

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



CONTROL BIOLÓGICO DEL COGOLLERO DEL MAÍZ *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) CON AISLADOS DE NUCLEOPOLIEDROVIRUS

POR:

JOSÉ ELEAZAR GÓMEZ PALACIOS

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Febrero de 2010.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

CONTROL BIOLÓGICO DEL COGOLLERO DEL MAÍZ *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) CON AISLADOS DE NUCLEOPOLIEDROVIRUS

POR:

JOSÉ ELEAZAR GÓMEZ PALACIOS

TESIS

Que se Somete a Consideración del H. Jurado Examinador Como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

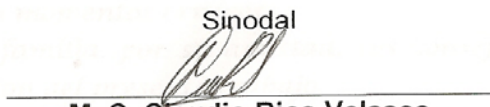
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por:

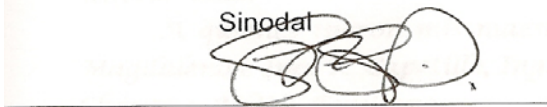
Presidente


Dr. Gabriel Gallegos Morales

Sinodal



M. C. Claudio Rios Velasco

Sinodal



Dr. Sergio René Sánchez Peña

Sinodal


Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo


Coordinador de la División de Agronomía

Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo


Coordinación
División de Agronomía
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Febrero de 2010.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme salud y fortaleza en todo momento, y que me ha dado la oportunidad de hacer realidad las metas que me he propuesto durante mi formación profesional.

*A mi **ALMA TERRA MATER**, que me dio la oportunidad y la fortuna de estudiar en ésta gran casa de estudios.*

*Al Dr. **Gabriel Gallegos Morales**, por su amistad, confianza y apoyo en la realización de este trabajo de investigación.*

*Al M.C. **Claudio Ríos Velasco**, por brindarme su confianza y amistad, por su apoyo y paciencia en la elaboración, revisión e interpretación de datos y culminación del presente trabajo.*

*Al Dr. **Sergio René Sánchez Peña**, por su valiosa colaboración en la revisión del presente trabajo.*

*Al Dr. **Daniel Hernández Castillo**, por su colaboración y apoyo en la culminación de esta investigación.*

A todos los profesores del Departamento de Parasitología, por compartir conmigo sus conocimientos, consejos, experiencias y su amistad.

*A la Bióloga **Rita Dínora Valenzuela**, por su confianza y amistad incondicional y por su apoyo moral en momentos críticos.*

*Al M.C **Jhonathan Cambero y familia**, por su amistad, sus consejos y recomendaciones durante la elaboración del presente trabajo.*

*Al M.C **Inocente Mata Beltrán**, por brindarme su gran amistad y compartir conmigo sus conocimientos y consejos durante mi estancia en la Universidad.*

*A quienes fueron mis maestros del CBTa 175, **Ing. J. Luis Ortega, Ing. Magdaleno e Ing. R. Capetillo, Ing. Gerardo Iícea , Ing. Joel Castillo, M.V.Z. R. Chávez y M.V.Z. Emiliano.***

*A mis amigos y compañeros de generación **Camarón, Guasave, Vargas, Juanillo, Ademir, Pantoja, Marcelo, Javier Carrillo** y en general a todos los de la **generación CVI.***

*A mis maestros de secundaria **Heriberto y Toño Gómez** y a todas aquellas personas que de alguna forma influyeron en mi formación profesional; a todos **MUCHAS GRACIAS.***

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

SR. José Gómez Naranjo

SRA. Eva Palacios Araíza

Por su gran amor y cariño, por su apoyo incondicional y desinteresado con ustedes comparto este logro en mi vida.

A MIS ABUELOS PATERNOS:

Andrés Gómez García (†)

Aun que ya no estés aquí, para tí que fuiste una persona muy optimista y ejemplo a seguir, gracias por todos tus consejos y apoyo moral, hoy se que el esfuerzo no fue en vano.

Juliana Naranjo

Para tí que siempre pides a Dios por mí, por tus consejos y cariño, por tu confianza y por todo lo que significas para mí, gracias.

A MIS ABUELOS MATERNOS:

José Palacios Araujo

Isabel Araíza

Gracias a ustedes por ser parte de mi origen, que son personas muy nobles y admirables, con cariño para ustedes.

A MIS HERMANOS:

Salvador, Samuel, Ma. Elena, Rosalina, J. Alfredo, J. Guadalupe y Javier.

Gracias por confiar en mí, por estar conmigo en todo momento, gracias hermanos espero compartir muchos más logros con ustedes.

A MIS SOBRINOS:

Aní, Pedro, Fernando y José Manuel.

Andrea y Florecita.

ÍNDICE

	Pág.
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS DEL APENDICE.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Cultivo del Maíz.....	4
Origen del maíz.....	4
Taxonomía del maíz.....	4
Morfología del Maíz.....	5
Germinación.....	5
Raíz.....	5
Tallo.....	5
Hojas.....	5
Flores.....	6
Cogollero del Maíz <i>Spodoptera frugiperda</i>	8
Clasificación Taxonómica.....	8
Importancia.....	8
Ubicación Geográfica.....	9
Biología del Cogollero.....	9
Huevo.....	9
Larva.....	9
Pupa.....	9
Adulto.....	10
Dinámica Poblacional.....	10
Daños.....	10

Métodos de Control de <i>Spodoptera frugiperda</i>	10
Insecticidas Químicos.....	11
Control Biológico.....	11
Parasitoides.....	11
Entomopatógenos.....	13
Hongos.....	13
Bacterias.....	13
Virus entomopatógenos.....	14
Baculovirus.....	15
Granulovirus.....	16
Nucleopoliedrovirus.....	16
Nucleopoliedrovirus de <i>Spodoptera frugiperda</i> (SfNPV).....	16
Estructura y Composición de los Baculovirus.....	16
Nucleocápsida.....	16
Matriz proteica.....	17
Viriones.....	17
Cuerpos de Oclusión.....	18
Vía de Entrada de los Virus.....	19
Infeción del Hospedero.....	19
Modo de Infección de los Baculovirus.....	20
Infección primaria.....	22
Infección secundaria.....	22
Sintomatología de los Baculovirus.....	22
Comportamiento del Insecto.....	24
Canibalismo, oviposición y movilidad.....	24
Susceptibilidad.....	25
Factores Relacionadas con el Patógeno.....	26
Patogenicidad y Virulencia de los Baculovirus.....	26
Ventajas del Uso de los Baculovirus.....	26
Medición de la Capacidad Insecticida en Laboratorio.....	27
Bioensayo.....	27

Métodos de Inoculación.....	28
Inoculación de Hughes y Wood.....	28
Inoculación en superficie.....	28
Inoculación por incorporación en dieta.....	29
Inoculación en sustrato vegetal.....	29
Análisis Probit.....	29
MATERIALES Y METODOS.....	31
Cría de <i>Spodoptera frugiperda</i>	31
Identificación de la Plaga.....	32
Aislamiento, Purificación y Amplificación de los Aislados.....	32
Protocolo de purificación de los CO's.....	33
Bioensayos.....	34
La tinción de Giemsa.....	35
Análisis Estadístico.....	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
Bioensayos Preliminares.....	36
Bioensayos para Determinar las CL _{50's} y Tiempo de Mortalidad.....	41
CONCLUSIONES.....	50
LITERATURA CITADA.....	51
APÉNDICE.....	61

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Principales plagas del maíz en México.....	6
2. Clasificación de virus que infectan insectos. En las formas ocluidas, muchos viriones están ocluidos dentro de una matriz proteica cristalina durante la replicación.....	15
3. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de primer estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> durante 8 días de post-inoculación.....	36
4. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de primer estadio, tratados con aislados nativos de NPV de <i>Spodoptera frugiperda</i>	37
5. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de segundo estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> durante 8 días de post-inoculación.	38
6. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de segundo estadio, tratados con aislados nativos de NPV de <i>Spodoptera frugiperda</i>	39
7. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de tercer estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> , durante 15 días de post-inoculación.....	40
8. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de tercer estadio, tratados con aislados nativos de NPV de <i>Spodoptera frugiperda</i>	41
9. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de primer estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> , durante 10 días de post-inoculación.....	42
10. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de primer estadio, tratados con aislados nativos de NPV de <i>Spodoptera frugiperda</i>	42
11. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de segundo estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> durante 10 días de post-inoculación.....	43
12. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de segundo estadio, tratados con aislados nativos de NPV de <i>Spodoptera frugiperda</i>	43

13. Patogenicidad de aislados nativos de NPV en larvas de tercer estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> durante 10 días de post-inoculación.....	44
14. Tiempo de mortalidad en días de aislados nativos de NPV en larvas de tercer estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> 10 días de post-inoculación.....	44
15. CL ₅₀ y CL ₉₅ y limites fiduciales de aislados nativos de NPV sobre larvas de primer estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i>	47
16. CL ₅₀ y CL ₉₅ y limites fiduciales de aislados nativos de NPV sobre larvas de segundo estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i>	47
17. CL ₅₀ y CL ₉₅ y limites fiduciales de aislados nativos de NPV sobre larvas de tercer estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i>	49

ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro	Pág.
1A. Mortalidad de larvas de primer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAV ₁₁	61
2A. Mortalidad de larvas de primer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-AG ₂	61
3A. Mortalidad de larvas de segundo estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAV ₁₁	62
4A. Mortalidad de larvas de segundo estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-AG ₂	62
5A. Mortalidad de larvas de tercer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAV ₁₁	63
6A. Mortalidad de larvas de tercer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-AG ₂	63
7A. Mortalidad de larvas de tercer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAY ₁	64
8A. Mortalidad de larvas de tercer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAY ₂	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Enemigos naturales de <i>Spodoptera frugiperda</i> reportados para Buenavista, Saltillo Coahuila, a), b) y c) Hymenoptera; d) Diptera, e) Nucleopoliedrovirus y f) <i>Nomuraea rileyi</i>	12
2. Ciclo de infección de un baculovirus en general.....	21
3. Concentración Letal Medía (CL ₅₀) de larvas de primero, segundo y tercer E1, E2 y E3 estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> al aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAV ₁₁	45
4. Concentración Letal Medía (CL ₅₀) de larvas de primero y segundo E1 y E2 estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> al aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-AG ₂	46
5. Concentración Letal Medía (CL ₅₀) de larvas de tercer estadio E3 de <i>Spodoptera frugiperda</i> al aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAY ₂	48
6. Concentración Letal Medía (CL ₅₀) de larvas de tercer estadio E3 de <i>Spodoptera frugiperda</i> al aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAY ₁	49

INTRODUCCIÓN

En México, el maíz es el cultivo agrícola más importante, desde el punto de vista alimentario, industrial, político y social, en relación con los demás cereales que se producen de forma extensiva. Según datos estadísticos de SIAP-SAGARPA (2009), la producción de este grano se realiza en todo el territorio nacional dividido en cuatro regiones geográficas: centro occidente, sureste, noroeste y noreste; para el 2008, la producción agrícola nacional fue de 24.4 millones de ton de maíz con un rendimiento promedio de 3.32 ton/ha, siendo los estados con mayor producción, Sinaloa con 5.4 millones de ton y Jalisco con 3.2 millones ton. En el ámbito estatal, en Coahuila se sembró una superficie total de 31,766.50 ha, alcanzando un rendimiento promedio de 1.14 ton/ha (SIAP-SAGARPA, 2009).

Existen múltiples factores que afectan la producción de maíz, tales como; las plagas insectiles, destacando el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidóptera: Noctuidae), como importante en este cultivo, que ataca a la planta en todas las etapas fenológicas de su desarrollo y que típicamente requiere de 2-4 aplicaciones de insecticidas químicos durante el ciclo del cultivo (Hruska y Gladstone, 1987). Una alternativa para el control de *S. frugiperda* es la integración de tácticas de control tales como el empleo de enemigos naturales, específicamente parasitoides y entomopatógenos (Gardner y Fuxa, 1980; Ashley, 1986).

La lucha efectiva contra las plagas de los cultivos, comienza con el desarrollo de los plaguicidas, que se han especializado hasta llegar a ser ejemplo para el control integrado y/o biológico de otras plagas. En el sector productor de México, es necesario contar con prácticas y manejo de cultivos que se ajusten a las demandas de eficiencia que impone el mercado actual, nacional e internacional como grano de calidad, sin residuos tóxicos. Esto ha dirigido a la agricultura hacia el uso preferente

de tácticas de control alternativas a los insecticidas, con menor impacto ambiental y menor riesgo de aparición de resistencia a insecticidas. En base a lo anterior ha surgido la necesidad de disminuir el uso de agroquímicos e incentivar la búsqueda de alternativas más amigables con el medio ambiente y la salud humana. De esta manera, el uso de insecticidas microbianos a base de: hongos, bacterias, virus, y protozoarios; además del uso de nematodos, parasitoides y depredadores, que seguirán siendo parte fundamental para el manejo integrado de plagas de hoy y del futuro. Por esta razón, los insecticidas microbianos en general, y en particular los baculovirus, poseen un gran potencial para utilizarse como agentes de control de plagas insectiles debido a que es una alternativa real, económicamente viable y tecnológicamente factible, que ya ha sido comprobado durante muchos años, por parte de productores, compañías y agencias gubernamentales en diversos países. *S. frugiperda* es susceptible a un nucleopoliedrovirus (NPV) que ha sido reportado como uno de los más prevalentes entomopatógenos en poblaciones naturales (Gardner y Fuxa, 1980) y se encuentra ampliamente distribuido por toda América (Shapiro *et al.*, 1991). El papel potencial de este virus como una alternativa para el manejo de *S. frugiperda* ha sido reconocido.

En base a lo anterior se plantearon los siguientes objetivos para el desarrollo de la presente investigación.

Objetivos

1. Determinar la patogenicidad y virulencia de cinco aislados de Nucleopoliedrovirus en larvas de *S. frugiperda*.
2. Determinar la Concentración Letal Medía (CL₅₀) y el Tiempo de mortalidad de los aislados de Nucleopoliedrovirus para larvas de los tres primeros estadios de *S. frugiperda*.

Hipótesis:

1. Al menos un aislado de Nucleopoliedrovirus será efectivo en el control de larvas de los tres primeros estadios del gusano cogollero *S. frugiperda*.

Palabras Clave: Entomopatógenos, Virus, Control Microbiano, Baculovirus, Nucleopoliedrovirus, Cuerpos de Oclusión, *Spodoptera frugiperda*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Cultivo del Maíz

Origen del maíz

El maíz tuvo gran importancia desde el punto de vista alimenticio para casi todas las comunidades indígenas americanas anteriores a la América colonial; en algunas culturas que destacaron, como los Mayas, Incas y Aztecas. La planta de maíz fue deificada como fuente de vida y riqueza para aquellas comunidades que alcanzaron cuotas de cultura y conocimiento muy altos en muchos campos del conocimiento (Christopher, 1996).

Taxonomía del maíz

Ubicación taxonómica del maíz de acuerdo USDA-NRCS (2009)

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

Superdivisión: Espermatophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Cyperales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *Zea mays* L.

Morfología del Maíz

De acuerdo a Díaz (1954) y Lesur (2005), las características morfológicas, los cambios estructurales y fisiológicos que acompañan el crecimiento y el desarrollo de la planta en los cereales son muy similares, con excepción del maíz, esta similitud se extiende a la formación de la espiga y la semilla.

Germinación

Al entrar en contacto con la humedad del suelo la semilla empieza la imbibición de agua y comienza a producir cambios químicos que activa al embrión, de esta manera la primera raíz se alarga y sale en dos o tres días.

Raíz

La planta tiene tres clases de raíces: 1) las raíces temporales; son aquellas que nacen cuando germina el grano, 2) las raíces definitivas; alcanzan hasta dos o más metros de profundidad, que son por las que se nutre la planta durante todo el ciclo vegetativo, y 3) las raíces adventicias o de anclaje; sirven de sostén a la planta y al mismo tiempo de órganos de absorción.

Tallo

El tallo de la planta del maíz es cilíndrico, con una cantidad de nudos que varía entre 8 y 25, con un promedio de 16.

Hojas

Son alternas y sésiles, variando en número dependiendo de la variedad de 8 a 30, son alargadas y forman un cilindro o vaina alrededor del entrenudo, pero con los extremos desnudos.

Flores

El maíz tiene flores masculinas y femeninas en partes separadas de la misma planta (monoica). Esta disposición en la inflorescencia hace que la polinización sea cruzada.

El maíz al igual que todos los cultivos agrícolas presentan una gran problemática fitosanitaria se presentan en diferentes etapas del desarrollo fenológico del cultivo. En el cuadro 1. Se enlistan los principales insectos plaga que atacan al maíz en México.

Cuadro 1. Principales plagas del maíz en México.

Hábitat	Nombre común	Nombre científico	Orden y Familia	
Plagas de suelo	Gallina ciega	<i>Phyllophaga</i> spp. <i>Anomala</i> spp.	Coleóptera Scarabaeidae	
	Gusano de alambre	<i>Agriotes</i> spp. <i>Melanotus</i> <i>Diabrotica longicornis</i> (Say)	Coleóptera Elateridae	
	Gusano doradillas	alfilerillo, <i>D. balteata</i> LeConte <i>D. undecimpunctata</i> Mannerheim <i>D. virgifera</i> LeConte <i>D. howardi</i> Barber	Coleóptera Chrysomelidae	
	Gusano trozador	<i>Agrotis</i> spp. <i>Feltia</i> spp. <i>Chorizagrotis</i> spp. <i>Peridroma</i> spp. <i>Prodenia</i> spp. <i>Euxoa</i> spp.	Lepidóptera Noctuidae	
	Hormiga	<i>Solenopsis</i> spp. <i>Atta</i> spp.	Hymenóptera Formicidae	
	Plagas del tallo	Barrenador del tallo	<i>Diatraea sacharalis</i> (Fabricius) <i>D. conciderata</i> Heinrich <i>D. magnifactella</i> Dyar <i>Zeadiatraea lineolata</i> Wlk. <i>Z. granciosella</i> (Dyar <i>Z. muellenrella</i> (Dyar y Heinrich)	Lepidóptera Pyralidae
	Plagas del cogollo	Picudo del maíz	<i>Nicentrites testaceipes</i> (Champ.)	Coleóptera Curculionidae

	Picudo del cogollo	<i>Geraeus</i> (Gyllenhal)	<i>senilis</i>	
	Pulgón del cogollo	<i>Rhopalosiphum</i> (Fitch)	<i>maidis</i>	Hemiptera Aphididae
	Gusano cogollero	<i>R. padi</i> (Linn)		
		<i>Spodoptera</i> (J.E. Smith)	<i>frugiperda</i>	Lepidóptera Noctuidae
	Gusano soldado	<i>Pseudaltia</i> (haworth)	<i>unipucta</i>	Lepidóptera Noctuidae
	Gusano peludo	<i>Estigmene acraea</i> (Drury)		Lepidóptera Arctiidae
	Gusano saltarín	<i>Elasmopalpus</i> (Zeller)	<i>lignosellus</i>	Lepidóptera Pyralidae
	Gusano elotero	<i>Heliothis zea</i> (Boddie)		Lepidóptera Noctuidae
Plagas del follaje, flores y fruto.	Frailecillo	<i>Macroductylus</i> (Burm)	<i>mexicanus</i>	Coleóptera Scarabaeidae
		<i>M. nigripes</i> (Bates)		
		<i>M. virens</i> (Bates)		
		<i>Brachystola</i> spp.		
	Chapulines, langostas	<i>Melanoplus</i> spp.		Orthóptera Acrididae
		<i>Schistocerca</i> spp.		
	Trips	<i>Frankliniella</i> spp.		Thysanoptera Thripidae
Chicharritas		<i>Dalbulus</i> <i>maidis</i>	(Del y Wolk).	Hemíptera Cicadellidae
		<i>D. elimatus</i> (Ball)		
		<i>D. guevarai</i> (Del)		
Araña roja	<i>Oligonychus</i> (McGregor y Ortega)	<i>mexicanus</i>	Acarina Tetranychidae	
	<i>Tetranychus</i> spp.			

Kumul (1983); McGregor y Gutiérrez (1983); Rodríguez y De León (2008).

Dentro de las plagas antes mencionadas destaca el gusano cogollero del maíz *S. frugiperda* (J. E. Smith) (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE), una plaga cosmopolita que se encuentra distribuida en todos los lugares donde se cultiva este cereal, provocando pérdidas de 0.8 ton/ha, lo que representa el 40% de la producción.

Cogollero del Maíz *Spodoptera frugiperda*

Esta plaga se encuentra ampliamente distribuida en todas las regiones agrícolas tropicales y subtropicales del continente americano. En México se localiza prácticamente en todas las regiones donde se cultiva maíz, aunque sus daños son más severos en el trópico y subtropico. Los gusanos se localizan en las plantas, en donde se alimentan de las hojas y tallos en formación y principalmente de los cogollos (Rodríguez y De León, 2008).

Clasificación taxonómica

Ubicación taxonómica según Borror *et al.* (1989)

Clase: Insecta

Orden: Lepidóptera

Familia: Noctuidae

Subfamilia: Amphipyrinae

Género: *Spodoptera*

Especie: *S. frugiperda* (J.E. Smith)

Importancia

El gusano cogollero, es considerado en muchos aspectos plaga potencial del maíz provocando pérdidas promedio de 30 a 40% en México (Rodríguez y De León, 2008). No obstante, Capinera (1999), Nagoshi y Meagher (2008), mencionan, que ésta plaga muestra una serie muy amplia de hospederos, con más de 80 plantas registradas, pero es evidente que prefiere gramíneas (sorgo, forraje y zacate bermuda), sin embargo, también se les ha encontrado en otros cultivos como alfalfa, algodón y soya.

Ubicación Geográfica

S. frugiperda es plaga endémica de regiones agrícolas tropicales y subtropicales del continente americano, carece de mecanismos de diapausa, en el hemisferio occidental se le ha encontrado desde el sur de Canadá hasta Chile y Argentina (Murua y Virla, 2004; Rodney, 2008).

Biología del Cogollero del Maíz

Huevo

Las hembras ovipositan varias masas de huevos generalmente en el envés de las hojas variando considerablemente, con un máximo de 1500 a 2000 huevos, pero a menudo de 100 a 200 por masa, estos son esféricos, de color verdoso o pardo, y las masas son cubiertas con las escamas de la palomilla (Capinera, 1999).

Larva

En estudios realizados para caracterización de estadios larvales Villa y Catalán (2004), reportan que las larvas de *S. frugiperda* presentan cinco a siete estadios larvales caracterizados por diferentes rangos del ancho la región cefálica. Las larvas en los últimos estadios presentan en la cabeza, áreas adfrontales de color blanco-amarillo, en forma de “Y” invertida (Bautista, 2006).

Pupa

Las pupas son de color café oscuro al madurar, más o menos de 1.8 cm de largo, adelgazándose bruscamente hacia la parte posterior y ensanchándose en el extremo de la cabeza, permaneciendo así, hasta por dos semanas o más, dependiendo de la temperatura (Metcalf y Flint, 1965).

Adulto

El adulto es una palomilla que tiene aproximadamente 30 mm de expansión alar, de color café grisáceo con una mancha clara en medio de las alas anteriores (Rodríguez y De León, 2008).

Dinámica Poblacional

Aun cuando se habla de *S. frugiperda* en zonas tropicales y subtropicales, que causa severos daños; su supervivencia es posible todo el año en áreas con latitudes menores a los 27° N, donde las temperaturas por debajo de 9.9 °C son escasas (Murua y Virla, 2004).

Daños

Los gusanos se localizan en el cogollo de las plantas, en donde se alimentan de las hojas en formación, las cuales al desarrollarse quedan perforadas y rasgadas, el ataque temprano causa la muerte de la planta o el retraso en su desarrollo (Rodríguez y De León, 2008).

Métodos de Control de *Spodoptera frugiperda*

La implementación de las estrategias del control de plagas, sobre todo la reducción de la densidad de poblaciones de insectos, requiere de la utilización de diversos métodos de control. La experiencia práctica y lógica ha demostrado que la integración de todos los procedimientos y técnicas en un único modelo orientado a la producción rentable con un mínimo de perturbaciones, se puede desarrollar sin la participación de ningún tipo de control químico (Kilgore y Duountt, 1967). No obstante Andrews (1989), sugiere que, el Manejo Integrado de Plagas (MIP), debe ser un sistema de criterios ecológicos, ventajas económicas y un mínimo de riesgo, basado en ocho ideas centrales: 1) el agroecosistema, 2) el control natural, 3) la biología y la ecología de los organismos, 4) el cultivo como enfoque central, 5) el muestreo y uso

de niveles críticos, 6) el uso de tácticas compatibles, 7) la integración de disciplinas y 8) los efectos secundarios de fitoprotección.

Insecticidas químicos

Los insecticidas químicos son en la actualidad los más usados para el control de insectos plaga, por medio de su acción química, se clasifican de acuerdo a su modo de acción: de contacto, ingestión o inhalación y sistémicos; al respecto Hruska y Gladstone (1987) indican que para el control de *S. frugiperda* típicamente se requiere de 2 a 4 aplicaciones de insecticidas químicos durante el ciclo de cultivo; al respecto el CESAVEG (2008), en la campaña, “manejo fitosanitario del maíz”, autorizó el uso de Cipermetrina, Clorpirifos etil, Diazinon y Endosulfan para el control de esta plaga en el estado de Guanajuato.

Control Biológico

Entre los organismos usados como agentes de control biológico se incluyen: parasitoides, depredadores y patógenos para mantener la densidad de otros organismos (huésped o presa) bajo niveles más bajos del que ocurriría en su ausencia.

Parasitoides

Los insectos parasitoides son una clase especial de depredador que generalmente es del mismo tamaño o tamaño parecido que el organismo que ataca, también se caracterizan porque se desarrollan dentro o sobre un organismo, el cual casi siempre muere al ser atacado. El estadio larvario de estos organismos es parasítico, mientras que los adultos son de vida libre y activos para buscar a los organismos que parasitan (huésped) (Rodríguez y Arredondo, 2007). Entre las especies de parasitoides se han reportado insectos del orden Hymenoptera, Diptera y otros órdenes

En nuestro país se han hecho varios estudios sobre diversidad de parasitoides Martínez y López (2009), reportan para el estado de Oaxaca 21 familias de Hymenópteros parasitoides, encontrados en cultivos de maíz y frijol; para los estados de Colima, Jalisco y Michoacán (Molina-Ochoa *et al.*, 2004) mencionan a once especies de parasitoides Hymenopteros en larvas de *S. frugiperda* representados en tres familias: Ichneumonidae, Braconidae y Eulophidae. Sin embargo (Ríos *et al.*, 2008; Ríos *et al.*, 2009), además de las antes mencionadas reportan para Buenavista Coahuila, la presencia del Orden Díptera específicamente de la familia Tachinidae y entomopatógenos atacando a *S. frugiperda* (Fig. 1).

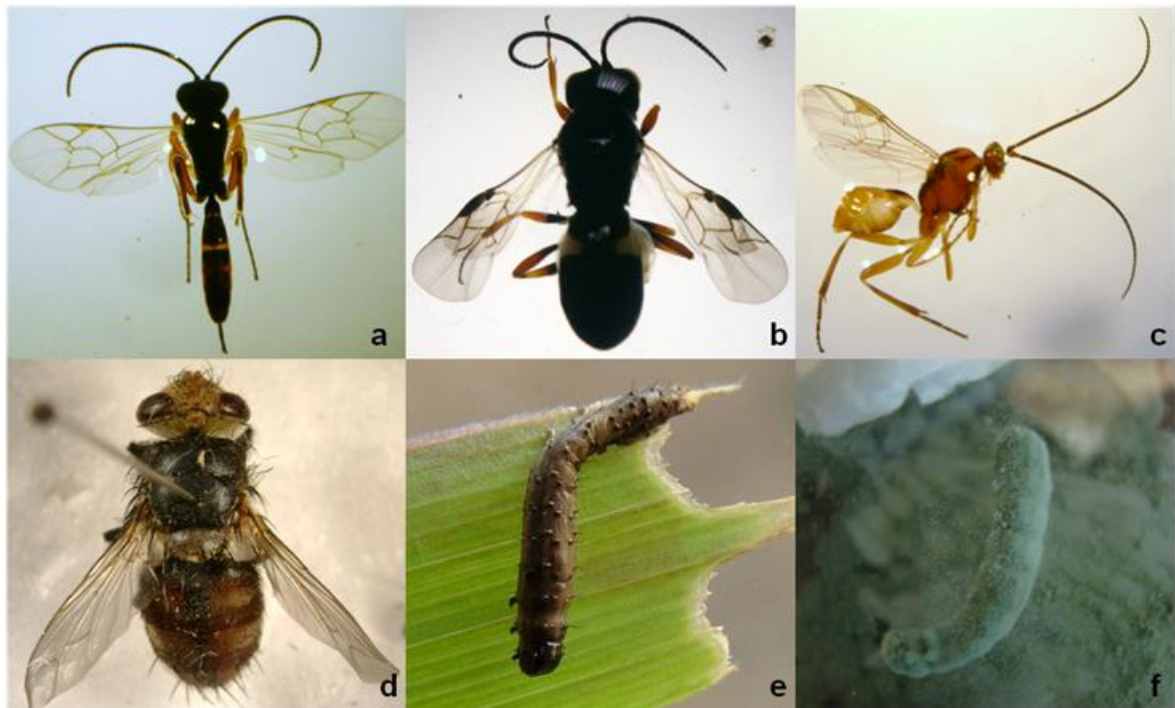


Figura 1. Enemigos naturales de *Spodoptera frugiperda* reportados para Buenavista, Saltillo Coahuila, a), b) y c) Hymenoptera; d) Díptera, e) Nucleopoliedrovirus y f) *Nomuraea rileyi*.

Entomopatógenos

Son microorganismos parásitos que fuertemente matan a su huésped. Debido a su tamaño diminuto y a su rápida reproducción en el huésped, los patógenos son más fáciles de producir masivamente que los parasitoides. Varios tipos de microorganismos han sido usados en el control biológico, como bacterias, virus, hongos y protozoarios, además los nematodos que atacan artrópodos se consideran dentro de este grupo, el control microbial que se le considera como una subdivisión del control biológico (Rodríguez y Arredondo, 2007).

Hongos

Las micosis (enfermedades causadas por hongos) son comunes y ampliamente distribuidas en poblaciones de insectos plaga; pueden regular o causar una alta mortalidad en poblaciones de insectos huéspedes mediante epizootias. Lezama (1993), evaluó la virulencia de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi*, *Paecilomyces fumorosoroseus* y *P. javanicus* aislados de diferentes estados del país. Al respecto (Sánchez, 2000; Ríos *et al.*, 2008) reportan a *Nomuraea rileyi*, actuando y causando epizootias de forma natural en el gusano cogollero *S. frugiperda*, en parcelas de maíz (Fig.1f).

Bacterias

Las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, llamadas bacteriosis, se presentan en todos los organismos, desde los más simples hasta los más complejos al igual que la mayoría de los patógenos de insectos, las bacterias entomopatógenas infectan al insecto vía oral; de las bacterias reportadas como entomopatógenas la más importante es *Bacillus thuringiensis*, ésta es la más conocida y extensamente utilizada como agente de control microbiano, con más del 90% del mercado de bioinsecticidas (Rodríguez y Arredondo, 2007).















Virus entomopatógenos

Aproximadamente de 650 a 700 virus han sido aislados de insectos de los cuales el 83% han sido de Lepidópteros, cerca de 14% de Hymenópteros y 3% de Orthópteros, Coleópteros y Dípteros (Kathleen *et al.*, 1981; Herniou *et al.*, 2003). Sin embargo Allen y Ball (1992), demostraron la presencia de partículas virales en varias especies de áfidos.

Los insecticidas microbianos en general, y en particular los baculovirus, poseen un gran potencial para utilizarse como agentes de control de plagas insectiles (Gallegos *et al.*, 2003). El hombre conoce las enfermedades causadas por baculovirus desde hace 2000 años. De los hechos más recientes e históricos se conocen los originados por la enfermedad del gusano de seda *Bombix mori*, que ahora se sabe es causada por Nucleopoliedrovirus (NPV) (Federici, 1997). Para fines prácticos, los entomovirus se dividen en cinco grupos: Baculovirus (Nucleopoliedrovirus y Granulovirus), virus citoplásmicos, entomopoxvirus, virus denonucleados y virus iridiscentes (Gallegos *et al.*, 2003). Los entomopoxvirus y nucleopoliedrovirus (NPVs) infectan varios órdenes de insectos, en contraste los granulovirus (GVs) están limitados a lepidópteros (David, 1975).

Dentro de los patógenos de insectos, principalmente el grupo de los baculovirus (Nucleopoliedrovirus y Granulovirus), poseen un alto potencial para ser utilizados en el control de insectos plaga; son eficientes, específicos y seguros para el hombre y otros animales (Gröner, 1986). La utilidad y efectividad de los baculovirus han sido ampliamente demostradas, tanto en cultivos agrícolas como en ecosistemas forestales. Es por ello que la utilización de insecticidas virales podría reducir muy significativamente el consumo de insecticidas químicos, obteniendo así productos agrícolas orgánicos o ecológicos (Kathleen *et al.*, 1981).

Cuadro 2. Clasificación de virus que infectan insectos. En las formas ocluidas, muchos viriones están ocluidos dentro de una matriz proteica cristalina durante la replicación.

Familia del virus	Tipo de ácido nucleico	Invertebrados (Insectos)	Morfología	
			Virión	Forma ocluida
Reoviridae	cdARN	Virus de la poliedrosis citoplasmica		
Rhabdoviridae	csARN	Sigmavirus		—
Togaviridae	csARN	Arbovirosis		
Parvoviridae	csADN	Densovirus		
Picornaviridae	csARN	Virus <i>Nudaurelia capensis</i>		
Poxviridae	cdADN	Entomopoxvirus		
Iridoviridae	cdADN	Virus iridiscente		
Baculoviridae	cdADN	Granulovirus		
		Nucleopoliedrovirus		
		Virus oryctes		

cd: cadena doble (hebra); cs: cadena simple (hebra)

Baculovirus

Los baculovirus, deben su nombre (baculo) a la forma de varilla o bastón (baculum=bastón) de sus viriones, con ADN de doble cadena circular y encerrado covalentemente en nucleocapsidas (Cuadro 2), con peso molecular de aproximadamente 8×10^7 daltones (entre 90 y 180 Kb de longitud). Según (Blissard *et al.*, 2000), la clasificación actual de esta familia incluye a todos aquellos virus cuyos viriones presentan forma de varilla o de bastón y que además son ocluidos en matrices de naturaleza proteica o cuerpos de oclusión (CO's) (Volkman *et al.*, 1995; Miller, 1996).

Granulovirus

Dentro del género Granulovirus, los CO's de las distintas especies suelen ser de tamaños bastante homogéneos, oscilan entre 0.15-0.30µm y 0.3-0.50µm de largo y generalmente son de forma granular (se asemejan a óvalos). Cada CO contiene un solo virión de tipo simple (excepcionalmente 2 o 3) por gránulo (Tanada y Hess, 1984; Moscardi, 1999; Caballero *et al.*, 2001; Herniou *et al.*, 2003).

Nucleopoliedrovirus

Se caracterizan por que se replican en el núcleo de las células infectadas y los CO's son de poliedrina, en forma de poliedro, de aproximadamente 1 a 1.5 µm de diámetro, por lo que se denomina Nucleopoliedrovirus (NPV) (Tanada y Hess, 1984; Moscardi, 1999; Herniou *et al.*, 2003).

Nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (SfNPV)

S. frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) es la plaga principal del maíz en las regiones tropicales y subtropicales de América. Las larvas de esta especie son susceptibles a cepas de NPV aisladas de larvas infectadas de *S. frugiperda* en los EUA, Nicaragua, Argentina, Brasil y Perú, los cuales fueron sujetos a una comparación estructural, genética y biológica, para seleccionar un candidato de los aislados para el uso en experimentos de biocontrol en México y Honduras (Escribano *et al.*, 1999; Gómez *et al.*, 1999; Valicente y Barreto, 1999; Armenta *et al.*, 2003).

Estructura y Composición de los Baculovirus

Nucleocápsida

Esta estructura es la misma en todos los baculovirus cuya función es transportar la información genética del virus hasta la célula hospedera (Federeci, 1986). Dicha estructura consiste en una cápsida cilíndrica, tapada en ambos extremos, cuyo interior constituye el núcleo donde se encuentra el ADN genómico

enrollado y condensado. Esta puede tener un diámetro medio comprendido entre 30 y 60 nm y una longitud de entre 250 y 300 nm esta última esta sujeta a variación entre distintos virus ya que parece ser proporcional al tamaño de sus genomas (Federeci, 1986; Tanada y Hess, 1991).

El tamaño del genoma puede oscilar entre 80 y 180 kilobares de bases (kb) y esta organizada en una sola molécula circular de ADN de doble cadena, que contiene entre 100 y 200 genes, algunos de los cuales se encuentran repetidos (Kuzio *et al.*, 1999; Hayacawa *et al.*, 1999). El ADN purificado de los baculovirus es capaz de iniciar la infección y producir virus viable, por transfección de células susceptibles (Potter y Miller, 1980) o por inyección intrahemocelica de larvas susceptibles (Croizier *et al.*, 1988).

Matriz proteica

La matriz proteica está sintetizada y depositada alrededor de los viriones durante la replicación del virus, y esto contribuye a la estabilidad de los virus en el medio físico fuera del hospedero. En general el GV está envuelto en la nucleocapsida, simplemente ocluido, mientras en los otros virus se encuentran ocluidos, muchas partículas envueltas aleatoriamente de cada matriz proteica (Harrap y Payne, 1979; Maramorosch, 1968; Summers, 1977).

Viriones

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 de un mismo hospedero. 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 (Federeci, 1986).

Los viriones ocluidos (ODV) son los elementos infecciosos responsables de la transmisión horizontal del virus entre los individuos susceptibles de una población,

así como de iniciar la infección primaria en las células epiteliales del mesenteron (Granados y Williams, 1986).

Los viriones brotados (BV) contienen una sola nucleocápsida y son todos morfológicamente iguales. Estos viriones a diferencia de lo que ocurre con los ODV, son elementos infecciosos que solo se producen en los baculovirus poliorganotróficos; es decir, en aquellos en los que, además de infectar las células epiteliales del mesenteron, infectan las células de la cavidad hemocélica (Federeci, 1997). Los BV entran a las células por endocitosis (Volkman y Goldsmith, 1985) y son los principales responsables de diseminar la infección entre los órganos y tejidos de la cavidad hemocélica del hospedero, así, como en los cultivos de células *in vitro* (Monsma *et al.*, 1996).

Cuerpos de Oclusión

Los baculovirus en general al final del proceso infeccioso sintetizan grandes cantidades de poliedrina o granulina, según el género del virus, las cuales son proteínas que cristalizan formando los CO's con forma de poliedro irregular (poliedrina) o de gránulos (granulina). Durante la morfogénesis, quedan uno o varios viriones ODV, dependiendo del tipo de virus lo cual les permite preservar su capacidad infecciosa fuera del hospedero. Los CO's son insolubles en agua y resistentes a la putrefacción y desintegración por agentes químicos (Benz, 1986), y a tratamientos físicos como congelación, desecación o liofilización (Jaques, 1985), todas las cuales son características que les confieren persistencia en el medio. Sin embargo, los CO's son solubles en soluciones alcalinas, como las que se dan en el tubo digestivo de algunos insectos (Granados y Williams, 1986), lo cual facilita la liberación de viriones de los CO's para que puedan iniciar una infección.

Las células infectadas producen CO's en las etapas muy tardías de la infección y las larvas infectadas se convierten en una masa amorfa repleta de CO's encerrada en la cutícula al momento de la muerte. Poco tiempo después, el insecto

infectado se licua produciendo un inóculo fresco para infectar otros hospederos (Volkman y Keddie, 1990).

Vía de Entrada de los Virus

La vía de infección de los baculovirus es de importancia fundamental en el entendimiento de la interacción virus-hospedero. El conocimiento de los mecanismos de infección pueden revelar los síntomas principales del hospedero y la susceptibilidad o resistencia al virus. La vía más común de infección con el nucleopoliedrovirus es por ingestión; sin embargo, también puede transmitirse transoval y transovaricamente, a través de espiráculos y por medio de parásitos (Granados y Federici, 1986; Whittaker *et al.*, 2000; Herniuo *et al.*, 2003).

Infección del Hospedero

La infección de los hospederos ocurre en el tubo digestivo de los insectos, donde se dan condiciones alcalinas, se disuelve la proteína que compone los CO's y se liberan los viriones que se unen a la membrana de las células epiteliales del mesenteron. Los viriones invaden las células, por un proceso de fusión de membranas, y el DNA viral se replica en el núcleo de la célula produciendo al final del proceso, grandes cantidades de CO's (Granados y Williams, 1986).

Todos los virus de esta familia se caracterizan por tener un estrecho espectro de hospederos, una elevada patogenicidad y virulencia que son características ideales para un bioinsecticida (Federici, 1997). Los CO's que los caracteriza los hace estables durante largos periodos y facilita su aplicación mediante pulverizaciones convencionales (Jaques, 1985).

Modo de Infección de los Baculovirus

Después de ser ingeridos, los poliedros o gránulos presentes en la dieta contaminada, son disueltos en el lumen del intestino medio a través de la acción del jugo digestivo alcalino, (pH 9.5 a 11.5) y posiblemente por la degradación enzimática. Los viriones envueltos en el poliedro o gránulo, son liberados y las células columnares son invadidas por las nucleocapsides (Fig. 2). Las cubiertas de los viriones se fusionan a las microvellosidades de las células lo que parece depender de los fosfolípidos y las cargas iónicas de la cubierta de los virus (Tanada y Hess, 1984; Whittaker *et al.*, 2000; Herniou *et al.*, 2003). Después de que las nucleocapsides entran en las microvellosidades se produce la absorción y fusión y se lleva a cabo dentro de 25 min a 4 h postinfección. Las nucleocapsides llegan a adherirse a un nucleopóro dentro de 1 h y el ácido nucleico (ADN) es descargado dentro de los núcleos (Whittaker *et al.*, 2000). Posterior a estos eventos, se inicia el periodo de la replicación del virus, y se termina con la aparición del estroma virogénico al producir las nucleocapsides. Las nucleocapsides son envueltas por una membrana producida por síntesis de novó en el núcleo (Whittaker *et al.*, 2000).

Los baculovirus son parásitos intracelulares obligados, y solo se reproducen en las larvas hospederas o en cultivo de células de insectos. Producen infecciones crónicas o letales en sus hospedantes. Aunque las pupas y los adultos de algunas especies pueden ser infectados, el estado larval es el más susceptible como recientemente se demostró con el uso de la hemolinfa de *B. mori* (Payne, 1982; Hayakawa *et al.*, 1999). El porcentaje de mortalidad es variable dependiendo de las dosis y tiempo de exposición.

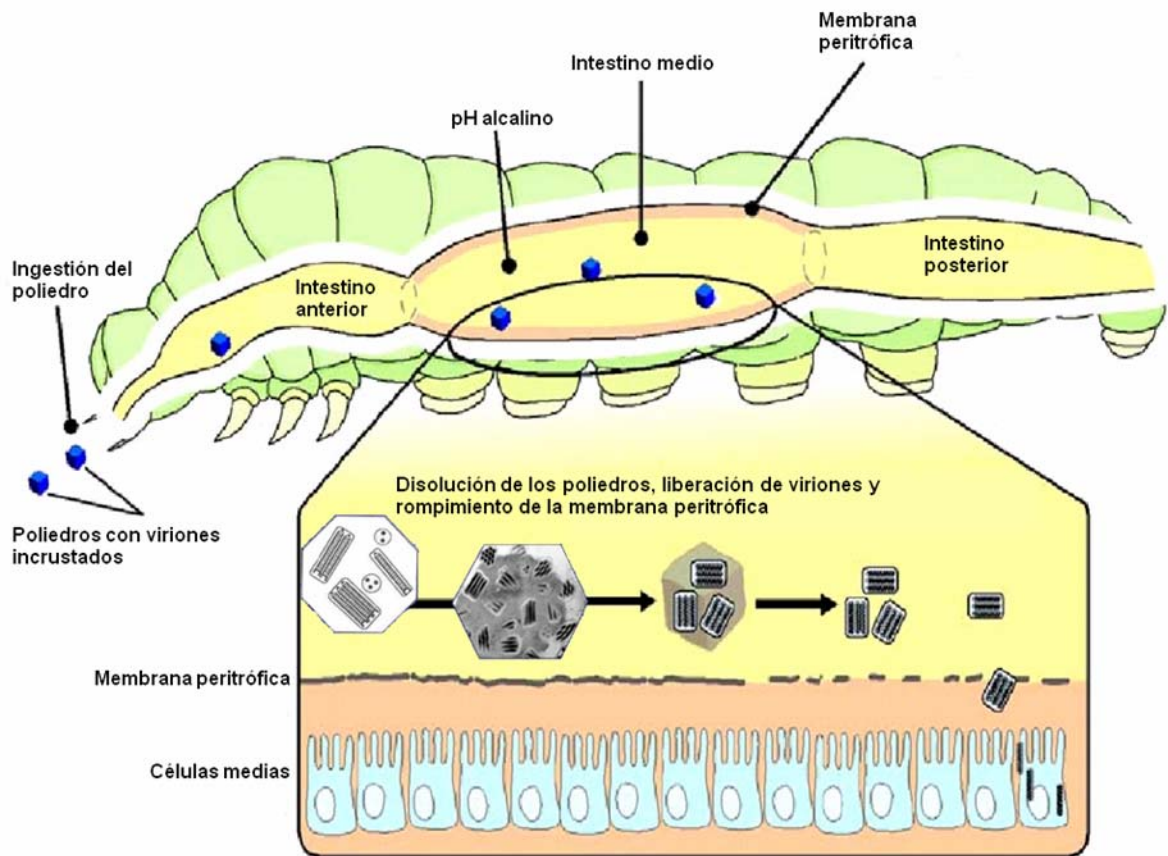


Figura 2. Ciclo de infección de un baculovirus en general. Tomado de (Granados y Lawler, 1981).

Durante este ciclo se producen dos fenotipos de viriones diferentes con idéntico genotipo (Blissard, 1996; Toprak y Gürkan, 2004). Uno de ellos es el responsable de la transmisión horizontal de la enfermedad y por ende, el causante de la infección primaria en el insecto, provocando la infección secundaria que dará como resultado final, la generación de nuevos CO's y, eventualmente, la muerte de los insectos afectados.

Infección primaria.- La forma más común de inicio de la infección primaria es por ingestión de los CO's presentes como contaminantes en el alimento de las larvas (Granados y Williams, 1986). Otras vías de entrada e infección incluyen la transmisión transovárica o por contaminación superficial de los huevos al ovipositar las hembras infectadas (Kukan, 1999); el paso a través de los espiráculos (Kirkpatrick *et al.*, 1994; citado por Sciocco, 2001) y el parasitismo (Caballero *et al.*, 1991), aunque estos últimos mecanismos no se consideran de importancia ya que la frecuencia de ocurrencia es relativamente baja. Una vez ingeridos los CO's, debido a la alta alcalinidad presente en los jugos intestinales del insecto hospedero, llega primeramente al lumen del intestino medio, se produce la hidrólisis de la proteína mayoritaria de los CO's, facilitada por la acción de una proteasa alcalina y se liberan los viriones envueltos (Granados y Williams, 1986).

Infección secundaria.- La diseminación de la enfermedad dentro del hospedero es causada por la progenie de virus brotantes que infectan células vecinas y diversos tejidos, según el aislamiento del virus de que se trate. Los viriones brotados atraviesan la membrana basal para iniciar la infección secundaria (Granados y Lawler, 1981). Una vez producida esta infección secundaria, desde cada sitio de infección inicial se produce la dispersión de la enfermedad de célula en célula (Monsma *et al.*, 1996).

Sintomatología de los Baculovirus

Las larvas infectadas por baculovirus exhiben un conjunto de signos y síntomas característicos que empiezan a manifestarse uno o varios días después de haberse iniciado la infección (Sciocco, 2001). Al respecto Mazzone (1985), menciona que en una infección causada por baculovirus, las larvas afectadas no presentan síntomas durante los primeros días después de la infección. Los primeros síntomas que se aprecian son cambios en la coloración, debido a la acumulación de CO's en los tejidos afectados del tegumento, tornándose las larvas de color blanquecino o amarillento y el comportamiento de larvas (Vasconcelos *et al.*, 1996). Las larvas

pierden el apetito y poco después dejan de alimentarse por lo que crecen mas lentamente. La muerte se produce por la ruptura de la cutícula y la licuefacción de los órganos del hospedero (Tanada y Kaya, 1993; Federici, 1997; Toprak y Gürkan, 2004). En las larvas muertas o moribundas el tegumento es generalmente muy frágil y se rompe con facilidad, liberando el contenido liquido con miles de CO's (Granados y Williams, 1986).

En el caso particular de lepidópteros, se observa que las larvas tienden a alejarse de su fuente de alimentación, emigrando hacia la parte superior de la planta donde mueren adheridas de las propatas a la planta en la forma de una "V" invertida (Murray y Elkinton, 1992; Tanada y Kaya, 1993; Vasconcelos *et al.*, 1996; Moscardi, 1999; Lynn, 2002; Herniou *et al.*, 2003; Toprak *et al.*, 2005). La aparición de los primeros síntomas de enfermedad y el tiempo letal dependen de una serie de factores, tales como: virulencia del aislamiento, dosis ingerida, edad larval, temperatura y estado nutricional (Sciocco, 2001).

En infecciones causadas por GVs, además de los factores citados, el tiempo letal depende del tipo de GV de que se trate y así, el comportamiento de los granulovirus del tipo II (infecciones poliorganotrópicas) es similar al de los NPVs mientras que la velocidad de acción de los pertenecientes al tipo I (infecciones monoorganotrópicas) es menor (Sciocco, 2001).

Uno de los primeros signos de la infección viral es la reducción en la concentración de proteínas en la hemolinfa (Hayakawa *et al.*, 1999). El tiempo para que ocurra la muerte del insecto depende de las especies pero generalmente es de 3 a 7 días aunque puede ser de 3 a 4 semanas, dependiendo de las interacciones entre el virus, el insecto y la planta (Starnes *et al.*, 1993; Hayakawa *et al.*, 1999; Moscardi, 1999).

Comportamiento del insecto

Canibalismo, oviposición y movilidad

La ocurrencia de canibalismo tiene dos consecuencias directas en la ecología de los baculovirus. La primera es la reducción de la densidad poblacional de hospederos susceptibles, elemento clave para el inicio y permanencia de epizootias; por otro lado, el canibalismo sobre organismos infectados, en caso que ocurra puede constituir una forma de adquisición del patógeno. Evans (1986) menciona que larvas de *Mamestra brassicae* exhiben canibalismo intenso sobre cadáveres infectados, aunque Vasconcelos (1996) detectó una baja frecuencia de este fenómeno en la misma especie y consecuentemente una transmisión limitada del virus. El canibalismo en *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) contribuyó a la transmisión de un NPV (Dhandapani *et al.*, 1993). Así mismo, en *S. frugiperda*, cuya larva es típicamente caníbal, ocurrió poca transmisión del virus como consecuencia de dicha actividad (Chapman *et al.*, 1999).

Los cambios de comportamiento a lo largo del ciclo pueden afectar la tasa de transmisión entre larvas que habitan diferentes ambientes en el sistema suelo-planta; por ejemplo, las larvas de *S. frugiperda* migran para el cogollo del tallo de la planta de maíz a partir del segundo estadio, donde se encuentran prácticamente aisladas debido a su conducta caníbal, que reduce la amplificación potencial del inóculo. En contraste, las larvas de *M. brassicae* abandonan el lado inferior de las hojas para migrar hacia la cabeza de la col después del cuarto estadio. En este sitio se encuentran a bajas densidades y próximas a la pupación, haciendo que el inóculo liberado, después de la licuefacción de los cadáveres tenga poco reciclaje inmediato (Vasconcelos *et al.*, 1996). Larvas jóvenes de *Trichoplusia nii* y *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) tienen bajas tasas de alimentación y habitan áreas reducidas de la planta, a medida que envejecen aumentan su dispersión, alimentándose más y en áreas mayores lo que según Fuxa (1995), traería consecuencias en la aplicación del virus como insecticida. De tal manera, que si una población tiene un patrón agregado, entonces el máximo de patógeno debe ser aplicado sobre esos agregados

a fin de contactar el máximo de insectos con la pérdida mínima de virus. Por otro lado, insectos que forman agregaciones tendrían, teóricamente, alto riesgo inmediato de transmisión, como severa mortalidad, aunque la distribución espacial del inóculo sería más limitada.

Susceptibilidad

Diferencias en las condiciones fisiológicas del hospedero que hacen que la respuesta a la infección varíe, incluso entre individuos de la misma especie provenientes de crías de laboratorio. Ésta variación es común entre poblaciones de regiones geográficas distintas, posiblemente debido a diferencias genéticas intrínsecas. Fuxa (1987), encontró diferencias significativas en la susceptibilidad de poblaciones de *S. frugiperda* provenientes de América del Norte, Central y Sur.

Los parámetros mas utilizados para estimar la susceptibilidad de un insecto a un patógeno son la dosis letal media (DL_{50}) y el Tiempo Letal Medio (TL_{50}). La DL_{50} se refiere al número de CO's necesarios para matar 50% de la población experimental en un bioensayo. El TL_{50} se refiere al tiempo en el cual se observa la mortalidad del 50% de la población experimental. Una visible disminución de la susceptibilidad, medida por el mayor número de CO's y/o por el mayor tiempo necesario para la muerte del hospedero ocurre a medida que la larva crece, siendo conocido este fenómeno como inmunidad por maduración (Wanatabe, 1987; Tanada y Kaya, 1993).

Además de la edad de larva, procesos fisiológicos y hormonales pueden afectar el progreso individual de la enfermedad: interrupciones en la multiplicación de baculovirus fueron observadas en pupas de *B. mori* (Lepidóptera: Bombycidae) y en *G. hercyniae* en diapausa (Wanatabe, 1987).

Factores Relacionados con el Patógeno

Patogenicidad y Virulencia de los Baculovirus

Con frecuencia se confunden los conceptos de patogenicidad y virulencia ya que presentan propiedades diferentes del patógeno. Patogenicidad es la capacidad de un organismo para provocar una enfermedad, y es una característica genética, o sea un microorganismo puede ser o no patogénico a un insecto (Tanada y Kaya, 1993). Virulencia, por su lado, representa la intensidad o el grado con que el patógeno causa la enfermedad y es una característica biológica alterable. Los baculovirus en general tienen una alta virulencia, ya que la infección frecuentemente termina en la muerte del insecto.

Ventajas del Uso de Baculovirus

El uso de virus entomopatógenos constituye una alternativa para controlar plagas insectiles con las siguientes ventajas: a) son específicos de invertebrados, no presentan propiedades físicas, químicas o biológicas en común con virus de vertebrados (Katleen *et al.*, 1981; Moscardi,1999); b) presentan una alta especificidad de hospederos, por lo tanto no dañan directamente a parásitos y depredadores; c) no contaminan el medio ambiente debido a que no causan problemas residuales, ya que son degradados por los rayos ultravioleta del sol; d) se produce exclusivamente en el interior del insecto hospedero; e) no generan resistencia y f) se pueden aplicar con la tecnología propia de los insecticidas químicos.

Medición de la Capacidad Insecticida en Laboratorio

Mediante la realización de bioensayos es posible cuantificar la actividad biológica de los baculovirus como una respuesta del hospedero en términos de mortalidad, fecundidad, desarrollo, etc. En donde se involucran la dosificación del patógeno, administración de la dosis y el registro de la respuesta negativa o positiva en un tiempo determinado (Robertson y Preslier, 1991).

Bioensayo

El bioensayo se puede definir como cualquier método que mida alguna propiedad de un agente, en términos de respuesta biológica. Es decir, el bioensayo toma a los organismos vivos como aparatos de medición, y establece el parámetro biológico que utilizara (mortalidad, longevidad, fertilidad, crecimiento, atracción, etc.) para relacionar el fenómeno causal es siempre un patógeno y el efecto normalmente se mide en términos de mortalidad o de algún otro daño fisiológico. En los bioensayos donde se prueban los efectos de diversas cepas de baculovirus sobre determinadas especies de insectos, el efecto se mide normalmente en términos de mortalidad, como si fuera un insecticida químico (Ibarra y Del Rincón, 2001).

Para determinar cuantitativamente el efecto letal de un baculovirus, es necesario llevar acabo bioensayos en los que se prueben una serie de dosis (o concentraciones) del baculovirus que se requiere evaluar. Dichas dosis o concentraciones se cuantifican normalmente con la ayuda de hematocitómetros, en los cuales se realiza un conteo de los poliedros o gránulos presentes en una solución madre, a partir de la cual se efectuaran las distintas diluciones en soluciones acuosas con detergentes, que corresponden a cada dosis o concentración. Esta serie de dosis deberá relacionarse con la mortalidad causada por cada una de ellas, de tal forma que se pueda establecer una ecuación de regresión que estime la relación entre las dos variables, y consecuentemente determinar el nivel de letalidad de la cepa en cuestión (Ibarra y Del Rincón, 2001).

Métodos de Inoculación

La actividad biológica de una cepa de virus se puede determinar utilizando distintos métodos de inoculación. La forma en que se realiza la infección depende de los hábitos de la especie de insecto sobre la que se experimenta y la disponibilidad del material requerido. Se determina previamente el hospedero y el tamaño más adecuado según los parámetros a evaluar. Aunque hay baculovirus con un espectro de hospederos muy restringido, existen otros que pueden infectar a un número de especies más o menos amplio, por lo que el hospedero sobre el que se decida determinar la actividad biológica del virus puede ser su hospedero natural o alguna de las especies susceptibles al mismo. Es habitual utilizar larvas de los primeros estadios, por ser en la práctica el tamaño más adecuado para la aplicación de un bioinsecticida. Las concentraciones de un producto viral se preparan por dilución de la obtenida en la titulación.

a) Inoculación de Hughes y Wood

Este método, originariamente descrito por Hughes y Wood (1981), se basa en la infección *per os* de larvas que se han mantenido en ayunas durante un breve periodo de tiempo. La gran ventaja que ofrece este método es que la dosis se ingiere en un breve espacio de tiempo, lo cual es de especial importancia a la hora de calcular parámetros de tiempo. Además, mediante la utilización de un colorante alimenticio, se comprueba que las larvas han ingerido la dosis. Los resultados de mortalidad obtenidos nos permiten calcular la CL_{50} y DL_{50} y el TL_{50} para morir. El volumen ingerido por las larvas debe conocerse para el cálculo de la DL_{50} . Este volumen puede estimarse utilizando una suspensión marcada con ^{32}P (Hughes y Wood, 1981).

b) Inoculación en superficie

Este medio puede ser empleado para estimar la DL_{50} y la CL_{50} . En el primer caso, la dosis es proporcionada en una cantidad de dieta que es ingerida en su totalidad (caso A); en el segundo, la concentración es aplicada sobre una superficie

determinada de la dieta que no es consumida en su totalidad (caso B). Debido a que el presente método tiene como fundamento determinar la concentración ingerida por el hospedero, solo podrán ser consideradas dentro del bioensayo las larvas que hayan consumido la totalidad del inóculo viral en un periodo de 24 h.

c) Inoculación por incorporación en dieta

La inoculación de virus en dieta es una técnica comúnmente utilizada para la multiplicación del virus. Sin embargo en algunas especies que penetran en la dieta para alimentarse se emplea rutinariamente para la determinación de la DL_{50} y la CL_{50} .

d) Inoculación en sustrato vegetal

Este método de bioensayo se basa en la utilización de discos de hoja de planta impregnados en una solución de CO₂ y se basa en el publicado por Iriarte *et al.* (1998). El insecto ingiere el virus mezclado con la dieta artificial. Los resultados de mortalidad obtenidos se utilizarán para estimar la CL_{50} .

Análisis Probit

Las múltiples experiencias para correlacionar las diferentes dosis de un agente con los porcentajes de mortalidad que producen, nos muestran que estas no son del tipo lineal simple. Teóricamente, la relación entre dosis y porcentaje de mortalidad se establece por una línea sigmoide extendida; es decir, la sección de la curva correspondiente a las dosis máximas y a las mortalidades máximas, se extiende a la derecha, provocando que la curva se vuelva asimétrica. Un primer intento de regularizar la curva se obtiene al transformar a logaritmos las dosis probadas en el bioensayo. Si bien el resultado sigue siendo una curva sigmoidea, esta se hace simétrica en sus regiones asintóticas (Ibarra y Del Rincón, 2001).

Una curva sigmoidea simétrica también representa la respuesta acumulada de una población con distribución normal. En otras palabras la distribución de mortalidad

de una población puede ahora representarse por el área acumulada contenida en una campana o curva de Gausse, en donde el 50% del área (la media) coincide con el punto medio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cría de *Spodoptera frugiperda*

Para la cría masiva de *S. frugiperda* se recolectaron larvas del 5^{to} y 6^{to} estadio de maizales infestados en el campo experimental “El Bajío” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Este campo está localizado a 25° 23' N, 101 ° 00' W, con una altitud de 1743 msnm.

La colonia se estableció en una cámara bioclimática a 25 ± 2 °C con un fotoperiodo 12:12 y 50-60% de HR, en el Departamento de Parasitología Agrícola. Las larvas fueron alimentadas con dieta artificial (AKPA Chemical & Equipment CO), hasta el estadio de pre-pupa, de esta manera, las pupas sanas se depositaron directamente dentro de las jaulas, se esperó a que emergieran como adultos. Las jaulas contenían tiras de papel, los cuales sirvieron como sustrato de oviposición.

Una vez emergidos los adultos se alimentaron con agua azucarada al 15%, diariamente; los huevos se recolectaron de forma manual revisando cuidadosamente las tiras de papel y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.2% para la eliminación de patógenos contaminantes en la cría, posteriormente fueron colocadas en vasos de plástico transparentes del no. 3 (Envases cuevas S.A. de C.V.) que contenían dieta artificial para su alimentación al momento de su eclosión. Posterior a la emergencia las larvas de primer estadio, se colocaron de manera individual en vasos de plástico 0A (Envases cuevas S.A. de C.V.) con dieta artificial para evitar el canibalismo, estas permanecieron así, hasta la etapa de prepupa, iniciando nuevamente con el cultivo del cogollero del maíz.

Identificación de la plaga

La identificación de la plaga se realizó mediante comparaciones de material biológico de acuerdo a la descripción de Bautista (2006) y el uso de claves taxonómicas de George L. Godfrey citado en el libro de *Inmature Insects* de Frederick (2005), como sigue:

La larva de *S. frugiperda*, vista de forma dorsal, en el octavo segmento abdominal, presenta cuatro puntos negros en forma de cuadro que corresponden a los pináculos setíferos dorsales, prominentes y carecen de microespinas. En la cabeza presenta áreas adfrontales de color blanco-amarillo, en forma de Y invertida.

Como adulto, el macho, el área costal de las alas anteriores son de coloración pálida, con una mancha elíptica blanquecina cerca del centro y a un lado de esta, una franja diagonal clara dirigida del margen costal al centro del ala, además de una pequeña mancha blanquecina en el margen apical. La hembra presenta una mancha elíptica en el margen costal delimitado por una línea clara.

Aislamiento, Purificación y Amplificación de los Aislados

Los aislados de NPV fueron recolectados de suelo de parcelas de maíz de Coahuila; Nuevo León, Aguascalientes y Nayarit, posteriormente fueron replicadas en larvas de los tres primeros estadios de *S. frugiperda* de acuerdo a la metodología descrita por Murillo *et al.* (2007). Para la amplificación *in vivo* de virus se empleó una suspensión no purificada, ni cuantificada, la cual fue asperjada en la superficie de la dieta artificial, se dejó secar a temperatura ambiente y sobre esta dieta se colocaron grupos de entre 30 y 50 larvas del primero, segundo y tercer estadio, se dejó por un periodo de 24 h. Transcurrido este tiempo, las larvas se infectaron al ingerir el alimento contaminado, posterior a esto se separaron las larvas de manera individual en vasos de plástico con dieta artificial sin contaminar. Las larvas muertas por el

virus se recolectaron después de 10 a 12 días y se colocaron en tubos de ensayo para ser almacenados a 0 °C, hasta su utilización.

Para la purificación de los CO's de SfNPV se empleo el método descrito por Muñoz *et al.*, (2001), mediante centrifugaciones y un gradiente de sacarosa del 40%. Al final se observó un sedimento o pastilla en la parte inferior del tubo Eppendorf la cual correspondía a una gran concentración de CO's, que se resuspendieron en alícuotas de 1000 µl de H₂O destilada estéril y se almacenaron a 0 °C hasta su utilización.

Protocolo de purificación de CO's

La purificación de los virus se llevo acabo en el laboratorio de parasitología molecular; tomando una muestra de las larvas homogenizada en 1 ml de SDS al 0.1%, enseguida se Centrifugó a 1600g en una centrifuga (Eppendorf 5415C) durante 5 min y se separó el sobrenadante. El precipitado se resuspendió en 500 µl de de SDS al 0.1% y se centrifugó 1600g durante 5 min. Los sobrenadantes de los pasos anteriores se mezclaron y se centrifugaron nuevamente a 5000g por 5 min. Posteriormente la pastilla de la centrifugación (virus) se resuspendió en 300 µl de SDS al 0.1%; enseguida se añadió 500 µl de sacarosa al 40% por encima la suspensión de virus, del paso anterior. Nuevamente se centrifugó a 14,000g por 60 min, eliminándose el sobrenadante y resuspendiendo la pastilla en 1000 µl de SDS al 0.1%, finalmente se centrifugó a 4000g durante 5 min para posteriormente desechar el sobrenadante y por último se resuspendió el sedimento o pastilla (virus purificado) en 1000 µl de H₂O destilada y estéril; esta suspensión se almaceno a una temperatura de 0 °C hasta su utilización en los bioensayos (Muñoz *et al.*, 2001).

Bioensayos

Para la determinación de la concentración letal media (CL_{50}) y el tiempo de mortalidad, se utilizaron suspensiones purificadas y tituladas de los aislados de NPV, para ello se prepararon varias diluciones seriadas de las suspensiones virales, se tomó una alícuota de 10 μ l de las diluciones más bajas para incrementar la fiabilidad en el cálculo de la concentración, y fueron introducidas por capilaridad entre la cámara de Neubauer Improved (Blau Brand, Germany) y el portaobjetos, se esperó 10 min para permitir que sedimentaran los CO's. Los CO's fueron contados bajo un microscopio compuesto invertido, (Olympus CKX41) con contraste de fases a 400X en 5 cuadrantes de la cuadrícula completa y repetido tres veces (Muñoz *et al.*, 2001). Este dato se transformó calculando el número de CO's en el volumen que se proporcionaría a cada larva de cada estadio sometida al tratamiento que fueron de 2×10^2 a 1.6×10^7 CO's/larva. Así que la dosificación fue expresada en número de cuerpos de oclusión por larva (CO's/larva). Tanto para el testigo como para los tratamientos se utilizaron 20 larvas sanas del primero, segundo y tercer estadio.

La inoculación de la superficie de la dieta se hizo en vasos de plástico del No. 0A (Envases cuevas, S.A. de C.V.) donde se colocó una larva en forma individual. Cada recipiente con dieta se contaminó con las concentraciones antes señaladas para cada aislado y estadio larval de la suspensión viral y distribuida de manera homogénea sobre la dieta artificial con la ayuda de varillas de vidrio sobre el área tratada. Se dejó secar a temperatura ambiente, y posteriormente se colocaron las larvas de manera individual. La evaluación fue hecha diariamente durante un periodo de 8 a 15 días, dependiendo del estadio larval. Se descartó aquellas larvas que no consumieron dieta contaminada con el virus. Para determinar el tiempo de mortalidad, los datos se registraron durante un periodo 22 días post-inoculación, período en que las larvas de los tratamientos que no morían alcanzaban a pupar. Para determinar la causa de mortalidad de las larvas, se examinó la hemolinfa de larvas muertas al microscopio compuesto a 400X, que fueron preparadas mediante la técnica de tinción de Giemsa para facilitar la observación de CO's característicos de este grupo de virus y sólo se consideró a las que murieron por la acción del NPV.

La tinción de Giemsa

Giemsa es un colorante negativo que permite identificar los CO's como partículas claras y redondeadas; el interior del cuerpo de oclusión y la nucleocapside, presentan una coloración azul y roja, respectivamente. La tinción de Giemsa se preparó de la siguiente manera:

Se colocó sobre un portaobjetos una fina muestra del tejido o hemolinfa del insecto infectado, esta muestra se secó al aire (temperatura ambiente). Posteriormente se cubrió la muestra con fijador Giemsa durante dos minutos (94% etanol absoluto, 5% formalina y 1% de ácido acético) y se lavó el portaobjetos por escurrimiento de agua durante 10 segundos, al igual que en el segundo paso se dejó secar a temperatura ambiente y se cubrió la muestra con colorante Giemsa (0.04%) durante 30 min. Se lavó el exceso de colorante con agua corriente y dejó secar al aire nuevamente. Finalmente la muestra se examinó al microscopio compuesto de contraste de fases, a 400X (Muñoz *et al.*, 2001).

Análisis Estadístico

En el análisis estadístico se utilizó la fórmula de Abbott (1925), para obtener la mortalidad corregida. En las pruebas de mortalidad para las larvas de los tres estadios, se calculó la regresión concentración-mortalidad, así como los estimados de los límites de confianza, usando el programa estadístico SAS System ver. 9.0 (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DICUSIÓN

Bioensayos Preliminares

En el Cuadro 3 se muestran los resultados preliminares de patogenicidad de cinco aislados de NPV nativos de Nayarit, Coahuila, Nuevo León y Aguascalientes, contra larvas de primer estadio del gusano cogollero del maíz, empleando concentraciones que asilaron de 1×10^5 a 1.6×10^7 cuerpos de oclusión (CO's/larva) destacando que los cinco aislados evaluados con dicho estadio larval registraron mortalidades que fueron del 95 al 100%.

Cuadro 3. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de primer estadio de *Spodoptera frugiperda* durante 8 días de post-inoculación.

Concentración.	No. inicial de larvas	% de Mortalidad				
		SfNPV-NAY ₁	SfNPV-NAY ₂	SfNPV-AN ₃	SfNPV-NAV ₁₁	SfNPV-AG ₂
1×10^5	20	100	100	*	*	*
2×10^5	20	100	100	*	100	*
4×10^5	20	100	100	*	95	*
8×10^5	20	100	100	*	100	*
1×10^6	20	100	*	95	*	100
1.6×10^6	20	100	100	*	*	*
2×10^6	20	*	100	100	*	100
3.2×10^6	20	*	*	*	*	*
4×10^6	20	*	*	100	100	100
8×10^6	20	*	*	100	100	100
1.6×10^7	20	*	*	100	100	*
Testigo	20	5	10	0	5	5

SfNPV-NAY₁ y SfNPV-NAY₂, Aislados de parcelas de maíz de Nayarit; SfNPV-AN₃ Aislado de Coahuila; SfNPV-NAV₁₁; Aislado de Navidad, Nuevo León; SfNPV-AG₂: Aislado de Aguascalientes. *Concentraciones no evaluadas.

El tiempo de mortalidad (días) para larvas de primer estadio tratadas con el aislado SfNPV-NAY₁ se registró al primer día postinfección (50%), con una concentración de 8x10⁵ CO's, para el aislado SfNPV-NAY₂ se registró el día 2 (60%) con la misma concentración, para el aislado SfNPV-AN₃ se registró el día 1 (75%), para el aislado SfNPV-NAV₁₁ se registro el día 3 postinfección (50%) y para el aislado SfNPV-AG₂ fue el día 1 (60%). En base a estos resultados se muestra que la mayor mortalidad de larvas de primer estadio ocurrió entre los tres primeros días con mortalidades que oscilaron de 50 al 70% (Cuadro 4). Estos resultados coinciden con (Starnes *et al.*, 1993; Hayakawa *et al.*, 1999; Moscardi, 1999), ellos mencionan que el tiempo para que ocurra la muerte del insecto dependerá de las especies pero generalmente es de tres a siete días, aun que puede ser de tres a cuatro semanas esto dependerá de las interacciones entre el virus, el insecto y la fuente de alimento. El tiempo que requiere el virus para causar la muerte de la larva se incrementa de acuerdo al tamaño de la larva, tal como lo señala Martínez *et al.* (2003). Además de mencionar que la variación en TL₅₀'s y CL₅₀'s es debido a la concentración inicial de inoculación, estado larval y método de bioensayo empleado. Al respecto Escribano *et al.* (1999) reportan un incremento de TL₅₀ de larvas de segundo al quinto estadio de 4.2 a 5.7 días.

Cuadro 4. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de primer estadio, tratados con aislados nativos de NPV de *Spodoptera frugiperda*.

Concentración.	No. inicial de larvas	Tiempo de mortalidad (días)				
		SfNPV-NAY ₁ Día (%)	SfNPV-NAY ₂ Día (%)	SfNPV-AN ₃ Día (%)	SfNPV-NAV ₁₁ Día (%)	SfNPV-AG ₂ Día (%)
1x10 ⁵	20	5(40)	3(30)	*	*	*
2X10 ⁵	20	5(40)	4(30)	*	3(40)	*
4X10 ⁵	20	4(37)	2(30)	*	2(30)	*
8X10 ⁵	20	1(50)	2(60)	*	3(50)	*
1X10 ⁶	20	*	*	5(30)	*	2(40)
1.6X10 ⁶	20	3(30)	2(45)	*	*	*
2X10 ⁶	20	*	2(55)	3(25)	*	3(45)
3.2X10 ⁶	20	*	*	*	*	*
4X10 ⁶	20	*	*	3(35)	2(45)	2(45)
8X10 ⁶	20	*	*	1(50)	1(40)	1(60)
1.6X10 ⁷	20	*	*	1(75)	1(40)	*
Testigo	20	5	10	0	5	5

En larvas de segundo estadio, las mortalidades fueron de 60 a 100% para aislados de NPV, registrados en un periodo de 8 días post-inoculación, para el aislado SfNPV-NAV₁₁ la mortalidad osciló de 60 al 100% con concentraciones de 2x10³ a 8x10⁴ CO's y para el aislado SfNPV-AG₂ la mortalidad registrada fue de 85 al 100% con concentraciones de 2x10⁴ a 8x10⁵ CO's, el resto de los aislados mostraron una mortalidad de 75 al 100%, con concentraciones de 1x10⁶ a 1.6x10⁷ CO's, donde el aislado SfNPV-NAY₁ mostró el 100% de mortalidad (cuadro 5).

Cuadro 5. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de segundo estadio de *Spodoptera frugiperda* durante 8 días de post-inoculación.

Concentración.	No. inicial de larvas	% de Mortalidad			
		SfNPV-NAY ₁	SfNPV-NAY ₂	SfNPV-AN ₃	SfNPV-NAV ₁₁
2X10 ³	20	*	*	*	60
4X10 ³	20	*	*	*	75
8X10 ³	20	*	*	*	*
2X10 ⁴	20	*	*	*	85
4X10 ⁴	20	*	*	*	85
8X10 ⁴	20	*	*	*	100
2X10 ⁵	20	*	*	*	*
4X10 ⁵	20	*	*	*	*
8X10 ⁵	20	*	*	*	*
1X10 ⁶	20	100	75	95	*
2X10 ⁶	20	100	75	100	*
4X10 ⁶	20	100	70	100	*
8X10 ⁶	20	100	100	100	*
1.6X10 ⁷	20	100	*	*	*
Testigo	20	5	5	0	0

El tiempo de mortalidad en larvas de segundo estadio fue de dos a seis días, en lo general la mayor mortalidad se observó al tercer día para los aislados SfNPV-NAY₁, SfNPV-NAY₂ y SfNPV-AN₃ en sus diferentes concentraciones que fueron de 1x10⁶ a 8x10⁶ CO's, registrándose mortalidades desde 25 a 80%, éste último porcentaje, registrado para el aislado SfNPV-NAY₁ a una concentración de 1.6x10⁷ CO's a los dos días post-inoculación. Al respecto Escribano *et al.* (1999) reportan la mayor mortalidad en larvas de segundo estadio a los 4.2 y 4.3 días para los aislados

Sf-NIC y Sf-AR respectivamente, siendo estos resultados muy similares a los aislados empleados en este experimento. El mismo autor señala que el tiempo principal para morir en cada estadio dependerá del estadio larval, estado nutricional y virulencia del aislado. Sin embargo para el aislado SfNPV-NAV₁₁ la mayor mortalidad se observó a los cuatro días post-inoculación (Cuadro 6).

Cuadro 6. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de segundo estadio, tratados con aislados nativos de NPV de *Spodoptera frugiperda*.

Concentración.	No. inicial de larvas	Tiempo de mortalidad (días)			
		SfNPV-NAY ₁ Día (%)	SfNPV-NAY ₂ Día (%)	SfNPV-AN ₃ Día (%)	SfNPV-NAV ₁₁ Día (%)
2X10 ³	20	*	*	*	5(15)
4X10 ³	20	*	*	*	6(20)
8X10 ³	20	*	*	*	*
2X10 ⁴	20	*	*	*	4(35)
4X10 ⁴	20	*	*	*	4(25)
8X10 ⁴	20	*	*	*	4(50)
2X10 ⁵	20	*	*	*	*
4X10 ⁵	20	*	*	*	*
8X10 ⁵	20	*	*	*	*
1X10 ⁶	20	3(35)	3(30)	3(45)	*
2X10 ⁶	20	3(35)	3(25)	3(45)	*
4X10 ⁶	20	3(55)	5(30)	5(30)	*
8X10 ⁶	20	3(65)	3(50)	3(60)	*
1.6X10 ⁷	20	2(80)	*	*	*
Testigo	20	5	5	0	0

De las pruebas realizadas en larvas de tercer estadio, las mortalidades oscilaron de 65 al 100% con concentraciones de 1x10⁶ a 1.6x10⁷ CO's, para los cinco aislados evaluados (Cuadro 7). El 100% de mortalidad se observó en concentraciones de 8x10⁶ CO's con los aislados SfNPV-NAY₂ y SfNPV-AN₃, y para lograr el mismo porcentaje en los aislados SfNPV-NAV₁₁ y SfNPV-AG₂ se requirió una concentración mayor que fue de 1.6x10⁷, mientras que para el aislado SfNPV-NAY₁ la mortalidad osciló de 80 a 95%. Al respecto Martínez *et al.* (2003) y Vásquez *et al.* (2002), reportan mortalidades de 63 al 100% de larvas de tercer estadio al ser tratadas con NPV, mortalidades similares fueron obtenidos en nuestro estudio.

Cuadro 7. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de tercer estadio de *Spodoptera frugiperda*, durante 15 días de post-inoculación.

Concentración.	No. inicial de larvas	% de Mortalidad				
		SfNPV-NAY ₁	SfNPV-NAY ₂	SfNPV-AN ₃	SfNPV-NAV ₁₁	SfNPV-AG ₂
1X10 ⁶	20	80	80	95	85	75
2X10 ⁶	20	90	75	85	65	90
4X10 ⁶	20	85	90	90	95	80
8X10 ⁶	20	90	100	100	95	95
1.6X10 ⁷	20	95	100	100	100	100
Testigo	20	5	0	0	0	5

En larvas de tercer estadio se observó mortalidad a partir del tercer día post-inoculación hasta el día 15, resaltando el aislado SfNPV-AN₃, donde se registró la mayor mortalidad en los días tres y cuatro (Cuadro 8). Los aislados SfNPV-NAY₂, SfNPV-NAV₁₁ y SfNPV-AG₂ mostraron la mayor mortalidad los días cuatro, cinco y seis. Al respecto (Martínez *et al.*, 2003) reportan que la mayor mortalidad de larvas de tercer estadio de *S. frugiperda* ocurrió a los cinco días post-inoculación, datos similares fueron encontrados en nuestros bioensayos. Para el aislado de SfNPV-NAY₁ se registraron las mayores mortalidades a partir del día 11 hasta el día 15, cabe señalar que estas larvas mostraron mortalidades a partir de los días seis y siete de post-inoculación, sin embargo la mayoría de las larvas mostraron síntomas a partir del día diez, tales como pérdida de movimiento, coloración, disminución de la taza alimenticia; además, las larvas infectadas con este aislado no provocaron la lisis total del insecto. Al ser analizadas muestras de hemolinfa bajo el microscopio de contraste de fases a 400x se observó la presencia de CO's de NPV. Sciocco (2001) señala que la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad provocada por la infección del virus y el tiempo letal depende de una serie de factores tales como virulencia del aislado, dosis ingerida, edad larval, temperatura y estado nutricional.

Cuadro 8. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de tercer estadio, tratados con aislados nativos de NPV de *Spodoptera frugiperda*.

Concentración.	No. inicial de larvas	Tiempo de mortalidad (días)				
		SfNPV-NAY ₁ Día (%)	SfNPV-NAY ₂ Día (%)	SfNPV-AN ₃ Día (%)	SfNPV-NAV ₁₁ Día (%)	SfNPV-AG ₂ Día (%)
1X10 ⁶	20	14(25)	5(20)	3(55)	5(20)	4(25)
2X10 ⁶	20	14(30)	5(25)	4(35)	6(25)	4(45)
4X10 ⁶	20	13(20)	4(35)	4(50)	4(40)	4(40)
8X10 ⁶	20	11(25)	4(45)	4(40)	4(45)	4(40)
1.6X10 ⁷	20	15(60)	4(20)	3(40)	4(30)	4(40)
Testigo	20	5	0	0	0	5

Bioensayos para Determinar las CL₅₀'s y Tiempo de Mortalidad

Debido a que los resultados preliminares de mortalidad fueron muy altos (>60%), fue necesario realizar bioensayos adicionales con concentraciones más bajas que fueron de 2x10² a 4x10³ CO's/ml para propósitos de determinar las CL₅₀'s y tiempo de mortalidad de los cinco aislados, sin embargo para los aislados SfNPV-AN₃, SfNPV-NAY₁ y SfNPV-NAY₂ para larvas de primero y segundo estadio (Cuadros 9 y 11), no se pudo determinar dichos valores, debido a que con las concentraciones antes mencionadas se registraron mortalidades por arriba del 50%, lo cual nos indica que estos aislados son muy patogénicos y que se requiere menor concentración de CO's/ml para lograr matar el 50% de las poblaciones de larvas de *S. frugiperda*. Caso similar ocurrió con el aislado SfNPV-AN₃ en larvas de tercer estadio (Cuadro 13).

Para el caso particular de larvas de primer estadio en los tres aislados antes mencionados, se registró una mortalidad que fue de 50 al 100% en el aislado SfNPV-NAY₂, este último porcentaje registrado a una concentración de 2x10³ CO's, para los aislados SfNPV-AN₃ y SfNPV-NAY₁, las mortalidades registradas fueron por arriba del 80%, logrando un 100% de mortalidad para el aislado SfNPV-AN₃ a una concentración de 4x10² y 8x10² CO's para el aislado SfNPV-NAY₁ (Cuadro 9).

Cuadro 9. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de primer estadio de *Spodoptera frugiperda*, durante 10 días de post-inoculación.

Concentración.	No. inicial de larvas	% de Mortalidad		
		SfNPV-AN ₃	SfNPV-NAY ₁	SfNPV-NAY ₂
2X10 ²	20	80	90	50
4X10 ²	20	100	90	80
8X10 ²	20	90	100	90
2X10 ³	20	100	100	100
4X10 ³	20	100	100	100
Testigo	20	5	10	5

El día de mayor mortalidad de larvas de primer estadio se registró a partir del día uno hasta el día seis (20 a 60%). Este último dato fue registrado para el aislado SfNPV-AN₃ a una concentración de 4x10³ CO's, al día tres (cuadro 10), mientras que para los aislados SfNPV-NAY₁ y SfNPV-NAY₂ las mayores mortalidades se registraron los días seis (40%) y cinco (30%) respectivamente.

Cuadro 10. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de primer estadio, tratados con aislados nativos de NPV de *Spodoptera frugiperda*.

Concentración.	No. inicial de larvas	Tiempo de mortalidad (días)		
		SfNPV-AN ₃ Día (%)	SfNPV-NAY ₁ Día (%)	SfNPV-NAY ₂ Día (%)
2X10 ²	20	4(30)	6(40)	1(10)
4X10 ²	20	4(30)	3(20)	1(20)
8X10 ²	20	3(20)	3(10)	5(10)
2X10 ³	20	1(20)	6(30)	5(30)
4X10 ³	20	3(60)	6(30)	6(30)
Testigo	20	5	10	5

Para el caso de larvas de segundo estadio tratados con aislados nativos de NPV se registraron mortalidades de 80 al 100% con concentraciones de 2x10² a 4x10³ CO's de los tres aislados (Cuadro 11). Donde el aislado SfNPV-NAY₁ registró una mortalidad del 100% a una concentración de 2x10² CO's, lo cual nos indica que este aislado nativo es altamente patogénico al provocar la mortalidad de las larvas con concentraciones menores a las evaluadas en este experimento.

Cuadro 11. Patogenicidad de aislados nativos de NPV contra larvas de segundo estadio de *Spodoptera frugiperda* durante 10 días de post-inoculación.

Concentración.	No. inicial de larvas	% de Mortalidad		
		SfNPV-AN ₃	SfNPV-NAY ₁	SfNPV-NAY ₂
2X10 ²	20	90	100	90
4X10 ²	20	90	100	80
8X10 ²	20	80	100	90
2X10 ³	20	90	100	100
4X10 ³	20	100	90	90
Testigo	20	0	0	0

Las larvas de segundo estadio registraron mortalidades a partir del día dos al día seis para los aislados SfNPV-AN₃ y SfNPV-NAY₂ con mortalidades del 20 al 80%, para este primer aislado se registró la mayor mortalidad el día cinco, en todas las concentraciones evaluadas, datos similares fueron observados para el aislado SfNPV-NAY₂ (Cuadro 12). Gómez *et al.* (1999) registró las primeras mortalidades a partir de los ocho a los diez días post-inoculación en larvas de segundo estadio de *S. frugiperda*, al trabajar con siete aislados geográficos de NPV de *S. frugiperda* de Argentina, Guatemala y Estados Unidos. En este sentido (Starnes *et al.*, 1993; Hayakawa *et al.*, 1999; Moscardi, 1999), mencionan que puede ser de tres a cuatro semanas dependiendo de las interacciones entre el virus, el insecto y la fuente de alimento. Sin embargo para el aislado SfNPV-NAY₁, la mayor mortalidad se registró a partir del día 10 hasta el día 14 con un porcentaje muy bajo (20%).

Cuadro 12. Tiempo de mortalidad (días) de larvas de segundo estadio, tratados con aislados nativos de NPV de *Spodoptera frugiperda*.

Concentración.	No. inicial de larvas	Tiempo de mortalidad (días)		
		SfNPV-AN ₃	SfNPV-NAY ₁	SfNPV-NAY ₂
		Día (%)	Día (%)	Día (%)
2X10 ²	20	5(50)	1(20)	2(20)
4X10 ²	20	5(40)	11(20)	6(30)
8X10 ²	20	5(60)	10(20)	5(50)
2X10 ³	20	5(60)	14(20)	5(80)
4X10 ³	20	5(60)	14(20)	5(50)
Testigo	20	0	0	0

Con la concentración más baja (2×10^2) del aislado SfNPV-AN₃ se obtuvo una mortalidad del 100% en larvas de tercer estadio a los 10 días de post-inoculación (Cuadro 13), por lo que es necesario realizar bioensayos con concentraciones menores a las evaluadas en este trabajo, para así determinar la CL₅₀ y el tiempo de mortalidad. Estos resultados nos muestran que este aislado de NPV es el más patogénico para larvas de *S. frugiperda*.

Cuadro 13. Patogenicidad de aislados nativos de NPV en larvas de tercer estadio de *Spodoptera frugiperda* durante 10 días de post-inoculación.

Concentración.	No. inicial de larvas	% de Mortalidad
		SfNPV-AN ₃
2×10^2	20	100
4×10^2	20	80
8×10^2	20	90
2×10^3	20	100
4×10^3	20	100
Testigo	20	5

Las larvas de tercer estadio de *S. frugiperda* tratadas con el aislado SfNPV-AN₃ murieron el día cinco de post-inoculación con porcentajes de 40 a 80%. Éstos resultados indican que este aislado tiene la capacidad de causar la infección y provocar la muerte de las larvas en el menor tiempo (Cuadro 14).

Cuadro 14. Tiempo de mortalidad (días) de aislados nativos de NPV en larvas de tercer estadio de *Spodoptera frugiperda* 10 días de post-inoculación.

Concentración.	No. inicial de larvas	Tiempo de mortalidad (días)
		SfNPV-AN ₃ Día (%)
2×10^2	20	5(60)
4×10^2	20	5(40)
8×10^2	20	5(40)
2×10^3	20	5(80)
4×10^3	20	5(80)
Testigo	20	5

Es importante mencionar que SfNPV-AN₃ fue procesado y purificado de suelo proveniente del campo experimental “El Bajío de la UAAAN”, y la colonia de *Spodoptera frugiperda* que se estableció en la cámara bioclimática, fue recolectada en parcelas de maíz del mismo campo experimental. Así, que es posible que exista cierta interacción de patógeno-hospedero, si estos son geográficamente nativos y que a través del tiempo ha ocurrido de forma natural.

Debido a que con las concentraciones antes mencionadas se registraron mortalidades altas, no a todos los estadios de los aislados, se logro determinar las CL₅₀'s. A continuación se discuten los datos que fueron obtenidos del programa estadístico SAS Proc Probit.

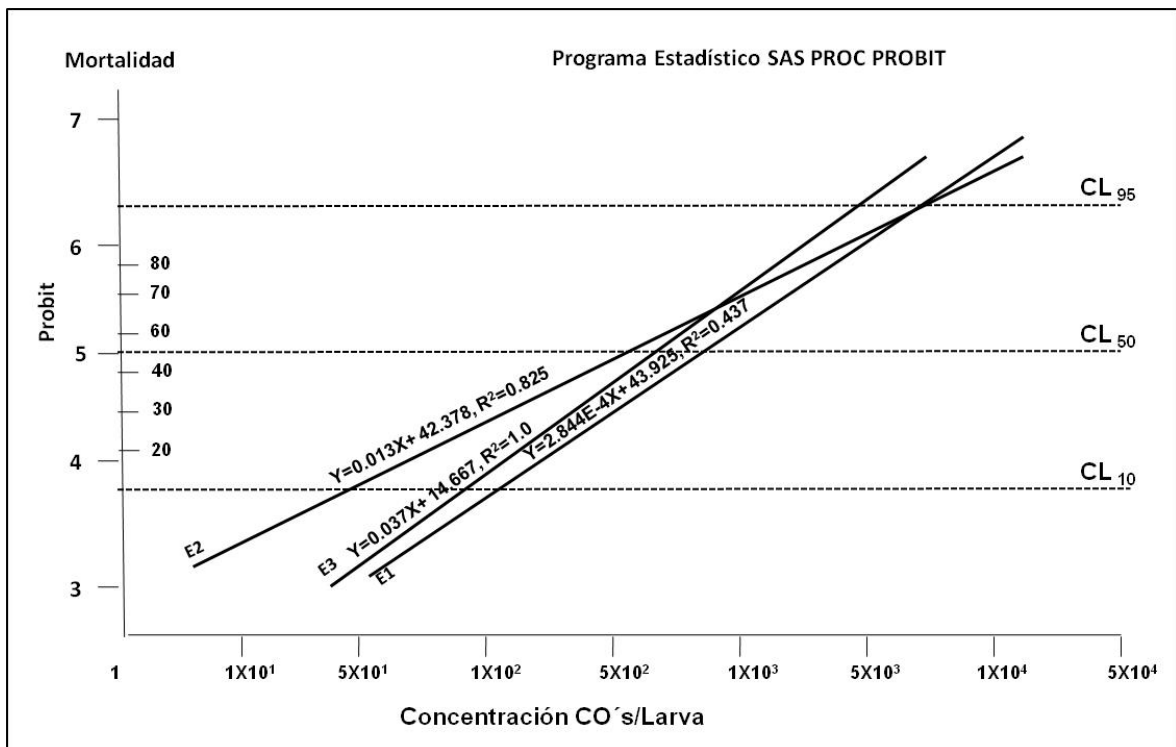


Figura 3. Concentración Letal Media (CL₅₀) de larvas de primero, segundo y tercer estadio E1, E2 y E3 de *Spodoptera frugiperda* al aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAV₁₁.

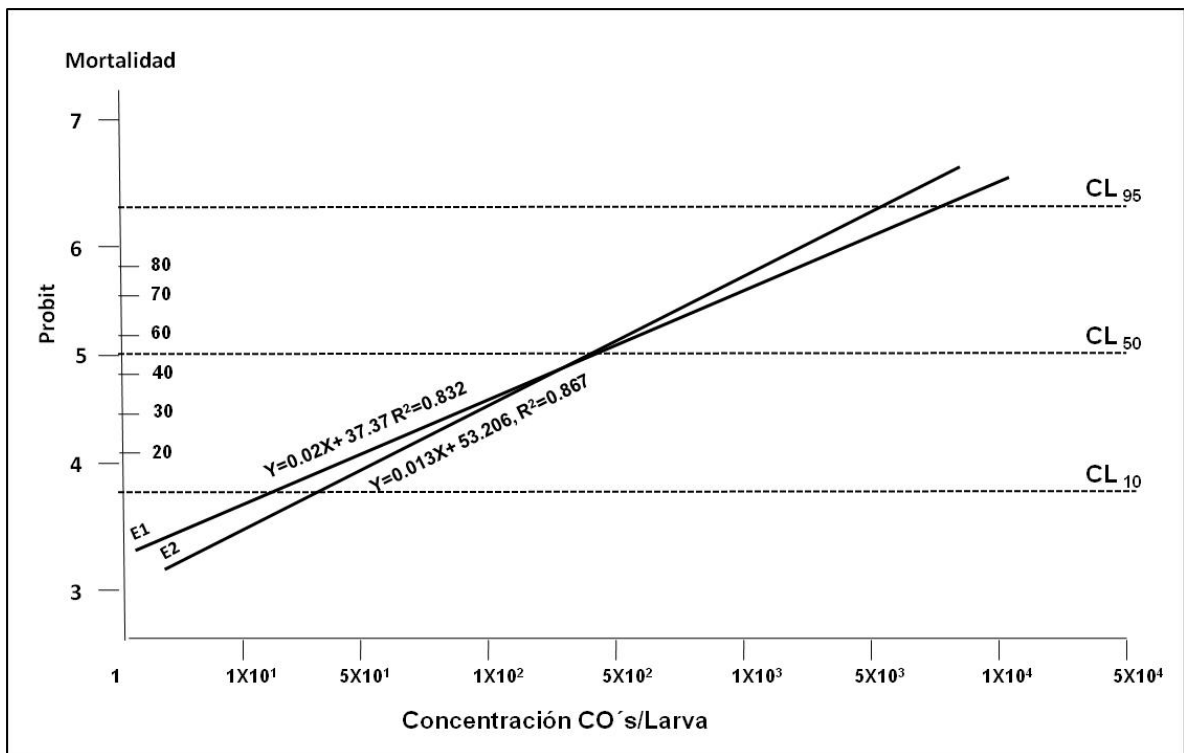


Figura 4. Concentración Letal Medía (CL₅₀) de larvas de primero y segundo estadio E1 y E2 de *Spodoptera frugiperda* al aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-AG₂

Las larvas de primer estadio son las más susceptibles al NPV al registrar CL₅₀'s de 2.5×10^2 y 8.2×10^2 CO's/ml (Figs. 3 y 4), para los aislados SfNPV-AG₂ y SfNPV-NAV₁₁ con CL₉₅ de 1.1×10^4 y 8.9×10^3 CO's/ml respectivamente (cuadro 15). Datos similares han sido reportados por Cisneros *et al.* (2002) para larvas de segundo estadio. Cabe mencionar que en estudios anteriores no hay reportes de CL₅₀'s para larvas de primer estadio. Datos sobre patogenicidad de aislados de NPV sobre larvas de *S. frugiperda* han sido evaluados por William y Payne (1984), Caballero *et al.* (1992). Al respecto Sciocco, (2001), resalta que la mortalidad de larvas de *S. frugiperda* va a depender de la patogenicidad y virulencia de los aislados, dosis ingerida, la susceptibilidad del hospedero, estado nutricional, velocidad de desarrollo, edad, tamaño de la larva, temperatura, etc.

Cuadro 15. CL₅₀ y CL₉₅ y limites fiduciales de aislados nativos de NPV sobre larvas de primer estadio de *Spodoptera frugiperda*.

Aislado	Limite	CL ₅₀	Limite	Limite	CL ₉₅	Limite
	Inferior	CO/ml.	Superior	Inferior	CO/ml.	Superior
SfNPV-NAV ₁₁	4.6X10 ²	8.2X10 ²	1.5X10 ³	3.7X10 ³	8.9X10 ³	7.7X10 ⁴
SfNPV-AG ₂	4.735156	2.5X10 ²	5.6X10 ²	2.4X10 ³	1.1X10 ⁴	1.8X10 ¹¹

SfNPV-NAV₁₁: Aislado de Nucleopoliedrovirus de parcelas de maíz infestadas con *Spodoptera frugiperda* de Navidad, Nuevo León y SfNPV-AG₂: Aislado de Aguascalientes.

En el cuadro 16 se muestra la CL₅₀ y CL₉₅ de los aislados SfNPV-NAV₁₁ y SfNPV-AG₂ en larvas de segundo estadio de *S. frugiperda* que fueron de 5.4x10² y 2.4X10³ CO's/ml respectivamente (Figs. 3 y 4). Gómez *et al.* (1999), al trabajar con 7 aislados geográficos de Argentina, Guatemala y Estados Unidos, en larvas de segundo estadio de *S. frugiperda*, encontraron CL₅₀'s de 5x10³ a 2.5x10⁴ CO's/ml, con un TL₅₀ de 8.3 a 10 días, siendo estos resultados mayores a los encontrados en este trabajo. Datos más altos de CL₅₀'s fueron encontrados por Escribano *et al.* (1999) al reportar 2.04x10⁵ a 1.23x10⁷ CO's/ml con los aislado Sf-NIC y Sf-2 respectivamente.

Cuadro 16. CL₅₀ y CL₉₅ y limites fiduciales de aislados nativos de NPV sobre larvas de segundo estadio de *Spodoptera frugiperda*.

Aislado	Limite	CL ₅₀	Limite	Limite	CL ₉₅	Limite
	Inferior	CO/ml.	Superior	Inferior	CO/ml.	Superior
SfNPV-NAV ₁₁	75.05355	5.4X10 ²	1.1X10 ³	3.9X10 ³	1.3X10 ⁴	3X10 ⁷
SfNPV-AG ₂	69.41896	2.4X10 ²	4.2X10 ²	1.6X10 ³	3.1X10 ³	1.8X10 ⁴
SfNPV-NAY ₂	5.09987	3.4X10 ²	4.6X10 ²	6.8X10 ²	1X10 ³	9.5X10 ⁵

SfNPV-NAV₁₁: Aislado de Nucleopoliedrovirus de Navidad, Nuevo León; SfNPV-AG₂: Aislado de Aguascalientes; SfNPV-NAY₂: Aislado de Nayarit;

Para larvas de tercer estadio la CL₅₀ y CL₉₅ fueron de 5.1X10² CO's/ml, para el aislado SfNPV-NAV₁₁ y 3.3X10² CO's/ml (Figs. 3 y 6) para los dos aislados de Nayarit SfNPV-NAY₁ y SfNPV-NAY₂ (Cuadro 17). Al respecto Vásquez *et al.* (2002), reportan una DL₅₀ de 4.9x10⁴ CO's/larva, para larvas de tercer estadio de *S. frugiperda* y un TL₅₀ de 6.2 a 7.6 días post-infección, siendo estos datos mayores a los encontrados en este estudio con dichos aislados de NPV. Los resultados obtenidos de la CL₅₀ son menores a los encontrados por Klein y Podoler (1978) y

Martínez *et al.* (2003), quienes indican CL_{50} 's de 2.6×10^4 y 3.4×10^4 CO's/larva para larvas de tercer estadio de *S. frugiperda* y un TL_{50} de 3.9 días post-inoculación.

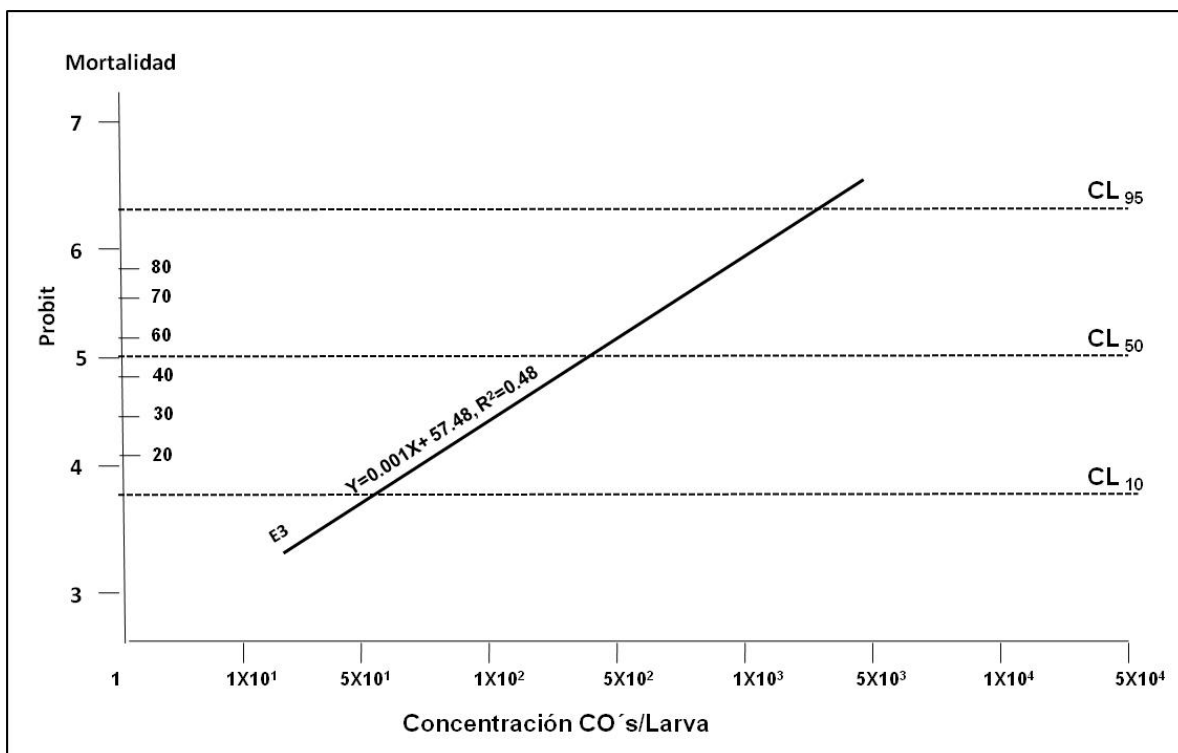


Figura 5. Concentración Letal Medía (CL_{50}) de larvas de tercer estadio E3 de *Spodoptera frugiperda* al aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAY₂

Cabe mencionar que se emplearon las mismas concentraciones para los tres estadios larvales encontrándose diferencia únicamente en cuanto al tiempo de mortalidad, registrándose que para larvas de primer estadio se observó mortalidades al primer día post-inoculación.

Cuadro 17. CL₅₀ y CL₉₅ y limites fiduciales de aislados nativos de NPV sobre larvas de tercer estadio de *Spodoptera frugiperda*.

Aislado	Limite Inferior	CL ₅₀ CO/ml.	Limite Superior	Limite Inferior	CL ₉₅ CO/ml.	Limite Superior
SfNPV-NAV ₁₁	2.6X10 ²	5.1X10 ²	8.5X10 ²	2.2X10 ³	5.2X10 ³	6.7X10 ⁴
SfNPV-NAY ₁	7.78968	3.2X10 ²	6.6X10 ²	2.6X10 ³	7.6X10 ³	2X10 ⁷
SfNPV-NAY ₂	1.3X10 ²	3.3X10 ²	5.5X10 ²	1.6X10 ³	3.4X10 ³	3.6X10 ⁴

SfNPV-NAV₁₁: Aislado de Nucleopoliedrovirus de Navidad, Nuevo León; SfNPV-NAY₁ y SfNPV-NAY₂: Aislados de Nayarit.

En referente a SfNPV-NAY₁ fue procesado y purificado de suelo de parcelas de maíz del estado de Nayarit. La sintomatología presentada en las larvas infectadas con este aislado, fue diferentes a los otros aislados de NPV, el tiempo que tardo en morir las larvas fue de hasta 18 a 19 días post-inoculación, datos similares reporta (Escribano *et al.*, 1999). Además de la forma y tiempo al rompimiento de cutícula y licuefacción de los órganos internos del cuerpo de la larva.

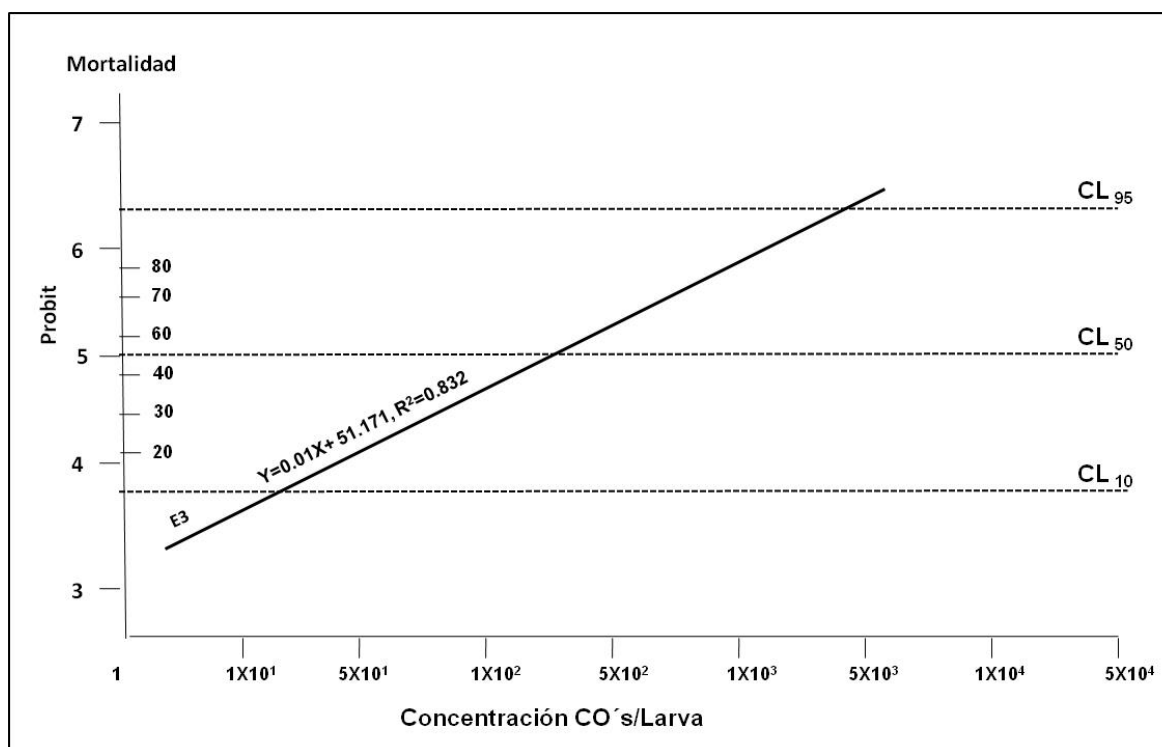


Figura 6. Concentración Letal Medía (CL₅₀) de larvas de tercer estadio E3 de *Spodoptera frugiperda* al aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAY₁.

CONCLUSIONES

Los cinco aislamientos de Nucleopoliedrovirus de SfNPV evaluados contra larvas de los tres primeros estadios de *S. frugiperda* en este trabajo poseen diferencias en su actividad patogénica, además fueron diferentes en el tiempo que tardaron en matar a las larvas en los bioensayos. En el caso particular de SfNPV-AN₃, mostró ser altamente patogénico a concentraciones de 2×10^2 CO's/ml para larvas de tercer estadio, registrando mortalidades de 100% a los 10 días post-inoculación, lo cual dificultó cuantificar su Concentración Letal Media (CL₅₀)

El aislado SfNPV-NAY₁, es también infectivo y virulento para larvas de primer y segundo estadio a concentraciones de 2×10^2 a 4×10^3 CO's/ml; sin embargo, para matar el tercer estadio larvario su tiempo de mortandad es mayor. Este aislamiento SfNPV-NAY₁ se caracterizó por no provocar la lisis del tegumento del insecto a diferencia de los demás aislados.

En larvas de primer y segundo estadio solo fue posible determinar la CL₅₀ para tres aislamientos de SfNPV (SfNPV-NAV₁₁, SfNPV-NAY₂ y SfNPV-AG₂), de estos el aislado SfNPV-AG₂ fue el que manifestó la menor CL₅₀ (2.5×10^2 y 2.4×10^2 CO's/ml) para *Spodoptera frugiperda*.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*.18: 265-267.
- Allen, M. F. y Ball. 1992. Virus detection in *Aphis* (Homoptera: Aphididae) kept in a storage solution for suction trap catches. *J. Invertebrt. Pathol.* 53:201-202.
- Andrews, K. L. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: estado actual y futuro. Dpto. de protección vegetal, Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano, Honduras. 663p.
- Armenta, R., Martínez, A.M., Chapman, J.W., Magallanes, R., Goulson, D. Caballero, P., Cave, R.D., Cisneros, J., Valle, J., Castillejos, V., Penagos D.I., García, L.F., y Williams, T. 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.
- Ashley, T. R. 1986. Geographical distribution and parasitization levels for parasitoids of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Florida, *Entomologist*. 69: 516-524.
- Bautista, M. N. 2006. Insectos plaga.Una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados. 1^{era} ed. Texcoco, Estado de México, México. Pp.3.
- Benz, G. A. 1986. Introduction: Historical perspectives. En: Granados R.R. y B.A. Federici (ed.), *The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology*. Academic Press. San Diego, USA. Vol I, pp. 1-36.
- Blissard, G. W., B. Black, N. E. Crook, R. Keddie, R. D. Possee, G. F. Rohrmann, D.A Thielmann y L.E. Volkman. 2000. Family Baculoviridae. Pp. 195-202. En M.H.V. van Regenmortel, C. M. Fauquet, D.H.L Bishop, E.B. Carstens, M. K Estes, SM Lemon, J Maniloff, M A Mayo, D J McGeoch, C. R. Pringle y R.B Wickner (ed.), *Virus taxonomy: seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, New York.

- Blissard, G.W. 1996. Baculovirus-cell interactions. *Cytotechnol.* Pp. 20:73-93.
- Boots, M. 1998. Cannibalism and the stage-dependent transmission of a viral pathogen of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Ecological Entomology.* 23: 118-122.
- Borror, D.J., D.M. de Long and C.A Triplehorn. 1989. An introduction to the study of insects. 6th. ed. Holt Rinehart and Winston. New York. USDA. Pp. 345-378.
- Caballero, P. 2001. Estructura y clasificación de los baculovirus. En: Caballero, P; Williams, T. y López, M.; Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Phytoma Navarra, España. Pp. 10-48.
- Caballero, P., E. Vargas Osuna y C. Santiago-Alvarez. 1991. Parasitization of granulosis virus infected and noninfected *Agrotis segetum* larvae and virus transmission by three hymenopteran parasitoids. *Entomol. Exp. Appl.* 58:55-60.
- Caballero, P., D. Zuidema, C. Santiago-Álvarez y J.M. Vlack. 1992. Biochemical and biological characterization of four isolates of *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus. *Biocontrol Science. technology.* 2: 145-157.
- Capinera, J. L. 1999. Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). EENY-098, University of Florida IFAS Extension, Pp. 6.
- CESAVEG, 2008. Campaña "Manejo Fitosanitario del Maíz". [En línea]. Citado en Noviembre 2009. http://www.cesaveg.org.mx/html/folletos/folletos_08/folleto_maiz_08.pdf
- Chapman J.W., Williams T., Escribano A., Caballero P., Cave R.D. y Goulson D. 1999. Age-related cannibalism and horizontal transmission of a nuclear polyhedrosis virus in larval *Spodoptera frugiperda*. *Ecological Entomology.* 24: 268-275.
- Christopher, R. D., R. Paliwal. L., y R. Cantrell. P. 1996. Maize in the Third World. Editorial Westview Press a Division of Harper Collins Publisher. Colorado. U.S.A. Pp. 17-18.

- Cisneros, J., J.A. Pérez, D.I. Penagos, V.J. Ruiz, D. Goulson, P. Caballero, R.D. Cave y T. Williams. 2002. Formulation of a Nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Maize. *Biological Control*. 23: 87-95.
- Crozier, G., Crozier, L., Quiot, J.M. and Lereclus, D., 1988. Recombination of *Autographa californica* and *Rachiplusia* ou nuclear polyhedrosis viruses in *Galleria mellonella* L. *J. Gen. Virol.* 69:177-185.
- David, W. A. L. 1975. The status of viruses pathogenic for insects and mites. *Annu. Rev. Entomol.* 20: 97–117.
- Dhandapani, N., Jayaraj, S. y Rabindra, R.J. 1993. Cannibalism on nuclear polyhedrosis-virus infected larvae by *Heliothis armigera* (Hubn) and its effect on viral-infection. *Insect Science and its Applications*. 14: 427-430.
- Díaz, P. A. 1954. El maíz cultivo-fertilización cosecha. 1^{era} ed. Editorial Bartolomé Trucco. México D. F. Pp. 19-26.
- Escribano, A., T. Williams, D. Goulson, R. D. Cave, J. W. Chapman y Caballero, P. 1999. Selection of a Nucleopolyhedrovirus for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): structural, genetic, and biological comparison of four isolates from the Americas. *Biological and Microbial control*. 92: 1079-1085.
- Evans, H. F. 1986. Ecology and epizootiology of baculovirus, pp. 89-132. En: R. R. Granados y B. A. Federici (ed.), *the biology of baculoviruses vol. II*. CRC press. Inc., Boca Raton.
- Federici, B. A. 1997. Baculovirus pathogenesis. En: *The Baculoviruses*, pp. 33-60. Edited by L. K. Miller. New York: Plenum Press.
- Federici., B. A. 1986. Ultrastructure of baculoviruses, En: Granados R.R. y B.A. Federici (ed.), *The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology*, Academic Press. San Diego, USA. Vol I. Pp. 61-88.
- Frederick, W. S. 2005. Orden Lepidoptera. En: *Inmature Insects. Volumen 1*, Frederick W. S. (ed.) USA: Kendall/Hunt. Pp. 288: 596.
- Fuxa, J. R. 1987. *Spodoptera frugiperda* susceptibility to nuclear polyhedrosis virus with reference to insect migration. *Environ. Entomol.* 16: 218-223.

- Fuxa, J. R. 1995. Ecological factors critical to the exploitation of entomopathogens in pest control. En: F. R. Hall y J. W. Barry (ed.), Biorational pest control agents: formulation and delivery. Amer. Chem. Soc. Symp. Series 595, Washington. Pp. 42-67.
- Gallegos, M. G., Cepeda, S. M. y Olayo P. R. P. 2003. Entomopatógenos. Edit. Trillas. Pp. 148.
- Gardner, W. A., y J. R. Fuxa. 1980. Pathogens for the suppression of the fall armyworm. Florida Entomologist. 63: 439-447.
- Gómez, S. A., F. Moscardi y D. R. Sosa-Gómez. 1999. Susceptibilidade de *Spodoptera frugiperda* a isolados geográficos de um vírus de poliedrose nuclear. Pesq. Agropec. Bras., Brasília. 34: 1539-1544.
- Granados, R. R. y B. A. Federici. 1986. The biology of Baculoviruses Vol. I, II CRC Press, Inc Boca Raton, Florida. Pp. 275.
- Granados, R. R., y 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. y B. A. Federici (ed). The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology. Academic Press. San Diego, USA. Vol I, Pp. 89-108.
- Gröner, A. 1986. Specificity and safety of baculoviruses. En: The biology of baculoviruses: Biological properties and molecular biology, pp. 177-202. Editado por R. R. Granados y B. A. Federici. San Diego: Academic Press.
- Harrap, K. A. y C. C. Payne. 1979. The structural properties and identification of insect viruses. ADV. Virus Research. 25:273-355.
- Harrison, R. L. y B. C. Bonning. 2000. Use of Scorpion neurotoxins to improve the insecticidal activity of *Rachiplusia* ou Multicapsid Nucleopolyhedrovirus. Biological Control. 17:191-201.
- Hayakawa, T., R. Ko, K. Okano, S. Seong, C. Goto, y S. Maeda. 1999. Sequence analysis of the *Xestia c-nigrum* granulovirus genome. Virology. 262:277-297.
- Herniou, E. A., Olszewski, J. A., Cory, J. S. y O'Reilly, D. R. 2003. The genome sequence and evolution of baculoviruses. Annu. Rev. Entomol. 48:211-234.

- Hughes, P. R., y H. A. Wood. 1981. Asynchronous peroral technique for the bioassay of insect viruses. *J. Invert. Pathol.* 37: 154-159.
- Hruska, A. J., y C. Gladstone. 1987. El costo del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* en el maíz. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias. Managua, Nicaragua.
- Ibarra J. E. y Del Rincón C. Ma. C. A. 2001. Capacidad insecticida de los baculovirus. En: Caballero, P; Williams, T. y López, M. (Eds.), Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Pp. 203-256.
- Iriarte, J. Bel, y Ferrandis, M.D. Andrew, R. Murillo, J. Ferre y P. Caballero. 1998. Environmental distribution and diversity of *Bacillus thuringiensis* in Spain. *Syst. Appl. Microbiol.* 21: 97-106.
- Jaques, R. P. 1985. Stability of insect viruses in the environment. En: Maramorosch K. Y K. E. Sherman (ed.). *Viral insecticides for biological control*. Academic Press. New York, USA. Pp. 285-360.
- Kathleen, A. T., L. A. Bulla y R. A. Consigli. 1981. Applied and molecular aspects of insect granulosis viruses. *Microbiol. Rev.* 45: 379-408.
- Kikhno, I., S. Gutierrez, L. Croizier, G. Croizier y M. L. Ferber. 2002. Characterization of *pif*, a gene required for the per os infectivity of *Spodoptera littoralis* nucleopolyhedrosis virus. *J. Gen. Virol.*, 83: 3013-3022.
- Kilgore, W. W., R. Douthett, L. 1967. *Pest control biological, physical, and selected chemical methods* ed. Academic Press. New York San Francisco London U.S.A. Pp. 297.
- Klein, M. y H. Podoler. 1978. Studies on the application of a nuclear polyhedrosis virus to control populations of the Egyptian cottonworm, *Spodoptera littoralis*. *J. Invertbr. Pathol.* 32: 244-248.
- Kukan, B. 1999. Vertical transmission of nucleopolyhedrovirus in insects. *J. Invertebr. Pathol.* 74:103-111.
- Kumul, D., E. 1983. Búsqueda de plantas silvestres del edo. de Veracruz con propiedades tóxicas contra gusano cogollero en maíz *Spodoptera frugiperda*

- (J. E. Smith) y mosquito casero *Culex quinquefasciatus* Say. Tesis profesional, Parasitología Agrícola, UACH. Chapingo, México. 76p.
- Kuzio, J., M. N. Pearson, S. H. Arwood, C. J. Funk, J. T. Evans, J. M. Slavicek y G. F. Rohrmann. 1999. Sequence and analysis of the genome of a baculovirus pathogenic for *Lymantria dispar*. *Virology* 253:17-34.
- Lesur, I. 2005. Manual del cultivo del maíz: una guía paso a paso. 1^{era} ed. Editorial Trillas. México D.F. Pp 17-19.
- Lezama, G. R. 1993. Patogenicidad de hongos (HYPHOMYCETES) y del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar sobre *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de doctorado en ciencias. Universidad de Colima. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. Colima México. Pp. 82.
- Lynn, D. E., 2002. Effects of temperature on the susceptibility of insect cells to infection by baculoviruses. *Methods Cell Sci.* 23: 221–225.
- Maramorosch, K. 1968. Insect viruses. *Curr. Top. Microbiol. Inmunol.* 42:1-192. En: Maramorosch, K. y K. E. Sherman (eds.) *Viral Insecticides for Biological Control*. Orlando, Florida: Academic Press. p. 81-120.
- Martinez, A. M., O. Simon, T. Williams y P. Caballero. 2003. Effect of optical brighteners on the insecticidal activity of a nucleopolyhedrovirus in three instars of *Spodoptera frugiperda*. *Entomol. Exp. Appl.* 109: 139-146.
- Martínez, M. R. y López. J. 2009. Hymenópteros parasitoides y depredadores en cultivos de maíz-frijol en valles centrales de Oaxaca, México. *Memorias. Sociedad Mexicana de Entomología.* 437 p.
- Mazzone, H. M. 1985. Pathology associated with baculovirus infection. En: Maramorosch, K. y K. E. Sherman (eds.) *Viral Insecticides for Biological Control*. Orlando, Florida: Academic Press. p. 81-120.
- McGregor, R. y O. Gutiérrez. 1983. Guía de insectos nocivos para la agricultura en México. Ed. Alhambra, México, D.F. Pp 166.
- Metcalf, C. L. y W. P. Flint. 1965. *Insectos destructivos e insectos útiles sus costumbres y su control.* 1^{era} Ed. Editorial McGraw-Hill Book Company, Inc. México D.F. Pp. 530.

- Miller, L.K. 1996. Insect viruses. En: Fields B. N., D. M. Knipe, P. M. Howley. Fields virology, Third Edition. Lippincott-Ravens, Publishers. Philadelphia, USA. Pp.533-556.
- Molina-Ochoa, J.; J. Carpenter. E.; R. Lezama. G.; J. Foster. E.; M. Gonzales. R.; C. A. A. Sahagún. y J. Farías. L. 2004. Natural distribution of hymenopteran parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuide) larvae in Mexico. Florida entomologist. 87: 461-472.
- Monsma, S.A., A. G. P. Oomens y G. W. Blissard. 1996. The gp64 envelope fusion proteins is an essential baculovirus protein required for cell-to-cell transmission of infection. Journal of Virology. 70:4607-4616.
- Moscardi, F. 1983. Utilizacao de Baculovirus *Anticarsia* para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*. Pesquisador de EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisas de Soja. Londrina. 23:1-21.
- Moscardi, F. 1999. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. Annu. Rev. Entomol. 44: 257-289.
- Muñoz, D., Mabel M. A., Murillo, R., Ruiz de E. I. y Vilaplana L. 2001. Técnicas básicas para la caracterización de baculovirus. Pp. 478-518. En: Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas.
- Murillo, R., Muñoz D., Ruíz-Portero M. C., Alcázar M. D., Belda J. E., Williams T. y Caballero P. 2007. Abundance and genetic structure of Nucleopolyhedrovirus populations in greenhouse substrate reservoirs. Biological control. 42:216-225.
- Murray, K. D. y J. S. Elkinton. 1992. Vertical distribution of nuclear polyhedrosis virus infected gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) Larva and effects on sampling for estimation of disease prevalence. Journal of. Econ. Entomology. 85:1865-1872.
- Murua, M. G., E. Virla. G. 2004. Presencia Invernal de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el Área Maicera de la Provincia de Tucumán, Argentina. Revista de la Facultad de Agronomía. 105: 46-52

- Nagoshi. R. N., y Meagher R. L. 2008. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. *Florida entomologist*. 41: 546-554.
- Payne, C.C. 1982. Insect viruses as control agents. *Parasitol*. 84, 35-77.
- Potter , K. N., y L.K. Miller. 1980. Transfection of two invertebrate cell lines with DNA of *Autographa californica* nuclear polyhedrosi virus. *Journal. Invertr. Pathol*. 36:431-432.
- Ríos, V. C., G. Gallegos M., J. E. Gómez., P. O. J. Cambero., C. E. Cerna C. y M. Cepeda C. 2009. Reporte preliminar de enemigos naturales del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en Coahuila, México. *Memorias. Sociedad Mexicana de Control Biológico. XXXII Congreso Nacional de Control Biológico*. Pp.158-159.
- Ríos, V. C., G. Gallegos M., M. Cepeda C., S. R. Sánchez P. y E. Cerna C. 2008. Presencia natural de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samsom infectando al gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), en Buenavista Saltillo, Coahuila, México. *Sociedad Mexicana de Control Biológico, XXXI Congreso de Control Biológico, Zacatecas Méx*. Pp 392.
- Robertson, J. L. y Preisler, H. K. 1991. *Pesticide bioassays with Arthropods*. CRC Press Boca Raton, Florida, 127 pp.
- Rodríguez, Del B. L. A. y H. C. Arredondo, B. 2007. *Teoría y aplicación del control biológico*. 1^{era} ed. Editorial. Sociedad mexicana de control biológico, A. C. pp. 12, 62, 128, 146, 151.
- Rodríguez, M. R. y C. de León. 2008. *El cultivo del maíz. Temas selectos*. 1^{era}. Ed. Editorial Colegio de Postgraduados, Mundi-Prensa México, Pp. 29-45.
- Sánchez, P. S. R. 2000. Entomopathogens from two Chihuahua desert localities in México. *BioControl*. 63-78.
- SAS Institute. 2002. "SAS User's Guide. Version 9.0." SAS Institute, Cary, NC USA.
- Sciocco, A. 2001. Estructura y clasificación de los baculovirus. En: Caballero, P; Williams, T. y López, M.; *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Pp 48-71.

- Shapiro, D. I., J. R. Fuxa, H. D. Braymer, y D. B. Pashley. 1991. DNA restriction polymorphism in wild isolate of *Spodoptera frugiperda* nuclear polyhedrosis virus. *J. Invert. Pathol.* 58: 96-105.
- SIAP-SAGARPA, 2009. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. [En línea]. Citado en octubre 2009. http://reportes.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp.
- Starnes, R. L., C. L. Liu y P. G. Marrone. 1993. History, use, and future of microbial insecticides. *Am. Entomol.* 39: 83–91.
- Summers, M. D. 1977. Baculoviruses (Baculoviridae), P. 3-27. En: K. Maramorosch (ed.) *The atlas of insect and planta viruses*. Academic Press, Inc., New YORK.
- Tanada, Y. y H. Kaya, 1993. *Insect pathology: Baculoviridae*. p. 171-244. Academic Press. San Diego, California, 666p.
- Tanada, Y. y R. T. Hess. 1984. The cytopathology of baculoviruses infections insects. *Insect Ultrastructure*. 2:517.556.
- Tanada, Y., y R.T. Hess. 1991. Baculoviridae: granulosis viruses. En: Adams J. R. y J. R. Bonami (ed.), *Atlas of invertebrate viruses*. Academic Press. San Diego, USA. Pp. 227-257.
- Toprak, U. y M. O. Gürkan, 2004. First record of a NPV isolated from *Spodoptera littoralis* (Boisad) (Lepidoptera: Noctuidae) for Turkey and its molecular identification according to the partial *left-8* gene. *Turkish J. Biol.*, 28:71-77.
- Toprak, U., S. Bayram, y M. O. Gürkan, 2005. Gross pathology of SpliNPVs and alterations in *Spodoptera littoralis* Boisid, (Lepidoptera: Noctuidae) morphology due to baculoviral infection. *J. Agric. Sci.*, 11(1):65-71.
- USDA-NRCS, 2009. Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. [En línea]. Citado en octubre 2009. <http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=ZEM>

A

- Valicente, F. H. y M. R. Barreto. 1999. Levantamento dos inimigos naturais da lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), na região de Cascavel, PR. *An. Soc. Entomol. Brasil.* 28: 333-337.

- Vasconcelos, S. D., J. S. Cory, K.R. Wilson, S.M. Sait y R.S. Hails. 1996. Modified behavior in baculovirus-infected lepidopteran larvae and its impact on the spatial distribution of inoculum. *Biological Control*. 7:299-306.
- Vásquez, J., J. Zeddám y A. A. Tresierra. 2002. Control biológico del “cogollero del maíz” *Spodoptera frugiperda*, (Lepidoptera: Noctuidae) con el Baculovirus SfVPN, en Iquitos, Perú. *Folia amazónica*. 13: 25-39.
- Villa, C. M. M. y E. A. Catalán. V. 2004. Determinación de estadios larvales de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) para la construcción de un modelo de predicción. *Folia entomológica mexicana*. 43: 307-312.
- Volkman, L. E. y B. A. Keddie. 1990. Nuclear polyhedrosis virus pathogenesis. *Seminars in Virology* 1:249-256.
- Volkman, L. E., G. W. Blissard, P. Friesen, B. A. Keddie, R. D. Possee, y D-A. Thielmann. 1995. Baculoviridae. En: Murphy, F. A. C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, S. A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Matelli, M. A. Mayo y M. D. Summers (ed.), *Virus taxonomy: sixth report of the international committee on taxonomy of viruses*. Springer-Verlag, New York, USA. Pp.104-113.
- Volkman, L. E., y P. A. Golsmith. 1985. Mechanism of neutralization of budded *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus by a monoclonal antibody: inhibition of entry by adsorptive endocytosis. *Virology* 143:185-195.
- Wanatabe, H. 1987. The host population, P. 71-112. En: J. R. Fuxa y Y. Tanada (ed.), *Epizootiology of insect diseases*. John Wiley and Sons, NY.
- Whittaker, G. R., Kann, M. y Helenius, A. 2000. Viral entry into the nucleus. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16:627-651.
- Williams, C. F. y C. C. Payne. 1984. The susceptibility of *Heliothis armigera* larvae to three nuclear polyhedrosis viruses. *Ann. Appl. Biol.* 104: 405-412.

APÉNDICE

Cuadro 1A. Mortalidad de larvas de primer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV- NAV₁₁

Concentración	# inicial larvas	Número de muertos (días)										Σ. Mort.	M.O. (%)	M.C. (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
2X10 ²	20	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	4	20	12
8X10 ²	20	0	0	2	0	0	2	4	0	0	0	8	40	33
4X10 ³	20	4	2	2	6	2	2	0	0	0	0	18	90	89
2X10 ⁵	20	1	7	8	3	1	0	0	0	0	0	20	100	100
Testigo	20	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	0

M.O. = Mortalidad observada; M.C. = Mortalidad corregida por la formula de Abbott (1925).

Cuadro 2A. Mortalidad de larvas de primer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV- AG₂

Concentración	# inicial larvas	Número de muertos (días)										Σ. Mort.	M.O. (%)	M.C. (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
2X10 ²	20	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	8	40	33
4X10 ²	20	2	0	2	4	0	2	0	0	2	0	12	60	55
2X10 ³	20	0	0	4	10	2	0	0	0	0	0	16	80	77
Testigo	20	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0

Cuadro 3A. Mortalidad de larvas de segundo estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV-NAV₁₁

Concentración	# inicial de larvas	Número de muertos (días)										Σ. Mort.	M.O. (%)	M.C. (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
4X10 ²	20	2	0	0	0	4	0	2	0	0	0	8	40	37
8X10 ²	20	0	0	4	2	0	2	4	0	0	0	12	60	58
2X10 ³	20	0	0	0	0	8	6	0	2	0	0	16	80	89
4X10 ³	20	0	0	0	4	8	4	2	0	0	0	18	90	79
Testigo	20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0

Cuadro 4A. Mortalidad de larvas de segundo estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV- AG₂

Concentración	# inicial de larvas	Número de muertos (días)										Σ. Mort.	M.O. (%)	M.C. (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
2X10 ²	20	0	0	0	0	0	4	0	6	0	0	10	50	47
8X10 ²	20	0	0	0	2	8	0	2	0	2	0	14	70	68
2X10 ³	20	0	0	0	0	12	4	2	0	0	0	18	90	89
4X10 ³	20	4	2	0	0	14	0	0	0	0	0	20	100	100
Testigo	20	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	5	0

Cuadro 5A. Mortalidad de larvas de tercer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV- NAV₁₁

Concentración	# inicial de larvas	Número de muertos (días)										Σ. Mort.	M.O. (%)	M.C. (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
2X10 ²	20	0	0	0	0	4	0	0	0	2	0	6	30	22
8X10 ²	20	0	0	0	0	8	2	0	0	0	0	10	50	44
2X10 ³	20	4	0	0	2	6	4	2	0	0	0	18	90	88
Testigo	20	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	10	0

Cuadro 6A. Mortalidad de larvas de tercer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV- AG₂

Concentración	# inicial de larvas	Número de muertos (días)										Σ. Mort.	M.O. (%)	M.C. (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
4X10 ²	20	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	4	20	16
8X10 ²	20	0	0	0	0	2	10	0	0	2	0	14	70	68
4X10 ³	20	0	4	0	2	4	6	0	0	0	0	16	80	79
Testigo	20	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0

Cuadro 7A. Mortalidad de larvas de tercer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV- NAY₁

Concentración	# inicial de larvas	Número de muertos (días)										Σ. Mort.	M.O. (%)	M.C. (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
		4X10 ²	20	0	0	0	0	4	4	2	0			
8X10 ²	20	0	0	0	0	10	4	0	0	0	0	14	70	68
4X10 ³	20	0	4	2	0	2	6	2	0	2	0	18	90	89
Testigo	20	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0

Cuadro 8A. Mortalidad de larvas de tercer estadio a los diez días post-inoculación con el aislado de Nucleopoliedrovirus SfNPV- NAY₂

Concentración	# inicial de larvas	Número de muertos (días)										Σ. Mort.	M.O. (%)	M.C. (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
		2X10 ²	20	0	0	0	0	4	2	0	0			
8X10 ²	20	0	0	0	0	4	0	2	6	0	0	12	60	55
2X10 ³	20	4	0	0	2	8	4	0	0	0	0	18	90	89
4X10 ⁴	20	0	2	15	3	0	0	0	0	0	0	20	100	100
Testigo	20	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2	10	0