95 % sobre larvas de segundo estadio de *S. frugiperda*, se utilizaron siete concentraciones (3.84 x 10², 1.92 x 10³, 9.6 x 10³, 4.8 x 10⁴, 2.4 x 10⁵, 1.2 x 10⁶ y 6 x 10⁶ OBs/ml) para las cuatro poblaciones de campo. Para la población Sf-LEA se utilizó un rango entre 2.3 x 10² y 3.6 x 10⁶ OBs/ml.

Cada concentración de cada aislado se dispersó en pequeñas gotas sobre cajas Petri. Las larvas que ingirieron la gota en un periodo de 10 minutos, se transfirieron individualmente a cajas para cultivo de tejido de 24 celdas provistas con dieta semisintética libre del virus. Los bioensayos se mantuvieron en una cámara ambiental a 25 °C y 76% de humedad relativa. Se realizaron cuatro repeticiones de 24 individuos por cada contrancion, así mismo 24 larvas por concentración como testigo, las cuales se trataron solamente con agua destilada + colorante artificial azul + la solución de sacarosa. La mortalidad de las larvas se registró cada 24 h a partir del tercer día después de la inoculación del virus durante ocho días.

Los datos de mortalidad causada por cada aislado ensayado se sometieron a un análisis probit (Finney 1972) con el programa POLO PC (LeOra Software, 1987). El grado de heterogeneidad se calculó mediante la prueba de χ^2 con un nivel de significancia de 95%. Los valores de la CL₅₀ se calcularon en OBs/ml. Las pendientes de las rectas de regresión se compararon con la prueba de paralelismo con el programa POLO PC y la hipótesis de las pendientes paralelas se aceptó cuando el valor de χ^2 fue menor al tabulado, con un nivel de significancia de 95%. En caso de no existir paralelismo, la potencia relativa (PR) se estimó con base al cálculo de los radios de las dosis letales descritas por Robertson y Preisler (1992). La comparación de la PR para cada población de *S. frugiperda* se realizó tomando como referencia el virus exótico (SfMNPV-NIC).

5.4 Determinación del tiempo medio para morir (TMM) y producción de OBs por larva

Para estos bioensayos se utilizaron las mismas poblaciones de campo de *S. frugiperda*, aislados y metodología de inoculación descrita anteriormente, pero en este caso las larvas de segundo estadio procedieron de la tercera generación (F3) en cada población. Para su inoculación, se utilizaron las correspondientes CL₉₀ estimadas para cada virus (Cuadro 2). Los bioensayos se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales que las señaladas en el apartado anterior.

Cuadro 1. CL₉₀ estimada para cada aislado del SfMNPV en las cinco poblaciones de *Spodoptera frugiperda*.

Población	SfMNPV-NIC	SfMNPV-MER	SfMNPV-CHI
Sf-LEA	5.33 x 10 ⁵	1.97 x 10 ⁵	1.11 x 10 ⁵
Sf-CHI	2.43 x 10 ⁶	1.88 x 10 ⁷	7.90 x 10 ⁶
Sf-MICH	7.90 x 10 ⁵	3.80 x 10 ⁶	5.52 x 10 ⁵
Sf-GTO	1.10 x 10 ⁶	5.50 x 10 ⁵	1.20 x 10 ⁶
Sf-SIN	1.20 x 10 ⁶	2.70 x 10 ⁶	2.10 x 10 ⁶

La mortalidad de las larvas se registró cada 12 h a partir del tercer día post-inoculación. Con el objetivo de estimar la producción del virus, en OBs/larva, una vez que las larvas presentaron síntomas evidentes de la infección, se transfirieron a microtubos estériles de 0.6 ml (Murillo *et al.*, 2007). Los virus se conservaron a -20 °C hasta el conteo de los OBs. El TMM se calculó con el programa GLIM (Generalized Linear Interactive Modeling, Numerical Algorithms Group 1993) con una distribución de sobrevivencia Weibull (Aitkin *et al.*, 1989), donde se excluyeron a los individuos vivos (Farrar y Ridgway, 1998) con el censor Weibull (w) $w = 1$. Se realizaron cuatro repeticiones con 24 individuos para cada población y aislado ensayado.

Para determinar la cuantificación de los OBs, las larvas muertas en el experimento de TMM se colocaron individualmente en un microtubo de 1.5 mL y se homogenizaron en 100 µL de agua destilada. El número de OBs producido por larva se estimó por triplicado mediante el conteo en una cámara de Neubauer. Para el conteo de los OBs de cada aislado, se seleccionaron al azar 60 larvas que murieron en un rango de tiempo de 84 a 168 h, en el cual existió la mayor mortalidad larvaria. Se realizó una prueba de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene ($P > 0.05$) por lo que los datos se analizaron mediante la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis y de U-Mann-Whitney. También se realizó un análisis de regresión lineal entre el tiempo y la producción de OBS del SfMNPV. Todos los análisis se realizaron en el programa estadístico SPSS versión 15.0

VI. RESULTADOS

6.1 Determinación de la CL₅₀ de los aislados del SfMNPV

Las cinco poblaciones de *S. frugiperda* fueron susceptibles a los tres aislados del SfMNPV (Cuadro 3). En todas las poblaciones la comparación entre el virus de referencia y los virus nativos se aceptó la hipótesis del paralelismo, con excepción de la Sf-LEA y el análisis entre las rectas de regresión de los aislados SfMNPV-NIC y SfMNPV-MER de la población Sf-MICH. Los valores de las CL₅₀ estimadas de los tres aislados se obtuvieron en un rango de 6.1×10^3 a 1.25×10^5 OBs/ml para las cinco poblaciones (Cuadro 3).

No se observaron diferencias significativas entre los valores de CL₅₀ de los distintos aislados evaluados sobre las poblaciones Sf-LEA y Sf-SIN (Cuadro 3). Así mismo, en las poblaciones Sf-CHI, Sf-MICH y Sf-GTO, los valores de CL₅₀ de los aislados SfMNPV-NIC y SfMNPV-CHI no difirieron entre sí. Sin embargo, en las poblaciones Sf-MICH y Sf-GTO el aislado SfMNPV-MER fue 6.75 y 3.1 veces más patogénico comparado con el virus SfMNPV-NIC, respectivamente (Cuadro 3). En contraste, el aislado SfMNPV-MER fue 7.6 veces menos patogénico que el aislado SfMNPV-NIC en la población Sf-CHI.

Por otro lado, al comparar la CL₅₀ de un mismo aislado entre las cinco poblaciones, no se observaron diferencias con base a los límites de confianza al 95%, con excepción de dos casos: el aislado SfMNPV-MER que fue 2.8, 20.5, 3.5 y 8.7 veces más patogénico en la población Sf-MICH comparado con las poblaciones Sf-LEA, Sf-CHI, Sf-GTO y Sf-SIN; y el aislado SfMNPV-CHI que fue 3.7, 2.9, 5.4, y 7.9 veces más patogénico en la población Sf-LEA comparado con las poblaciones Sf-CHI, Sf-MICH, Sf-GTO y Sf-SIN, respectivamente.

Cuadro 2. Análisis de regresión a las 192 hs de larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* muertas por la exposición a los aislados de SfMNPV-NIC, SfMNPV-MER y SfMNPV-CHI.

Población	Virus	CL ₅₀ OBs/ml	Límites de confianza al 95%	Ordenada al origen ± EE	χ^{2a}	Potencia Relativa	Límites de confianza al 95%
Sf-LEA	SfMNPV-NIC	2.59 x 10 ⁴	1.8 x 10 ⁴ - 3.6 x 10 ⁴	-4.30 ± 0.32	3.7	1	-
	SfMNPV-MER	1.70 x 10 ⁴	1.1 x 10 ⁴ - 2.5 x 10 ⁴	-5.15 ± 0.39	4.6	1.5	0.72 - 3.16
	SfMNPV-CHI	1.14 x 10 ⁴	8.4 x 10 ³ - 1.5 x 10 ⁴	-5.27 ± 0.52	1.9	2.39	1.32 - 4.40
Sf-CHI	SfMNPV-NIC	1.65 x 10 ⁴	1.0 x 10 ⁴ - 2.5 x 10 ⁴	0.14 ± 0.11	4.1	1	-
	SfMNPV-MER	1.25 x 10 ⁵	4.7 x 10 ⁴ - 2.4 x 10 ⁵	-5.56 ± 0.64	7.2	0.13	0.08 - 0.23
	SfMNPV-CHI	4.22 x 10 ⁴	2.3 x 10 ⁴ - 7.2 x 10 ⁵	-4.65 ± 0.36	7.9	0.38	0.23 - 0.65
Sf-MICH	SfMNPV-NIC	3.90 x 10 ⁴	2.2 x 10 ⁴ - 6.7 x 10 ⁴	-4.52 ± 0.33	5.8	1	-
	SfMNPV-MER	6.10 x 10 ³	1.6 x 10 ³ - 1.6 x 10 ⁴	-1.73 ± 0.21	6.5	6.53	2.7 - 16.03
	SfMNPV-CHI	3.40 x 10 ⁴	1.7 x 10 ⁴ - 6.2 x 10 ⁴	-4.84 ± 0.43	6.5	1.15	0.62 - 2.12
Sf-GTO	SfMNPV-NIC	7.10 x 10 ⁴	4.0 x 10 ⁴ - 1.2 x 10 ⁵	-5.15 ± 0.40	5.6	1	-
	SfMNPV-MER	2.15 x 10 ⁴	1.5 x 10 ⁴ - 3.0 x 10 ⁴	-3.94 ± 0.32	0.4	3.1	1.99 - 4.86
	SfMNPV-CHI	6.18 x 10 ⁴	3.6 x 10 ⁴ - 1.0 x 10 ⁵	-4.80 ± 0.34	5.7	1.13	0.73 - 1.76
Sf-SIN	SfMNPV-NIC	4.56 x 10 ⁴	3.1 x 10 ⁴ - 6.3 x 10 ⁴	-4.20 ± 0.33	2	1	-
	SfMNPV-MER	5.30 x 10 ⁴	3.2 x 10 ⁴ - 8.6 x 10 ⁴	-3.55 ± 0.23	5.5	0.84	0.48 - 1.48
	SfMNPV-CHI	9.01 x 10 ⁴	5.1 x 10 ⁴ - 1.5 x 10 ⁵	-4.63 ± 0.35	4.8	0.50	0.28 - 0.91

Las potencias relativas se calcularon con base a la pendiente común de 1.06 ± 0.046 , 0.99 ± 0.042 y 0.84 ± 0.035 para las poblaciones Sf-CHI, Sf-GTO y Sf-SIN, respectivamente, y de 1.02 ± 0.053 para la población Sf-MICH al comparar las rectas entre el aislado SfMNPV-NIC y SfMNPV-CHI. En la población Sf-LEA, la prueba de paralelismo no fue significativa y las potencias relativas se calcularon con base a los radios letales de la CL₅₀ (Robertson y Preisler 1992). ^aTodos los valores de la χ^2 se encuentran dentro de los valores tabulados al 95% de confianza.

6.2 Determinación del tiempo medio para morir (TMM) y producción de OBs

El inicio de la mortalidad en los diferentes aislados fue en algunos casos, distinta entre las cinco poblaciones evaluadas, misma que se observó a partir de las 64 horas pos-infección (hpi) para la población Sf-LEA y 72 hpi para las poblaciones Sf-CHI y Sf-SIN. Para las poblaciones Sf-MICH y Sf-GTO, la mortalidad inició a partir de las 84 y 108 hpi, respectivamente (Figura 6). En general, la mortalidad acumulada se observó en un rango entre 83 y 95% para todas las poblaciones. Los valores del TMM se observaron en un rango de 89 a 156 hpi (Figura 7). En las poblaciones Sf-LEA (entre 89-100 hpi) y Sf-SIN (entre 98-99 hpi) se obtuvieron los menores valores del TMM, pero sólo en la primera se observaron diferencias significativas entre los tres aislados de virus. En este caso, los valores del TMM de los aislados SfMNPV-MER (100 hpi) y SfMNPV-CHI (97 hpi) no fueron significativamente distintos entre sí pero mayores que el virus Sf-NIC (89 hpi). En las poblaciones Sf-CHI y Sf-MICH, los valores de TMM de los virus SfMNPV-MER (127 y 139 hpi) y SfMNPV-CHI (145 y 149 hpi) fueron significativamente menores comparados con el virus SfMNPV-NIC (146 y 154 hpi, respectivamente). En contraste, en la población Sf-GTO los valores del TMM de virus SfMNPV-MER (156 hpi) y SfMNPV-CHI (149 hpi) fueron mayores comparados con el aislado SfMNPV-NIC (142 hpi). En ningún caso se obtuvo mortalidad de larvas en el testigo.

La producción de OBs de los diferentes aislados se determinó en larvas que se inocularon en el segundo estadio de *S. frugiperda*. El análisis de regresión indicó una relación positiva entre la producción y tiempo post-inoculación, aunque esta sólo fue significativa en el 60% de los casos ($n = 15$), en donde los valores de R^2 se observaron en un rango entre 0.17 y 0.55 ($P < 0.006$, para todos los casos). En general, la productividad de los distintos aislados se observó en un rango entre 2.12 a 16.8×10^7 OBs/larva (Cuadro 4). Los aislados SfMNPV-NIC y SfMNPV-CHI tuvieron la mayor producción de OBs en cuatro de las cinco poblaciones evaluadas, con excepción del aislado SfMNPV-MER que no difirió significativamente en la población Sf-LEA. En la población Sf-GTO, no se observaron diferencias significativas en la producción de ninguno de los tres aislados evaluados.

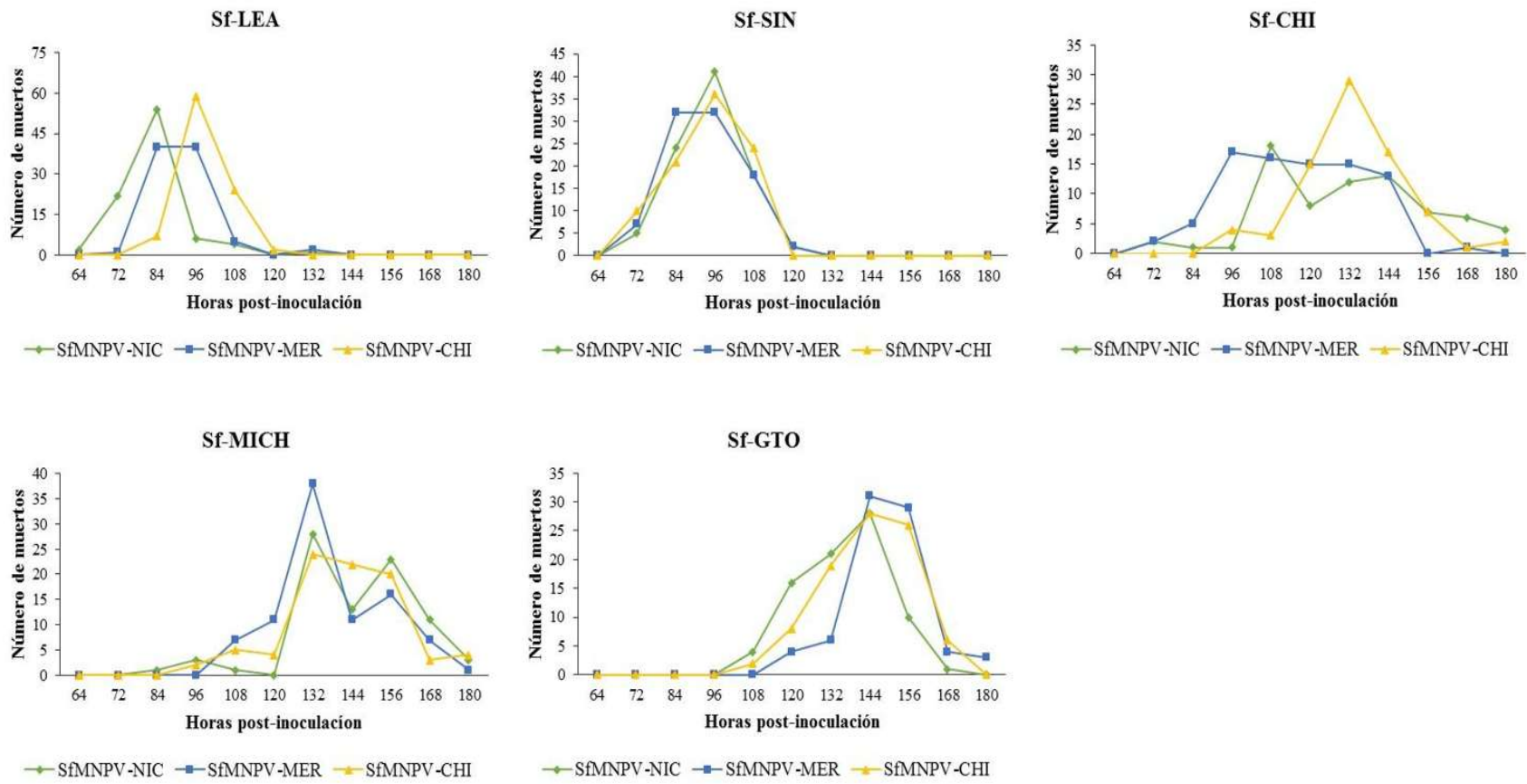


Figura 6.. Mortalidad (número de individuos) de larvas de segundo estadio de *S. frugiperda*, de distintas poblaciones, causada por los aislados SfMNPV-NIC, SfMNPV-MER y SfMNPV-CHI.

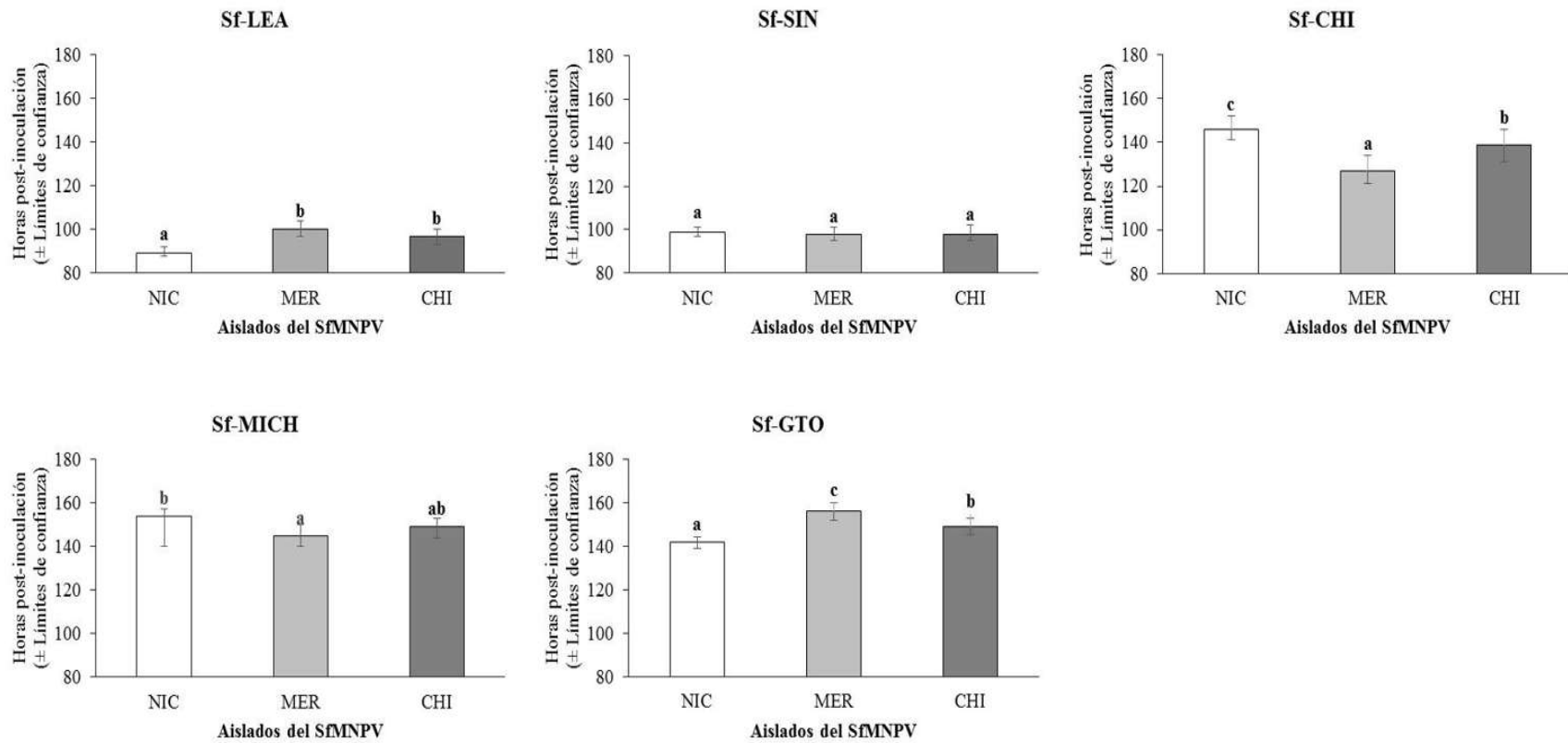


Figura 7. Tiempo medio para morir (TMM) (en horas) de los aislados SfMNPV-NIC, SfMNPV-MER y SfMNPV-CHI en larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* procedentes de cinco poblaciones distintas. Barras con la misma letra no difieren significativamente (Weibull, $P < 0.05$).

Cuadro 3. Mediana de la producción de OBS/larva de los aislados SfMNPV-CHI, SfMNPV-MER y SfMNPV-NIC en larvas de segundo estadio de cinco poblaciones de *S. frugiperda*.

Población	Aislado	OBS/larva (1×10^7)	Percentiles	
			25	75
Sf-LEA	SfMNPV-NIC	8.41 a	4.99	11.0
	SfMNPV-MER	8.07 a	4.93	9.93
	SfMNPV-CHI	15.7 b	12.3	27.1
Sf-SIN	SfMNPV-NIC	12.1 b	7.42	15.6
	SfMNPV-MER	8.53 a	5.45	12.4
	SfMNPV-CHI	15.1 b	5.98	25.9
Sf-CHI	SfMNPV-NIC	14.9 b	9.44	22.7
	SfMNPV-MER	2.28 a	1.59	3.82
	SfMNPV-CHI	16.8 b	7.89	24.8
Sf-MICH	SfMNPV-NIC	3.8 b	2.19	9.76
	SfMNPV-MER	2.12 a	1.15	3.37
	SfMNPV-CHI	8.71 c	3.35	13.5
Sf-GTO	SfMNPV-NIC	14.4 a	7.17	24.9
	SfMNPV-MER	16.6 a	7.34	32.3
	SfMNPV-CHI	12.1 a	5.96	23.6

Medianas seguidas por la misma letra para cada población no difieren significativamente por comparación de pares en cada población (prueba de U-Mann–Whitney, $P < 0.05$).

VII. DISCUSIÓN

La familia Baculoviridae es la más numerosa y ampliamente estudiada de todos los grupos de virus patógenos de insectos, éstos son ampliamente utilizados en diferentes países contra varias especies de insectos plaga (Szewczyk *et al.*, 2006; Posee *et al.*, 2010). Las poblaciones naturales de *S. frugiperda* son afectadas por el SfMNPV y algunos aislados de este patógeno han mostrado potencial para el control de esta plaga (Escribano *et al.*, 1999; Harrison *et al.*, 2008). Debido a ello, se han realizado diversos trabajos para validar su uso como un agente de control en varios países de América (Williams *et al.*, 1999; Barrera *et al.*, 2011). Sin embargo, es ampliamente conocido que la actividad de los baculovirus de una misma especie puede variar entre aislados geográficamente distintos (Muñoz *et al.*, 1998; Cory y Myers, 2003; Fuxa, 2004; Erlandson *et al.*, 2009; Simón *et al.*, 2011) y/o cuando son enfrentados a distintas poblaciones del huésped (Barrera *et al.*, 2011; Flemmin-Davis *et al.*, 2015). Por lo tanto, la selección de un aislado como un agente de control requiere de su evaluación sobre los insectos provenientes de las poblaciones que se desea controlar.

En el presente estudio se comparó la patogenicidad, virulencia y producción de OBs/larva de dos aislados mexicanos (SfMNPV-MER y SfMNPV-CHI) y uno exótico (SfMNPV-NIC), sobre cuatro poblaciones de *S. frugiperda* (Sf-CHI, Sf-MICH, Sf-GTO y Sf-SIN) originarias de distintas zonas agrícolas de México y de una de laboratorio (Sf-LEA). En general, la actividad de los virus nativos hacia *S. frugiperda* fue muy similar a la observada con la del virus exótico en una misma población del insecto, con excepción del aislado SfMNPV-MER cuya actividad fue mayor en las poblaciones Sf-MICH y Sf-GTO (6.1×10^3 y 2.15×10^4 OBs/ml, respectivamente) y menor en las poblaciones Sf-CHI (1.25×10^5 OBs/ml) y Sf-SIN (5.3×10^4 OBs/ml). De igual forma se observó que la actividad de un mismo virus fue homogénea entre las distintas poblaciones del insecto (sin considerar el virus SfMNPV-MER).

Estos resultados coinciden parcialmente con el estudio realizado por Barrera *et al.* (2011), quienes observaron que un aislado de Nicaragua (el mismo que se utilizó en el presente estudio) y otro de Colombia (SfCOL) presentaron CL_{50} s similares cuando se evaluaron contra insectos de una colonia mexicana de *S. frugiperda*. En contraste, el aislado

SfCOL fue 12 veces más patogénico que el aislado Sf-NIC contra insectos de una colonia colombiana. Así mismo, Escibano *et al.* (1999) determinaron que una población de *S. frugiperda* originaria de Honduras fue más susceptible al aislado SfMNPV-NIC, que a los dos aislados geográficamente distintos; uno de Argentina y el otro de Estados Unidos. Esta “adaptación” de los nucleopoliedrovirus a las poblaciones de huéspedes locales o cercanos se ha descrito en varios estudios (Erlandson *et al.*, 2007; Erlandson, 2009), lo cual podría representar una ventaja adaptativa para retener una mayor infectividad contra su población local (Escibano *et al.*, 1999; Barrera *et al.*, 2011). Sin embargo, como se mencionó anteriormente, en este estudio la actividad de los aislados nativos y el exótico (SfMNPV-NIC) fue similar en tres de las cinco poblaciones de *S. frugiperda*.

La homogeneidad en la actividad entre los aislados SfMNPV-CHI y SfMNPV-NIC observada en el presente estudio se debe, posiblemente, a una alta similitud en sus genomas. Esto fue previamente observado por Berretta *et al.* (1998) quienes evaluaron aislados provenientes de Las Antillas, México y Estados Unidos, por otro lado Simón *et al.* (2011) evaluaron aislados de Nicaragua, Estados Unidos y Brasil y que, de acuerdo con estos autores, la similitud en la actividad de aislados geográficamente distintos podría explicarse por la alta dispersión e interacción de los virus como consecuencia del hábito migratorio de su huésped. Al respecto, se conoce *S. frugiperda* está ampliamente distribuido en el hemisferio norte (Clark *et al.*, 2007) y tiene rutas migratorias anuales desde el noreste de México hasta Canadá (Nagoshi *et al.*, 2012), lo que hace suponer que también puede migrar a otros lugares, incluyendo otras zonas de México. Por otro lado, se ha documentado que *S. frugiperda* posee una amplia diversidad genética (Pashley *et al.*, 1986; Nagoshi *et al.*, 2007; Vélez-Arango *et al.*, 2008; Casmuz *et al.*, 2010), la cual puede repercutir en la susceptibilidad hacia algunos patógenos o insecticidas (López-Edwards, 1999; Monnerat *et al.*, 2002). Sin embargo, un estudio reciente demostró que individuos de *S. frugiperda* colectados en Michoacán, Guanajuato, Sinaloa y Chiapas pertenecen a mismo grupo de genotipos (biotipo maíz) (Pecina-Quintero *et al.*, 2015), lo que posiblemente explique la similitud entre los valores de las CL₅₀s de las poblaciones de campo.

Además de los estudios anteriormente citados, existen diversos trabajos relacionados con la evaluación de aislados del SfMNPV contra poblaciones cercanas o lejanas de su huésped, y cuyo patrón de actividad puede ser similar o contrastante al

presente estudio. Por ejemplo, Gómez-Valderrama *et al.* (2010) observaron un patrón muy similar de la actividad (1.5 a 7.0×10^5 OBs/ml) entre tres aislados colombianos del SfMNPV evaluados sobre larvas neonatas de una población local de *S. frugiperda*. En contraste, al evaluar 10 aislados del SfMNPV provenientes del norte y oeste de México sobre larvas de tercer estadio de *S. frugiperda* de una población de laboratorio (sin especificar origen), Ríos-Velasco *et al.* (2011) obtuvieron un rango muy amplio de los valores de las CL_{50} s (de 4.3×10^2 a 1.5×10^6 OBs/mm²). En otra población mexicana de *S. frugiperda*, Rangel-Núñez *et al.* (2014) obtuvieron un rango de CL_{50} entre 4.9 y 18.5×10^4 OB/ml para tres aislados distintos (Argentina, Honduras y Estados Unidos). Así mismo, se observó un patrón de actividad distinto entre dos aislados argentinos y uno brasileño sobre larvas de tres (rango de 7.6×10^4 a 5.9×10^5 OBs/ml) y cinco (rango de 4.5×10^5 a 1.5×10^6 OBs/ml) días de edad de *S. frugiperda* procedentes de Argentina (Yasem de Romero *et al.*, 2009).

Varios estudios han señalado que cambios estructurales o en el genoma de aislados de una misma especie de virus pueden tener efectos sobre las características fenotípicas (CL_{50} , TMM y producción de OBs) de los mismos (Crook, 1981; Posee y Rorhmann, 1997; Erlandson, 2009; Harrison *et al.*, 2014), lo cual se ha demostrado en aislados de SfMNPV (Escribano *et al.*, 1999; Barrera *et al.*, 2011; Ríos Velasco *et al.*, 2012; Rangel-Núñez *et al.*, 2014). Otro factor relacionado con los cambios en la diversidad de los baculovirus, es la continua variación de la susceptibilidad del huésped (Flemmin-Davis *et al.*, 2015). Al respecto, Barrera *et al.* (2011) observaron notables diferencias en la susceptibilidad hacia dos aislados de SfMNPV entre una colonia de laboratorio (con cinco años de exposición a dieta semi-sintética) de *S. frugiperda* y una recién establecida de campo. Sin embargo, en el presente estudio, la actividad de los aislados sobre la colonia de laboratorio (expuesta por dos años a dieta semi-sintética) fue similar que la observada en las poblaciones de campo, lo cual podría indicar que las condiciones fisiológicas o respuesta de los insectos hacia a la infección fueron similares.

En el presente estudio, el aislado originario de Mérida (SfMNPV-MER) mostró una mayor actividad sobre la población Sf-MICH y menor en la población Sf-CHI. Sin embargo, en términos de velocidad de acción este aislado mostró similitud con respecto a los otros. Para obtener una posible explicación del patrón contrastante de este virus, se

recomienda realizar una exploración genética que descarte la posibilidad de ser una mezcla con otros baculovirus. En el entorno natural, las infecciones con mezclas de aislados de baculovirus no son frecuentes (Krieg, 1971). Sin embargo, Ríos-Velasco *et al.* (2012) determinaron que algunos aislados de baculovirus de campo, que contenían una mezcla de NPV más granulovirus, mostraron una actividad distinta sobre larvas de *S. frugiperda*, comparado con el aislado que sólo contenía OBs del NPV.

Aunque en este estudio la velocidad de acción se observó en un rango amplio (89 a 156 hpi) al considerar todas las poblaciones evaluadas, ésta incluyó valores del TMM que se han determinado en previos estudios con el mismo estadio del insecto y técnica de inoculación (Escribano *et al.*, 1999; Simón *et al.*, 2008; Barrera *et al.*, 2011; Ríos-Velasco *et al.*, 2011). En general, la patogenicidad, virulencia y productividad son factores muy importantes que influyen en la interacción patógeno-huésped y que deben ser tomados en cuenta para determinar la eficiencia de los baculovirus (Ibarra y Del Rincón, 2001; Muñoz y Caballero, 2001; Erlandson, 2009). En el presente estudio, no en todos los casos hubo una relación positiva entre patogenicidad y virulencia; sin embargo, esto ya se ha observado en otros estudios en donde un aislado con alta patogenicidad (ejemplo SfCOL) tuvo una velocidad de acción similar (CL_{50} : 4.57×10^4 OBs/ml y 168 hpi) comparado con uno menos activo (SfNIC) (CL_{50} : 5.37×10^5 OBs/ml y 160 hpi) (Barrera *et al.* 2011). Escribano *et al.* (1999) determinaron que el aislado menos patogénico (Sf-2, 1.23×10^7 OBs/ml), que se evaluó en una población hondureña de *S. frugiperda*, presentó la mayor velocidad de acción (97.3 h) en larvas de segundo estadio comparado con el virus más activo (Sf-NIC, 2.04×10^5 OBs/ml y 102.7 h). Por su parte, Simón *et al.* (2013) observaron que los dos genotipos del SfMNPV (SfNIC-B y SfNIC-Bpif1) que presentaron la mayor patogenicidad, también mostraron los valores más altos del TMM (124 y 121 hpi, respectivamente).

En el presente estudio se observó un patrón distinto del TMM en cada población de *S. frugiperda*, de tal forma que en los diferentes aislados ensayados se formaron tres grupos: i) el virus menos activo (SfMNPV-MER) en una de las poblaciones (Sf-CHI) fue el más rápido para matar (127 h), ii) el virus más activo en una de las poblaciones (Sf-GTO) fue el menos virulento (156 horas) y iii) los virus igualmente activos en una de las poblaciones (Sf-SIN) tuvieron la misma velocidad de acción (98-99 h), pero menor que en el resto de las poblaciones. Las diferencias en la velocidad de acción posiblemente se

relacionen con la variación de los genotipos que están implicados en el tiempo de sobrevivencia de los insectos infectados (Simón *et al.* 2004). Estos autores demostraron que aunque el SfMNPV contiene un complejo de mezclas de nueve genotipos (etiquetados desde la letra A hasta la I), sólo un grupo pequeño de estos determina la velocidad y distribución de la mortalidad (Simón *et al.* 2008). Por ello, no se descarta la posibilidad de que las diferencias entre los aislados evaluados sean debido a la proporción de genotipos que determinan la virulencia.

La cantidad de OBs de un aislado de NPV que pueda producir cada individuo infectado es otro factor importante a considerar en la selección de un baculovirus para su consideración como bioinsecticida (Claus y Sciocco, 2001; Reid *et al.*, 2014). El número de OBs/larva obtenido en el presente estudio (rango de 2.12 a 16.8 x 10⁷ OBs/larva) fue similar al obtenido en larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* procedentes de una colonia colombiana inoculadas con un virus local y el SfMNPV-NIC (7.5 y 6.4 x 10⁷ OBs/larva, respectivamente) (Barrera *et al.*, 2011) y de una colonia de laboratorio expuesta a un virus mexicano (8.8 x 10⁷ OBs/larva) (Rios-Velasco *et al.*, 2012b). Sin embargo, fue mayor que el observado con el aislado SfMNPV-NIC (52.0 x 10⁶ OBs/larva) cuando se ensayaron larvas de segundo estadio de una población hondureña de *S. frugiperda* (Simón *et al.*, 2008) y con un aislado colombiano (16.3 y 29.5 x 10⁵ OBs/larva) (Barrera *et al.*, 2013). Posiblemente, esto se deba a las diferencias en el peso corporal de los insectos criados en dietas distintas, o bien, a posibles diferencias en la metodología de purificación del virus.

En general, la producción de OBs/larva de un determinado genotipo de baculovirus mantiene una estrecha relación con la velocidad de acción (Muñoz *et al.*, 2001; Simón *et al.*, 2012). En términos biológicos, un mayor tiempo letal permitiría obtener una mayor cantidad de tejidos infectados y, por consecuencia, una mayor producción de OBs (Barrera *et al.*, 2011; Simón *et al.*, 2012). En el presente estudio, se observó una relación positiva entre la productividad y el tiempo post-inoculación, pero sólo fue significativa en el 60% de los casos. Así mismo, al tomar en cuenta los valores del TMM y la cantidad de OBs/larva, sólo en la mitad de los casos el incremento del tiempo provocó la mayor producción de OBs/larva. La razón de estos resultados no está clara; sin embargo, la producción de OBs/larva de los distintos aislados fue en general alta, sobre todo para el

aislado Sf-CHI, que tuvo los mayores valores en cuatro de las poblaciones evaluadas (incluyendo la colonia de laboratorio). Lo anterior podría ser una ventaja en términos de la transmisión y persistencia de este aislado en campo (Cory y Myres, 2003).

VIII. CONCLUSIONES

- ❖ La patogenicidad de los aislados mexicanos de SfMNPV fue similar a la observada en el aislado de Nicaragua, con excepción del virus Sf-MER que tuvo como característica ser el menos patogénico sobre la población Sf-CHI y el más activo en las poblaciones de Sf-MICH y Sf-GTO.
- ❖ La velocidad de acción de los aislados evaluados fue distinta en cada población, los menores valores del TMM se observaron en las poblaciones Sf-LEA y Sf-SIN, y en la mayoría de los casos, dichos valores fueron distintos entre los aislados mexicanos y el aislado SfMNPV-NIC.
- ❖ El aislado SfMNPV-CHI mostró la mayor productividad en cuatro de las cinco poblaciones evaluadas. Solo en la población Sf-GTO, la cantidad de OBs/larva fue significativamente igual en todos los aislados evaluados.
- ❖ La exploración de la actividad biológica de los virus nativos abre una expectativa para su uso como bioinsecticidas contra el gusano cogollero. Sin embargo, se requieren más estudios que determinen sus características de producción de OBs y eficacia en campo.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A., R. G. Luttrell, H. N. Pitre and F. M. Davis. 1989. **Distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses on cotton.** *Environmental Entomology* 18: 881-885.
- Ahrens, C. H., R. Q. Russell, C. J. Funk, J. T. Evans, S. H. Harwood and G. F. Rohrmann. 1997. **The sequence of the *Orgyia pseudotsugata* multinucleocapsid nuclear polyedrosis virus genome.** *Virology* 229: 381-399.
- Aitkin, M., D. Anderson, B. Francis and J. Hinde. 1989. **Statistical Modelling in GLIM.** Clarendon, Oxford, UK.
- Angulo, O. A. y G. T. Weigert. 1975. **Estados inmaduros de lepidópteros nóctuidos, de importancia económica en Chile y claves para su determinación (Lepidoptera: Noctuidae).** Sociedad de Biología de Concepción. 153 pp.
- Aragón-Cuevas, F., S. Taba, C. J. Hernández, J. C. Figueroa, A. V. Serrano y G. F. Castro. 2006. **Catálogo de maíces criollos de Oaxaca.** INIFAP-SAGARPA: Libro Técnico Núm. 6. Oaxaca, Oaxaca. 344 pp.
- Armenta, R., A. M. Martínez, J. W. Chapman, R. Magallanes, D. Goulson, P. Caballero, R. D. Cave, J. Cisneros, J. Valle, V. Castillejos, D. I. Penagos, L. F. García and T. Williams. 2003. **Impact of a nucleopolyhedrovirus bioinsecticide and selected synthetic insecticides on the abundance of insect natural enemies on maize in southern Mexico.** *Journal of Economic Entomology* 96: 649-661.
- Ayres, M. D., S. C. Howard, J. Kuzio, M. Lopez- Ferber and R. D. Possee. 1994. **The complete DNA sequence of *Autographa californica* nuclear polyhedron virus.** *Virology* 202: 586-605.
- Badii, M. H., L. O. Tejada, A. E. Flores, C. E. López, C. E. Ruíz y H. Quiroz. 2000. **Historia, fundamentos e importancia del control biológico.** En: Badii M. H., A. E. Flores y W. L. Galán (eds.) **Fundamentos y perspectivas del control biológico.** Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo Leon. 462 pp.

- Barrera, G., O. Simón, L. Villamizar, T. Williams and 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.
- Barrera, G., T. Williams, L. Villamizar, P. Caballero and O. Simón. 2013. **Deletion genotypes reduce occlusion body potency but increase occlusion body production in a Colombian *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus population.** *PLoS One* 8: e77271.
- Bautista, M. N. 2006. **Insectos plaga. Una guía ilustrada para su identificación.** Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. México. 113 pp.
- Bautista, M. N. y C. G. Vejar. 2007. **Lepidópteros más comunes en las hortalizas.** En: Anaya, R. S y N. J. Romero (eds.) **Hortalizas; plagas y enfermedades.** Trillas. México, D. F. pp. 276-277.
- Benz, B. F. 1999. **On the origin, evolution and dispersal of maize.** En: Blake M. (ed.) **Pacific Latin America in Prehistory.** WSU Press. EUA. pp. 25-38.
- Benz, B. F. 2001. **Archaeological evidence of teosinte domestication from Guilá Naquitz.** *Proceedings of the National Academy of Science* 98: 2104-2106.
- Benz, B. F. 2006. **Maize in the Americas.** En: Staller J. E., R. H. Tykot and B. F. Benz (eds.) **Histories of Maize.** Elsevier-Academic Press. EUA. pp. 9-20.
- Berretta, M. F., M. L. Rios and A. Sciocco de Cap. 1998. **Characterization of a nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera frugiperda* from Argentina.** *Journal of Invertebrate Pathology* 71: 280-282.
- Bisset, J. A. 2002. **Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia.** *Revista Cubana de Medicina Tropical* 54: 202-219.
- Blissard, G. W. and G. F. Rohrmann. 1990. **Baculovirus diversity and molecular biology.** *Annual Review of Entomology* 35: 286-605.
- Blissard, G. W. 1996. **Baculovirus-cell interaction.** *Cytotechnol* 20: 73-93.

- Bull, J. C., H. C. Godfray and D. R O'Reilly. 2001. **Persistence of an occlusion negative recombinant nucleopolyhedrovirus in *Trichoplusia ni* indicates high multiplicity of cellular infection.** *Applied and Environmental Microbiology* 67: 5204-5209.
- Caballero, P., M. F. López y T. Williams. 2001. **Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas.** Phytoma. Valencia, España. 518 pp.
- 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.
- Caldas, J., F. Hercos, R. Martins, J. Castro and P. Andrade. 2008. **Analysis of the genome of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus (SfMNPV-19) and of the high genomic heterogeneity in group II nucleopolyhedroviruses.** *Journal of General Virology* 89: 1202-1211.
- Capinera, L. J. 1999. **Fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith).** University of Florida. USA. 98 pp.
- Carrillo, S. J. 1993. **Síntesis del control biológico de *Heliothis* spp. y *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en México.** *Folia Entomológica Mexicana* 87: 85-93.
- Casmuz, A., M. L. Juárez, M. G. Socías, M. G Murúa, S. Prieto, S. medina, E. Willink y G. Gastaminza. 2010. **Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).** *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 69: 209-231.
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 2014. **Lista de Plagas y Enfermedades.** <http://maizedoctor.cimmyt.org/index.php/es/plagas-y-enfermedades/lista> (accesada el 21 de julio de 2014).

- Chacón, W. y J. L. Zocco. 1994. **Control integrado del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* S.) en siembras comerciales de maíz (*Zeamays* L.) en la finca naranjal, durante el periodo 1990 - 1994.** II Jornadas Científicas del Maíz. Centro de Investigaciones Agrícolas. Yaracuy, Venezuela. pp. 45-53.
- Chandler, L. D. and H. R. Summer. 1991. **Effect of various chemigation methodologies on suppression of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in corn.** *Florida Entomologist* 74: 270-279.
- Chapman, J. W., T. Williams, A. M. Martinez, J. Cisneros, P. Caballero, R. D. Cave and D. Goulson. 2000. **Does cannibalism in *Spodoptera frugiperda* reduce the risk of predation?** *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48: 321-327.
- Cisneros, J., J. A. Pérez, D. I. Penagos, V. J. Ruiz, D. Goulson, P. Caballero, R. D. Cave and T. Williams. 2002. **Formulation of nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize.** *Biological Control* 23: 87-95.
- Cisneros, J., D. I. Penagos y T. Williams. 2003. **Potencial de un nucleopoliedrovirus para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz.** Memorias del XXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Del 03 al 07 de noviembre de 2003, Guadalajara Jalisco, México. pp. 315-318.
- Clark, P. L., J. Molina-Ochoa, S. Martinelli, S. R. Skoda, D. I. Isenhour, D. J. Lee, J. T. Krumm and J. E. Foster. 2007. **Population variation of the fall armyworm, *spodoptera frugiperda*, in western hemisphere.** *Journal of Insect Science* 7: 1-10.
- Claus, J. D. y A. Sciocco de Cap. 2001. **Producción masiva de baculovirus.** En: Caballero, P., M. López-Ferber y T. Williams (eds.) **Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas.** Phytoma. Valencia, España. pp. 260-312.

- Clavijo, S. y G. Perez-Greiner. 2000. **Protección y Sanidad Vegetal**. En: Fontana-Nieves, H. y C. González-Narváez (eds.) **Insectos plagas del maíz**. Fundación Polar. Caracas, Venezuela. pp. 345-361.
- Clavijo, G., T. Williams, D. Muñoz, P. Caballero and M. López-Ferber. 2010. **Mixed genotype transmission bodies and virions contribute to the maintenance of diversity in an insect virus**. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* 77: 943-951.
- Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato (CESAVEG). 2011. **Manejo fitosanitario del maíz. Manual de plagas y enfermedades en maíz**. Folleto Técnico. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Irapuato.
- Cory, J. S. and J. H. Myers. 2003. **The ecology and evolution of insect baculoviruses**. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 34: 239-272.
- Cory, J. S., M. Bernadette, R. K. Green and P. Hunter-Fujita. 2005. **Genotypic and phenotypic diversity of a baculovirus population within an individual insect host**. *Journal of Invertebrate Pathology* 89: 101-111.
- Cory, J. S. and H. F. Evans. 2007. **Viruses**. En: Lacey, L. A. y H. K. Kaya (eds.) **Field manual of the techniques in invertebrate pathology. Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests**. Springer. USA. pp. 149-174.
- Cory, J. 2010. **The ecology of baculoviruses**. En: Asgari, S. and K. N. Johnson (eds.) **Insect Virology**. Caister Academic Pres Norfolk. pp. 405-421.
- Crook, N. E. 1981. **Acomparison of the granulosis viruses from *Pieris brassicae* and *Pieris rapae***. *Virology* 115: 173-181.
- De Oliveira, N. 1991. **World survey: South America**. En: Hunter, F., P. Entwistle, H. Evans and N. Crook (eds.) **Insect viruses and pest management**. Wiley. Chichester, UK. pp. 235-239.

- Del Rincón-Castro, M. C., J. Méndez-Lozano y J. E. Ibarra. 2006. **Caracterización de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* con actividad insecticida hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).** *Folia Entomologica Mexicana* 45: 157-164
- Dias-Vasconcelos, S. 2001. **Ecología de los baculovirus.** En: Caballero, P., M. López-Ferber y T. Williams (eds.) **Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas.** Phytoma. Valencia, España. pp. 143-201.
- Diez-Rodríguez, G. I. e C. Omoto. 2001. **Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambdacialotrina.** *Neotropical Entomology* 30: 311-316.
- Doebley, J., M. M. Goodman and C. W. Stuber. 1987. **Patterns of isozyme variation between maize and Mexican annual teosinte.** *Economic Botany* 41: 234-246.
- Dres, M. y J. Mallet. 2002. **Host races in plant-feeding insects and their importance sympatric speciation.** *Philosophical Transactions of the Royal Society of Science* 357: 471-492.
- Ellenhorn, M. J. 1997. **Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning.** Clinical Chemistry, USA. 2047 pp.
- Engelhard, E. K., L. N. Kam-Morgan, J. O. Washburn and L. E. Volkamn. 1994. **The insect traqueal system: a conduit for the systemic spread of *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 3224-3227.
- Escribano, A., T. Williams, D. Goulson, R. D. Cave, J. W. Chapman and 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.

- Espinosa-Islas A., M. A. Morón, H. Sánchez, N. Bautista y J. Romero, 2005. **Complejo gallina ciega (Coleóptera: Melolonthidae) asociado con céspedes en Montecillos, Texcoco, Estado de México.** *Folia Entomológica Mexicana* 44: 97-107.
- Erlandson, M., S. Newhouse, K. Moore, A. Janmaat, J. Myers and D. Theilmann. 2007. **Characterization of baculovirus isolates from *Trichoplusia ni* populations from vegetable greenhouses.** *Biological Control* 41: 256-263.
- Erlandson, M. A. 2009. **Genetic variation in field populations of baculoviruses: Mechanisms for generating variation and its potencial role in baculoviruses epizootiology.** *Virologica Sinica* 24: 458-469.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2010. **EL MAÍZ EN LOS TRÓPICOS: Mejoramiento y producción.** <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s00.htm#toc>. (Consultada el 21 de julio de 2014).
- Farrar, R. R. and R. L. Ridgway. 1998. **Quantifying time-mortality relationships for nuclear polyhedrosis viruses when survivors are present.** *Environmental Entomology* 27: 1289-1296.
- Federici, B. A. 1986. **Ultrastructure of baculoviruses.** En: Granados, R. R. and B. A. Federici (eds.) **The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology.** Academic Press, San Diego. pp. 61-88.
- Figueiredo, E., D. Muñoz, R. Murillo, A. Mexia and P. Caballero. 2009. **Diversity of Iberian nucleopolyhedrovirus wild-type isolates infecting *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae).** *Biological Control* 50: 43-49.
- Finney, L. 1972. **Probit analysis.** Cambridge University Press, London/New York.
- Fleming-Davies, A. E., V. Dukic, V. Andreasen and G. Dwyer. 2015. **Effects of host heterogeneity on pathogen diversity and evolution.** *Ecology Letters* 18: 1252-1261.

- Flores, G. A. y V. M. Domínguez. 2003. **Eficiencia de *Trichogramma pretiosum* (Hymenóptera: Trichogrammatidae) en el parasitismo de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae) en maíz.** Memorias del XXXVIII Congreso Nacional de Entomología. Sociedad Mexicana de Entomología. pp. 373-375.
- Fuxa, J. R. 2004. **Ecology of insect nucleopolyhedroviruses.** *Agriculture Ecosystems and Environment* 103: 27-43.
- Fuxa J. R., A. R. Richter and M. L. Milks. 2007. **Threshold distances and depths of nucleopolyhedrovirus in soil for transport to cotton plants by wind and rain.** *Journal of Invertebrate Pathology* 95: 60-70.
- García, R. F., A. T. Mosquera, C. A. Vargas y L. Rojas. 1999. **Manejo integrado del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith).** Boletín técnico No. 7. Corpoica.
- Garden, W. A. and J. R. Fuxa. 1980. **Pathogens for suppression of the fall armyworm.** *Florida Entomology* 63: 439-447.
- Georghiou, G. P., and R. B. Mellon. 1983. **Pesticide resistance in time and space.** En: Georghiou G. P., and T. Saito (eds.) **Pest Resistance to Pesticides.** Plenum Press. New York. pp. 175-205.
- Gómez-Valderrama J. A, E. J. Guevara-Agudelo, G. P. Barrera-Cubillos, A. M. Cotes-Prado y L. Villamizar. 2010. **Aislamiento, identificación y caracterización de nucleopoliedrovirus nativos de *Spodoptera frugiperda* en Colombia.** *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 63: 5511-5520.
- Granados, R. R. and K. A. Lawler. 1981. **In vivo pathway of *Autographa californica* baculovirus invasion and infection.** *Virology* 108: 297-308.
- Granados, R. R. y K. A. Williams. 1986. **In vivo infection and replication of baculoviruses.** En: Granados, R. R. and B. A. Federici (eds.) **The Biology of Baculoviruses.** CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 89-196.

- Guzmán-Soria, E., R. S. Rebolgar, M. J. Hernández, S. J. García, C. M. De la Garza, J. N. Callejas y C. A. Terrones. 2011. **La oferta de maíz grano en Guanajuato, México: 1980-2009.** *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14: 857-866.
- Hamm, J. J. and J. R. Young. 1971. **Value of virus presilk treatment for corn earworm and fall armyworm control in sweet corn.** *Journal of Economic Entomology* 64: 144-146.
- Herniou, E. A and J. A. Jehle. 2007. **Baculovirus phylogeny and evolution.** *Current Drug Targets* 8: 1043-1050.
- Harrison, R., B. Puttler and H. Popham. 2008. **Genomic sequence analysis of a fastkilling isolate of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus.** *Journal of General Virology* 89: 775-790.
- Harrison, R., M. Keena and D. Rowley. 2014. **Classification, genetic variation and pathogenicity of *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus isolates from Asia, Europe, and North America.** *Journal of Invertebrate Pathology* 116: 27-35.
- Hodgson, D. J., A. J. Vanbergen, A. D. Watt, R. S. Hails and J. S. Cory. 2001. **Phenotypic variation between naturally co-existing genotypes of a Lepidopteran baculovirus.** *Evolutionary Ecology* 3: 687-701.
- Hodgson, D., A. J. Vanbergen, A. D. Watt, S. E. Hartley, R. S. Hails and J. S. Cory. 2002. **Differential selection of baculoviruses genotypes mediated by different species of host food plant.** *Ecology letters* 5: 512-518.
- Hughes, P. R. and H. A. Wood. 1981. **A synchronous per oral technique for the bioassay of insect viruses.** *Journal of Invertebrate Pathology* 37: 154-159.
- Ibarra, J. E. y C. M. Del Rincón. 2001. **Capacidad insecticida de los baculovirus.** En: Caballero, P., M. López-Ferber y T. Williams (eds.) **Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas.** Phytoma. Valencia, España pp. 203-224.

- Insecticide Resistance Action Commite (IRAC). 2011. **Clasificación del modo de acción de los insecticidas y acaricidas.** http://www.ircac-online.org/content/uploads/modo_de_accion_Oct11.pdf. (Accesada el 10 de noviembre de 2015).
- Jacques, R. P. 1985. **Stability of insect viruses in the environment.** En: Maramorosch K. and K. E. Sherman (eds.) **Viral insecticides for biological control.** Academic Press. Nueva York. pp. 285-360.
- Jehle, J. A., A. Nickel, J. M. Vlask, and H. Backhaus. 1998. **Horizontal escape of the novel Tc-1-like lepidopteran transposon TCp3.2 into *Cydia pomonella* granulovirus.** *Journal Molecular Evolution* 46: 215-224.
- Jehle, J. A., G. W. Blissard, B. C. Bonning, J. S. Cory, E. A. Herniou, G. F. Rohrmann, D. A. Theilmann, S. M. Thiem and J. M. Vlask. 2006. **On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision.** *Archives of Virology* 151: 1257-1266.
- Jiménez-Fernández, J. A. 2003. **Aislamiento y polimorfismo genético del nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en 9 municipios de la región Soconusco, Chiapas, México.** (Tesis de Maestría). Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 82 pp.
- Krieg A. 1971. **Interactions between pathogens.** En: Burges H. D and N. W. Hussey (eds.) **Microbial control of insects and mites.** Academic Press. New York. pp. 459-489.
- Kukan, B. 1999. **Vertical transmission of nucleopolyhedrovirus in insects.** *Journal of Invertebrate Pathology* 74: 103-111.
- Lagunes-Tejeda, A., J. C. Rodríguez-Maciél y J. C. De Loera-Barocio. 2009. **Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de artrópodos de México.** *Agrociencia* 43: 173-196.

- LeOra Software. 1987. **POLO-PC a user's guide to probit or logit analysis**. Berkeley, California.
- López-Edwards, M., L. Hernández-Mendoza, A. Pescador-Rubio, J. Molina-Ochoa, R. Lezama-Gutiérrez, J. J. Hamm and B. R. Wiseman. 1999. **Biological differences between five populations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) collected from corn in Mexico**. *Florida Entomologist* 82: 254-262.
- Martínez, A. M., S. Pineda, J. I. Figueroa, J. M. Chavarrieta y T. Williams. 2012. **Los baculovirus como bioinsecticidas: evaluación de un nucleopoliedrovirus para el combate de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en México y Honduras**. *Ciencia Nicolaita* 56: 35-37.
- Maruniak, J. E., S. E. Brown and D. L. Knudson. 1984. **Physical maps of SfMNPV baculovirus DNA and its genomic variants**. *Virology* 136: 221-229.
- Mazzone, H. M. 1985. **Pathology associated with baculovirus infection**. En: Maramorosch K. and K. E. Sherman (eds.) **Viral insecticides for Biological Control**. Academic Press. Orlando, Florida. pp. 81-120.
- McConnell, R. and A. Hruska. 1993. **An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries**. *American Journal of Public Health* 83: 1559-1562.
- McMichael M. and D. P. Prowell. 1999. **Differences in amplified fragment length polymorphism in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains**. *Annals of the Entomological Society of America* 92: 175-181.
- Miranda, A. M., F. P. Guevara and R. B. García. 2002. **Circadian locomotor activity in the larva and adult fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae): effect of feeding with the resistant variety of maize CML67**. *Biological Rhythm Research* 33: 475-486.

- Molina, O. 2003. **A survey of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) parasitoids in the Mexican states of Michoacan, Colima, Jalisco and Tamaulipas.** *Florida Entomology* 84: 31-36.
- Monnerat, R., E. Martins, P. Queiroz, S. Ordu'z, G. Jaramillo, G. Benintende, J. Cozzi, M. D. Real, A. Martinez-Ramirez, C. Rausell, J. Cerón, J. E. Ibarra, M. C. Del Rincón-Castro, A. M. Espinoza, L. Meza-Basso, L. Cabrera, J. Sánchez, M. Soberon and A. Bravo. 2006. **Genetic Variability of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) Populations from Latin America Is Associated with Variations in Susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry Toxins.** *Applied and Environmental Microbiology* 72: 7029-7035.
- Moreno, I. P., R. C. Rioja y V. Marco. 2010. **Insecticidas para el control de la polilla del racimo de la vid: aspectos destacables para una utilización adecuada.** *Revista Agropecuaria* 929: 382-386.
- Moscardi, F. 1999. **Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera.** *Annual Review of Entomology* 44: 257-289.
- Motoko I., H. Rina and K. Michihiro. 2014. **Baculoviruses: diversity, evolution and manipulation of insects.** *Entomological Science* 18: 1-20.
- Muñoz, D., J. I. Castillejo and P. Caballero. 1998. **Naturally occurring mutants are parasitic genotypes in a wild-type nucleopolyhedrovirus population of *Spodoptera exigua*.** *Applied and Environmental Microbiology* 64: 4372-4377.
- Muñoz, D., R. Murillo, J. Vlak and P. Caballero. 1999. **Four genotypic variants of a *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus (Se-SP2) are distinguishable by a hypervariable genomic region.** *Virus Research* 59: 61-74.
- Muñoz, D. and P. Caballero. 2000. **Persistence and effects of parasitic genotypes in a mixed population of the *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus.** *Biological Control* 19: 259-264.

- Muñoz, D. y P. Caballero. 2001. **Diversidad natural de los baculovirus**. En: Caballero, P., M. López-Ferber y T. Williams (eds.) **Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas**. Phytoma. Valencia, España. pp. 107.
- Murillo, R., D. Muñoz., C. Ruíz-Portero, M. D. Alcázar, J. E. Belda, T. Williams and P. Caballero. 2007. **Abundance and genetic structure of nucleopolyhedrovirus populations in greenhouse substrate reservoirs**. *Biological Control* 42: 216-225.
- Murúa, G., V. Defagó y E. Virla. 2003. **Evaluación de cuatro dietas artificiales para la cría de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) destinada a mantener poblaciones experimentales de himenópteros parasitoides**. *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas* 29: 43-51.
- Murúa, M. G. and E. Virla. 2004. **Population parameters of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on corn and two predominant grasses in Tucumán (Argentina). A laboratory study**. *Acta Zoologica Mexicana* 1: 199-210.
- Murúa, M. G., J. Molina-Ochoa and C. Coviella. 2006. **Population dynamics of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoids in Northwestern Argentina**. *Florida Entomologist* 89: 175-182.
- Murúa, M. G., M. T. Vera, S. Abraham, M. L. Juárez, S. Prieto, G. P. Head and E. Willink. 2008. **Fitness and mating compatibility of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) populations from different host plant species and regions in Argentina**. *Annals of the Entomological Society of America* 101: 639-649.
- Murúa, M. G., M. L. Juárez, S. Prieto y E. Willink. 2009. **Distribución temporal y espacial de poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en diferentes hospederos en provincias del norte de Argentina**. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 86: 25-36.

- Nagoshi, R. N., P. Silvie, R. L. Meagher and V. Machado. 2007. **Identification and comparison of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains in Brazil, Texas and Florida.** *Annals of the Entomological Society of America* 100: 394-402.
- Nagoshi, R. N., R. L. Meagher and H. R. Mirian. 2012. **Inferring the annual migration patterns of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the United States from mitochondrial haplotypes.** *Ecology and Evolution* 2: 1458-1467.
- Nájera-Rincón M. B. 2005. **Control microbiano de “gallina ciega” (Coleóptera: Melolonthidae). Una alternativa para el Manejo Agroecológico de plagas rizófagas.** En: Aragón, G. A., J. F. López-Olguín y A. M. Tapia (eds.) **Manejo Agroecológico de Sistemas.** Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. pp. 101-125.
- Nogué, S. 1995. **Intoxicación por productos agrícolas.** En: Sanz-Gallén P, J. Izquierdo y A. Prat (eds.) **Manual de Salud Laboral.** Springer-Verlag Ibérica. Barcelona. pp. 172-181.
- Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE). 2003. **Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (maize).** Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology. No. 27.
- Pacheco-Covarrubias, J. J. 1993. **Monitoring insecticide resistance in *Spodoptera frugiperda* populations from the Yaqui Valley, Son., Mexico.** *Resistant Pest Management Newsletter* 5: 3-4.
- Pacheco, M. F. 1994. **Plagas de los cultivos oleaginosos en México.** Centro de Investigación Regional del Noroeste. INIFAP. Cd. Obregón, Sonora, México. 600 pp.
- Paliwal, R. L. 2001. **El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción.** FAO, Departamento de Agricultura. <http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s00.HTM> (Accesada el 19 de junio de 2014).

- Pashley, D. P. 1986. **Host-associated genetic differentiations in fall armyworm, (Lepidoptera: Noctuidae) a sibling species complex?**. *Annals of the Entomological Society of America* 79: 898-904.
- Pashley, D. P and J. A. Martin. 1987. **Reproductive incompatibility between host strains of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae).** *Annals of the Entomological Society of America* 80: 731-733.
- Passarelli, A. L. 2011. **Barriers to success: How baculoviruses establish efficient systemic infections.** *Virology* 411: 383-392.
- Pecina-Quintero, V., J. Anaya-López, E. Cortez-Mondaca, C. Núñez-Colín, C. Herrera-Corredor, N. Montes-García, M. Jimenez-Becerril y A. Gámez-Vazquez. 2015. **Caracterización genética de *Spodopeta frugiperda* (J. E. Smith) en México usando marcadores AFLP.** *Southwestern Entomologist* 40: 545-553.
- Possee, R. D. and G. F. Rorhmann. 1997. **Baculovirus genome organization and evolution.** En: Miller L. K. (ed.) **The baculoviruses.** Plenum. New York. pp. 109-140.
- Possee, R. D., C. M. Griffiths, R. B. Hichman, A. Chambers, F. Murguia-Meca, J. Danquah, A. Jeshtadi and A. King. 2010. **Baculoviruses: biology, replication, and exploitation.** En: S. Asgari y K. Johnson (eds.) **Insect virology.** Caister Academic Press, Norfolk. Reino Unido. pp. 35-57.
- Rangel-Núñez, J. C., M. F. Vázquez-Ramírez y M. C. Del Rincón-Castro. 2014. **Caracterización biológica y molecular de cepas exóticas de Baculovirus SfNPV, con actividad bioinsecticida hacia una población mexicana del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).** *Folia Entomologica Mexicana* 39: 320-326.
- Redman, E. M., K. Wilson, D. Grzywacz and J. S. Cory. 2010. **High levels of genetic diversity in *Spodoptera exempta* NPV from Tanzania.** *Journal of Invertebrate Pathology* 105: 190-193.

- Reid, S., L. Chan and M. Van Oers. 2014. **Production of Entomopathogenic Viruses.** En: Morales Ramos-Ramos, J., G. Rojas and D. I. Shapiro (eds.) **Mass Production of Beneficial Organisms.** Elsevier. USA. pp. 442-444.
- Ribas O. 1995. **Alteraciones bucodentarias y hepatopatías de origen profesional.** En: Sanz-Gallén P, J. and P. A. Izquierdo (eds.) **Manual de Salud Laboral.** Springer-Verlag. Ibérica. Barcelona. pp. 265-282.
- Richards A. R. and P. D. Christia. 1999. **A rapid bioassay screen for quantifying nucleopolyhedrovirus (Baculoviridae) in the environment.** *Journal of Virological Methods* 82: 63-75.
- Rios-Velasco, C., M. G. Gallegos, M. C. Del Rincón, C. E. Cerna, P. S. Sánchez and S. M. Cepeda. 2011. **Insecticidal activity of native isolates of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus from soil samples in Mexico.** *Florida Entomologist* 94: 716-718.
- Rios-Velasco, C., D. I. Berlanga-Reyes, G. Gallegos-Morales and M. C. Del Rincón-Castro. 2012a. **Characterization of baculovirus isolates obtained from soil by restriction fragment patterns.** *African Journal of Microbiology Research* 6: 4546-4549.
- Rios-Velasco, C., G. Gallegos-Morales, D. Berlanga-Reyes, J. Cambero-Campos and A. Romo-Chacón. 2012b. **Mortality and production of occlusion bodies in *Spodoptera frugiperda* larvae (Lepidoptera: Noctuidae) treated with nucleopolyhedrovirus.** *Florida Entomologist* 95:752-757.
- Robertson J. L. and H. K. Preisler. 1992. **Pesticide bioassays with arthropods.** CRC, Press, Boca Raton. Florida, USA. 127 pp.
- Rodríguez, M. y C. De León. 2008. **El cultivo del maíz. Temas selectos.** 1ª ed. Colegio de Posgraduados - Mundi-Prensa. México. 152 pp.

- Rorhmann, G. F. 2013. **An introduction to baculoviruses and their taxonomy and evolution.** En: Rorhmann, G. F. (ed.) **Baculovirus Molecular Biology.** 3ra ed. Department of Microbiology. Oregon State University. Corvallis. pp. 6-10.
- Rowley, D., H. J. Popham and R. L. Harrison. 2011. **Genetic variation and virulence of nucleopolyhedroviruses isolated worldwide from the heliothine pests *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea*, and *Heliothis virescens*.** *Journal of Invertebrate Pathology* 107: 112-126.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA). 2013. **Selección y manejo de maíces criollos.** <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrollorural/documents/fichasaapt/selecci%C3%B3n%20y%20manejo%20de%20ma%C3%ADces%20criollos.pdf> (Accesada el 7 de mayo de 2014).
- Sannino, L., A. Balbiani and B. Espinosa. 1987. **Osservazioni morfobiologiche su alcune specie del genere *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) e rapporti di parasitismo con la coltura del tabacco in Italia.** *Informatore fitopatológico* 11: 29-40.
- Sciocco de Cap, A. 2001. **Biología y patología de los baculovirus.** En: Caballero, P., M. López-Ferber y T. Williams (eds.) **Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas.** Phytoma. Valencia, España. pp. 47-67.
- Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera (SIAP). 2014. **Cierre de producción agrícola por cultivo.** <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>. (Accesada el 10 de febrero de 2016).
- Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera (SIAP). 2014. **Cierre de producción agrícola por estado.** <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>. (Accesada el 10 de febrero de 2016).

- Simón, O., T. Williams, M. López-Ferber and 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., S. Gutiérrez, T. Williams, P. Caballero and M. López-Ferber. 2005. **Nucleotide sequence and transcriptional analysis of the pif gene of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus (SfMNPV).** *Virus Research* 108: 213-220.
- Simón, O., T. Williams, M. López-Ferber, J. M. Taulemesse and P. Caballero. 2008. **Population genetic structure determines speed of kill and occlusion body production in *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus.** *Biological Control* 44: 321-330.
- Simón, O., L. Palma, I. Beperet, D. Muñoz, M. López-Ferber, P. Caballero and T. Williams. 2011. **Sequence comparison between three geographically distinct *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolates: detecting positively selected genes.** *Journal of Invertebrate Pathology* 107: 33-42.
- Simón, O., T. Williams, M. López-Ferber and P. Caballero. 2012. **Deletion of egt is responsible for the fast-killing phenotype of natural deletion genotypes in a *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus population.** *Journal of Invertebrate Pathology* 111: 260-263.
- Simón, O., T. Williams, M. Cerutti, P. Caballero and M. López-Ferber. 2013. **Expression of a peroral infection factor determines pathogenicity and population structure in an insect virus.** *PLoS one* 8: e78834.
- Shapiro, D. I., Fuxa, J. R., Braymer, H. D., and D. P. Pashley. 1991. **DNA restriction polymorphism in wild isolates of *Spodoptera frugiperda* nuclear polyhedrosis virus.** *Journal of Invertebrate Pathology* 58: 96-105.
- Stiles, S. and B. Himmerich. 1998. ***Autographa californica* NPV isolates: restriction endonuclease analysis and comparative biological activity.** *Journal Invertebrate Pathology* 72: 174-177.

- Summers, M. D. and D. L. Anderson. 1973. **Characterization of nuclear polyhedrosis virus DNAs.** *Journal of Virology* 12: 1336-1346.
- Szeweczyk, B., L. Hoyos, M. Paluszek, I. Skrzecz and M. Lobo de Souza. 2006. **Baculoviruses. Re-emerging biopesticides.** *Biotechnology Advances* 24: 143-160.
- Tanada, Y. and R. T. Hess. 1991. **Baculoviridae. Granulosis viruses.** En: Adams, J. R. and J. R. Bonami (eds.) **Atlas of invertebrate viruses.** Academic Press, San Diego. pp. 227-257.
- Tanada, Y. and H. K. Kaya. 1993. **Insect pathology.** Academic Press. San Diego, California. 490 pp.
- Valicente, F. e E. Da Costa. 1995. **Controle da la lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), com o baculovirus *Spodoptera* aplicado via água de irrigação.** *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 24: 61-67.
- Van Driesche, G. and S. Bellows. 1996. **Biological Control.** Kluwer Academic Publishers. Norwell, Massachusetts. 522 pp.
- Van H. A. 1981. **Integrated pest management in small farmer's maize crop in Nicaragua.** Med. Land. Wageningen. 222 pp.
- Vásquez, J., J. L. Zeddám y A. A. Tresierra. 2002. **Control biológico del “cogollero del maíz” *Spodoptera frugiperda*, (Lepidoptera: Noctuidae) con el Baculovirus SfVPN, en Iquitos Perú.** *Folia Amazoniaca* 13: 25-39.
- Vélez-Arango, A. M., R. E. Arango, D. Villanueva, E. Aguilera y C. I. Saldamando. 2008. **Identificación de biotipos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) mediante marcadores mitocondriales y nucleares.** *Revista Colombiana de Entomología* 34: 145-150.
- Villamizar, L., J. Guevara, C. Espinel, M. Gómez, J. Gómez, P. Cuartas, G. Barrera, M. Cruz, A. Santos, L. Uribe, C. Ruiz, O. Castro, M. López-Ferber, F. Valicente, P. Caballero, O. Simón, A. López Ávila, F. Marínez y A. M. Cotes. 2012. **Desarrollo**

de un bioplaguicida a base de nucleopoliedrovirus para el control del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera Frugiperda*. Bogotá: Corpoica. 100 pp.

Williams, T., D. Goulson, P. Caballero, J. Cisneros, A. M. Martínez, J. W. Chapman, D. X. Roman and R. D. Cave. 1999. **Evaluation of a baculovirus bioinsecticide for small scale maize growers in Latin America.** *Biological Control* 14: 67-75.

Whitford, F., S. S. Quisenberry, T. J. Riley and J. W. Lee. 1988. **Oviposition preference, mating compatibility and development of two fall armyworm strains.** *Florida Entomologist* 71: 234-243.

Whitford, F., S. S. Quisenberry and D. J. Moellenbeck. 1992. **Nutritional response by rice and corn fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) strains to dietary component substitution in artificial diets.** *Journal of Economical Entomology* 85: 1491- 1496.

Wood, K. A., B. H. Wilson and J. B. Graves. 1981. **Influence of host plant on the susceptibility of the fall armyworm to insecticides.** *Journal of Economic Entomology* 74: 96-98.

Wyckhuys, G. A., K. Lu, H. Morales, L. L. Vázquez, C. J. Legaspi, A. P. Eliopoulos and M. L. Hernández. 2013. **Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world.** *Biological Control* 65: 152-167.

Yasem de Romero, M. G., E. Romero, D. Sosa Gómez y E. Willink. 2009. **Evaluación de aislamientos de baculovirus para el control de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lep: Noctuidae), plaga clave del maíz en el noroeste argentino.** *Revista Industrial Agrícola de Tucumán* 86: 7-15.

Yu, S. J. 1992. **Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae).** *Journal of Economic Entomology* 85: 675-691.

Zwart, M. P., W. Van der Werf, M.M. van Oers, L. Hemerik and J. M. Van Lent. 2009.
Mixed infections and the competitive fitness of faster-acting genetically modified viruses. *Evolutionary Applications* 2: 209-221.