

Reactivación de dos cepas del virus de la poliedrosis nuclear VPHz1991 para el manejo del gusano elotero (*Helicoverpa zea*)



Reactivation of the nuclear polyhedrosis virus strain VPHz1991 for the management of the corn earworm (*Helicoverpa zea*)

Real-Baca, Carlos Iván; Paiba-Amador, Kester Omar

 Carlos Iván Real-Baca

carlos.real@ev.unanleon.edu.ni

Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos, Área específica de Agroecología y Agronegocios, Área de conocimiento de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua

 Kester Omar Paiba-Amador

kespaiba19@gmail.com

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua

Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua
ISSN-e: 2410-7980

Periodicidad: Semestral
vol. 9, núm. 18, 2023

conrado.quiroz@ev.unanleon.edu.ni

Recepción: 16 Octubre 2023

Aprobación: 30 Diciembre 2023

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/394/3944609010/>

DOI: <https://doi.org/10.5377/ribcc.v9i18.17547>

Autor de correspondencia: carlos.real@ev.unanleon.edu.ni

Copyright © 2023 Rev. iberoam. bioecon. cambio clim.
Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua León. (UNAN-León). Área de Conocimiento de Ciencias Agrarias y Veterinarias/Área Específica de Agroecología/Centro de Investigación en Bioeconomía y Cambio climático (CIByCC).



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Resumen: **Antecedentes:** Actualmente los productores usan insecticidas para las plagas, sin embargo una alternativa viable es el uso del VPN (Virus de la Poliedrosis Nuclear). El objetivo del trabajo fue reactivar la cepa de VPHz1991, para el manejo de *Helicoverpa zea*. **Metodología:** Se usaron seis tratamientos y seis repeticiones. Los tratamientos fueron: Concentración viral de 93 LE con tres instar larvales y concentración viral de 96 LE con tres instar larval. Se realizó un bioensayo con larvas de instar L1, L2 y L3, con 25 larvas por tratamiento, inoculando los tratamientos en la dieta artificial para que sea ingerida por las larvas. Se obtuvo una mortalidad del 100% sobre los instar L1 y L2 y 97% para instar L3. El tiempo letal que se obtuvo fue de 192 h cumpliendo con lo esperado del actuar del virus. Para determinar el conteo de cuerpos de inclusión poliédral CIP se usó la cámara de Neubauer, donde se usaron dos lotes cosechados de las concentraciones usadas. **Resultados:** El resultado del conteo para el lote cosechado (116 LE) de la concentración de 93 LE fue de 9.2×10^0 y para el lote cosechado (119) de la concentración de 96 LE fue de 1.34×10^{10} con 99% de mortalidad. **Conclusiones:** Se logró la reactivación de la cepa VPHz1991 presentando una excelente actividad biológica en larvas de *Helicoverpa zea* pese a los años de inactividad, demostrando que la cepa viral VPHz1991 usada en el estudio es apta para su uso como agente de control biológico para el manejo del gusano elotero.

Palabras clave: baculoviridae, entomopatógeno, bioplague, biotecnología, noctuidae.

Abstract: **Background:** Currently producers use insecticides against pests, a viable alternative is the use of NPV (Nuclear Polyhedrosis Virus). The objective of the work was to reactivate the VPHz1991 strain, for the management of *Helicoverpa zea*, six treatments and six repetitions were used. **Methodology:** The treatments were: Viral concentration of 93 LE with three larval instars and viral concentration of 96 LE with three larval instars. A bioassay was carried out with L1, L2 and L3 instar larvae, with 25 larvae per treatment, inoculating the treatments into the artificial diet so that it is ingested by the larvae. A mortality of 100% was obtained for instars L1 and



L2 and 97% for instar L3. The lethal time obtained was 192 h, complying with what was expected from the action of the virus. To determine the PIB polyhedral inclusion body count, the Neubauer chamber was used on a microscope where two batches harvested from the concentrations used were used. Results: The counting result for the harvested lot (116 LE) of the 93 LE concentration was 9.2X10⁹ and for the harvested lot (119) of the 96 LE concentration was 1.34X10¹⁰, being very good results. Conclusions: The reactivation of the VPNHz1991 strain was achieved, presenting excellent biological activity in *Helicoverpa zea* larvae despite the years of inactivity, demonstrating that the VPNHz1991 viral strain used in the study is suitable for use as a biological control agent for management of the corn worm.

Keywords: baculoviridae, entomopathogen, biopesticide, biotechnology, noctuidae.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays*) (Poaceae) es uno de los cultivos de mayor importancia en la dieta alimenticia de los nicaragüenses. Los cultivos que se encuentran en los agroecosistemas son susceptibles al ataque de plagas, lo que afecta su desarrollo fenológico y desempeño productivo. Entre las principales plagas se encuentra el insecto de las mazorcas *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae), siendo una de las más agresivas, causando severos daños a las mazorcas (Reisig, 2022; Jiménez, 2009).

Al eclosionar las larvas de *Helicoverpa zea*, comienzan a trasladarse en la parte apical del estigma del maíz hasta llegar al elote, alimentándose de los granos superiores, dejando galerías llenas de excremento permitiendo de entradas de organismos nocivos como hongos, bacterias, gorgojos y otros insectos (Jiménez y Rodríguez, 2014).

Según Cave *et al.* (2011) y Goméz *et al.* (2010) en la actualidad los productores se ven obligados a utilizar plaguicidas sintéticos de manera indiscriminada para el manejo de *Helicoverpa zea* y otras plagas, provocando daños en la salud de los usuarios y familias productoras que los utilizan, resistencia de las plagas, contaminación ambiental, destrucción de especies benéficas, mayor perturbación y desequilibrio en los ecosistemas; por tal razón, se han realizado investigaciones que implemente y desarrolle alternativas más eficientes que ayuden al manejo de las plagas (Capinera, 2001; Urbina y Valle, 2012; Sánchez *et al.*, 2019).

A través de los años se han implementado nuevas estrategias y combinación de métodos agrícolas, culturales y biológicos con el propósito de reducir la tasa de incremento de plagas y la cantidad de daños infligidos a los cultivos (Quiroz-Medina *et al.*, 2023; Brunetti *et al.*, 2022).

Una alternativa viable es el uso de agentes entomopatógeno como el Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) de la familia de los Baculovirus el cual produce enfermedades infecciosas que se multiplican en los tejidos de los insectos hasta, eventualmente, ocasionar su muerte, siendo una alternativa viable y eficiente para el manejo de poblaciones de *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera sunia*, *Spodoptera exigua*, *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) (Real-Baca y Zúniga-Gohzáles, 2023; Villamizar *et al.*, 2018; Rizo y Narváez, 2001; Cory y Myers, 2003; Castillo *et al.*, 1995; Gröner, 1986). Este trabajo se desarrolló con el objetivo de reactivar el virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) de la cepa VPNHz1991 para el manejo de poblaciones de larvas de la especie *H. zea*.

NOTAS DE AUTOR

carlos.real@ev.unanleon.edu.ni

METODOLOGÍA

Ubicación del estudio

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Producción de Virus Entomopatógenas del Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León. Con una temperatura de 26 ± 1 C y una humedad relativa de 70-80 %.

Establecimiento de la cría del insecto

Para el establecimiento de la cría del gusano elotero (*Helicoverpa zea*) se realizaron colectas de larvas en instar 2 y 3 en campo, en el municipio de León.

El rastreo se realizó en el cultivo de maíz mediante la observación en plantas de maíz en floración, revisando los pistilos de la mazorca y capturando las larvas manualmente para evitar daños mecánicos, estas fueron puestas en tazas de plásticas de 454 ml y se le agregó maíz tierno para su traslado, luego se le ofreció una dieta artificial (Real-Baca y Zúniga-González, 2023) hasta la etapa de pupa, estas fueron sexadas y puestas en valdes plásticos forrados en la parte interior con papel reciclado para la oviposición (Huerta y Arróliga, 2020).

Manejo de la segunda progenie del pie de cría

Acorde a lo descrito por Arana Ríos y Cárdenas Corrales (2003), se debe colectar los huevos una vez ovipositados por las hembras y contabilizar los huevos que luego fueron puestos en una solución de formalina al 3 % durante 15 Minutos, inmediatamente se enjuagaron con agua y se pusieron a secar a temperatura ambiente para su traslado a bolsas plásticas de libra, esto se realizó para la desinfección de los huevos y garantizar de que vallan libre de contaminación. Una vez que las larvas eclosionaron fueron trasladadas a tazas plásticas de 454 ml con dieta artificial (Tejana) siendo esta una dieta rica en trigo y complementos que ayudan a la asimilación nutritiva, las dietas se proporcionaron en el momento de eclosión de las larvas, cuando las larvas alcanzaron el segundo instar se trasladaron individualmente en tazas con dieta para evitar el canibalismo hasta que empuparon.

Los adultos se colocaron en parejas para garantizar la fecundidad de los huevos en recipientes plásticos (como jaulas de ovoposición, los recipientes se forraron con papel reciclable para la postura de huevo y se les colocó un algodón impregnado con miel diluida al 10 % y otro impregnado con agua para su alimentación e hidratación.

Preparación del Virus

Para la preparación del virus se usaron dos lotes de la cepa VPHz1991, el primer lote fue de 93 LE (Larvas equivalentes) y el otro 96 LE (Larvas equivalentes), macerado en 200 ml de agua, las cepas de *H. zea* se maceraron por lotes separados y se filtró la solución obtenida a través de una malla para evitar el paso de residuos, obteniendo una solución limpia.

Inoculación del Virus

la infestación del virus se usó el método de infección vía oral, para ello se usaron larvas de tres diferentes estadios de *H. zea* las cuales fueron criadas en el laboratorio de cría de noctuidae descrito anteriormente.

Se preparó dieta artificial tejana previo a la inoculación, esta fue seccionada en cubos de 3 cm de largo x 2 cm de ancho, los cubos se colocaron homogéneamente en tazas de 2 onza de polietileno pequeñas las cuales previamente fueron desinfectadas con alcohol al 70%.

De las soluciones preparadas se inocularon 360 larvas para una población total de 720 larvas de *H. zea*, se usó una micropipeta depositando 20 microlitros de solución viral en la dieta, colocando una larva por taza, estas fueran rotulada con fecha y hora.

Conteo de cuerpos de inclusión poliedral (CIP)

El conteo de cuerpos de inclusión poliedral se usaron dos lotes cosechados de las dos concentraciones usadas en el ensayo, el primero lote corresponde a 116 LE (Larvas equivalentes) de concentración de 93 LE inoculadas el día 28 de junio de 2022 y cosechadas el día 6 de julio de 2022 y el segundo lote 119 LE de concentración de 96 LE, inoculadas el 07 de septiembre y cosechadas el 15 de septiembre.

Semipurificación del virus

Cada lote del virus seleccionado se maceró individualmente con 80 ml de agua destilada, la solución resultante se centrifugó en dos etapas: primero se centrifugó por un minuto a 3000 revoluciones por minutos (rpm), se eliminó sedimento y el sobrante se pasa otros tubos de ensayo para introducirlos nuevamente a la centrífuga por 10 minutos a 6000 rpm ,se eliminó el sobrante y en el sedimento es donde se encuentran los cuerpos de inclusión poliedral , al cual se le agregó 4 ml de agua destilada y con la ayuda de una pipeta se extrajo el sedimento, a esta solución resultante se le denomina solución madre.

Previo a realizar el conteo, la solución madre obtenida se pasó por un minuto en un vortex y se prepararon tres soluciones sucesivas de 1:10, 1:100 y 1:1000. Para obtener la solución 1:10 Se agregó 50 μ l de la solución madre y 450 μ l de agua esta solución se agitó por un minuto y se extrajeron 50 μ l de la solución de 1:10 y se agregó 450 μ l de agua y se agito por un minuto. Este mismo proceso se repitió para obtener la solución 1:1000.

De la solución 1:1000 se tomó una gota y se colocó sobre la cámara de conteo Neubauer y se ubicó sobre un microscopio usando lente de proximidad de 40X.

El conteo se repitió tres veces por cada cuadro, obteniendo un promedio de los conteos realizados. El resultado se multiplica por $5 \times 10 \times 1000$, donde 5 es el número de cuadros contados, 10. representa el área de profundidad de la cámara y el volumen contenido en la cámara y 1000 es la solución usada.

Variables evaluadas

Mortalidad: Se revisaron las larvas que estuvieran muertas por el virus.

Conteo de cuerpos de inclusión poliedral: Se contabilizo la cantidad de viriones para determinar la viabilidad de las soluciones virales.

Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico R Statistical para el procesamiento de datos y se usó un modelo lineal generalizado para calcular la mortalidad según los instar larvales y el tiempo letal con un nivel de confiabilidad de 95%.

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Concentración viral VPHz1991

Los datos de las cepas de *VPHz1991* almacenadas durante 31 años demuestran un alto efecto de mortalidad en larvas de *H. zea*, en los estadios L1, L2 y L3, esto es debido al alto contenido de CIP encontrado en las larvas de *H. zea* (Tabla 1). Estos datos corroboran lo que plantea Fuxa (1987) el virus se mantiene altamente viable debido a que las cepas no han sido expuestas de manera continua en larvas del complejo noctuidos, el virus puede perder su eficacia y viabilidad debido que no se renuevan de manera natural y se usan constantemente sin modificación lo que ocasiona que las larvas del complejo *Spodoptera sp.* generen cierta resistencia a los virus entomopatógenos. Chen *et al.* (2019) y Castro (2019) manifestaron que la melanización juega un papel muy importante ya que el sistema activador profenoloxidasa (proPO) genera inmunidad a varias especies de lepidópteros. Debido a esto Real-Baca y Zúñiga-González (2023), explican que se debe de realizar rastreo y recolección de especímenes que estén contaminados por virus de manera natural para crear variabilidad y mejorar los genes de la cepa.

Tabla 1. Concentración estimada de la solución madre de dos lote de producción de VPHz1991.

TABLA 1

Concentración estimada de la solución madre de dos lote de producción de VPHz1991

Aislado viral	Concentración de solución madre CIP/ml
Virus cosechado de 93 LE concentración del 50 %	9.2X10 ⁹
Virus cosechado de 96 LE concentración del 100%	1.34X10 ¹⁰

El comportamiento de mortalidad obtenido en el estudio sobre larvas de *H. zea* se manifestó a partir de las 24 h y a medida que van pasando las horas la mortalidad va incrementando, pero cuando se llega a las últimas horas no hay diferencia significativa, ya que son para L1: 0.001, L2: 0.01 y L3: 0.05 siendo lo esperado debido al tiempo de acción del virus (Figura 1).

Espinoza *et al.* (1994), confirma que para alcanzar una mortalidad sobre larvas de instar pequeños esta se comienza a manifestar síntomas de infección por VPN hasta las 72 h de haber sido inoculadas.

Cruz Valdez (2002), afirma que la mortalidad por VPN en larvas de *Helicoverpa zea* se da hasta las 192 h en instar larvales pequeños y está influenciada en la cantidad de alimento inoculado que las larvas ingirieron, por lo tanto los resultados obtenidos de la mortalidad, se obtuvo en menos tiempo y está relacionado con las concentraciones virales usadas; Afolamuy y Oladun (2017) y Sosa-Gómez *et al.* (2020) también destacan que una acción importante para causar una buena infección viral es inocular las larvas en sus primeros instar ya que son más susceptibles a enfermarse debido que necesitan una baja inoculación del virus para morirse, esto debido a que al virus le toma poco tiempo colonizar el cuerpo para replicarse. Por otra parte, Yu (1983) evidencia que al aplicar insecticidas en diferentes edades de las larvas se demuestra que hay una mayor resistencia con respecto al instar larval, También en ese estudio se observó un patrón para la actividad de glutacion S- transferasa del intestino medio en donde la actividad de esterasa era mayor en las larvas más jóvenes.

Cruz Valdez (2002), El-Sheikh (2015) destacaron que se obtienen resultados a partir de las primeras 120 horas para larvas en segundo instar, 117 horas y 74 horas para larvas que se encontraban en instar de L1 y L2, siendo inferiores también a los de este estudio, por lo que se evidencia que la reactivación de la cepa de *H. zea* presenta una excelente mortalidad en función al tiempo.



FIGURA 1.

Porcentaje de mortalidad de larvas de *Helicoverpa zea* horas después de haber sido inoculadas con del virus de la Poliedrosis nuclear de la cepa VPHNHz1991

Al usar el VPN causa una disminución de consumo de alimento durante el proceso de desarrollo de la enfermedad en las larvas, ya que la multiplicación de los virus ocurre primero en el intestino y este proceso de multiplicación del virus en las células es más rápido cuando las larvas están pequeñas (Leucoma, 1996). Por lo cual los resultados obtenidos en el estudio, se presentó mortalidad general sobre los tres diferentes instar de *H. zea* inoculadas con las cepas de VPHNHz1991, en la cual se observa que la mortalidad de larvas es mayor en el instar L1 respecto a larvas de instar L2 y L3, pero cuando se toma el último día no hay diferencia significativa (Figura 2).

Los resultados en el estudio son parecidos con los obtenidos por Espinoza *et al.* (1994), ya que reportan que al usar concentraciones letales bajas se pueden manejar poblaciones de larvas de instar L2 y L3. Romero-Gutiérrez y Cruz-Reyes (2011) obtuvo resultados similares al usar diferentes concentraciones letales sobre larvas de *Lepidópteros*, con la diferencia que las larvas en instar L3 no eran tan susceptibles a la acción del virus por su tamaño, como se observa en la gráfica 2, la concentración 50 de la cepa VPHNzea 1991 obtuvo una mortalidad mayor sobre los instar L1 y L2 de *H. zea*, en el caso del instar larval L3 de *H. zea*, fue similar a los resultados obtenidos por otros autores por ende hay diferencia significativa entre los tratamientos usados.

Al usar concentraciones altas se pueden manejar poblaciones de *H. zea* de instar L3 con resultados de mortalidad similares (Cruz-Valdez, 2002). Estos resultados son similares y se demuestra que con la segunda concentración de 100 se pueden manejar poblaciones de *H. zea* en instar larvales L1, L2 y L3. Por otra parte, Lilliam Lezama (2011) menciona que al analizar los datos de mortalidad en bioensayos estos están directamente relacionadas con las dosis aplicadas, es decir que se presenta una mayor mortalidad de las larvas a medida que la dosis aplicada se incrementa.

Coronado *et al.* (2012), afirma que al usar el virus de la Poliedrosis Nuclear sobre larvas de instar L1, L2 y L3, el virus ocasiona un efecto en la disminución del consumo de alimentos, siendo las larvas L1 la que presentan mayor vulnerabilidad ante la acción del virus.

La mortalidad obtenida por el virus de la cepa VPHNzea 1991, sobre el primer estadio de las larvas de *H. zea*, es un resultado excepcional, ya que Vargas (2009) y Alves (1986), afirman que las larvas más jóvenes son más susceptibles al virus que otras larvas más desarrolladas, esto es muy esperado ya que el virus actúa más rápido en larvas pequeñas, ya que los Baculovirus atacan más rápido, también (Urbina Hernández y Valle

García, 2012) destacan que al usar el virus con diferentes concentraciones virales en instar de L2 se presenta una mortalidad esperada en poco tiempo porque la larva aun es susceptible a ataques de patógenos.

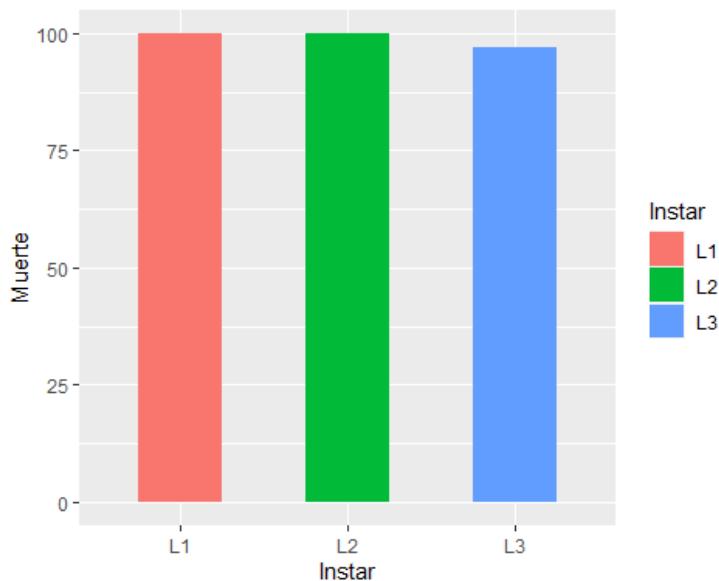


GRÁFICO 2.

Porcentaje de mortalidad en tres instar larvalas de *Helicoverpa zea* inoculadas con el virus de la Poliedrosis nuclear de la cepa VPHz1991 en condiciones de los laboratorios.

CONCLUSIÓN

Los rendimientos encontrados de CIP al usar el virus de la Poliedrosis nuclear de la cepa VPHz1991 son de 9.2×10^9 y 1.34×10^{10} . Las larvas de instar L1, L2 y L3, presentan un 99% de mortalidad al usar diferentes concentraciones de la cepa VPHz1991. Pese a la inactividad la cepa del virus almacenada presentó una excelente viabilidad y acción de control biológico sobre la especie *H. zea*.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al maestro Conrado Quiroz por su valioso comentario en la revisión del documento.

DECLARACIONES

Fondos: Este estudio fue financiado por el Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos

Conflictos de intereses: Los autores declaran que no tienen conflicto de interés de ninguna índole.

Cumplimiento de estándares éticos: N/A

Contribuciones de autores: C.I.R.B: Conceptualización, Metodología, Redacción, Borrador Original, Revisión y Edición, Supervisión. K.O.P.A: Metodología, borrador original, recolección de datos.

Disponibilidad de datos: El conjuntos de datos analizados en el presente estudio pertenecen a un cuestionario y no son de acceso público, pero están disponibles a través del autor correspondiente previa solicitud razonable.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afolami, O. y M. Oladunmoye. (2017). Baculoviruses: Emerging Frontiers for Viral Biocontrol of Insect Pests of Agricultural Importance. *Journal of Advances in Microbiology*, 5(4), 1-7. <https://doi.org/10.9734/JAMB/2017/35927>.
- Alves, S. (1986). Controle Microbiano de Insetos. Editora LTDA. -Sao Paulo (Brasil).
- Arana Ríos, A. E. y Cárdenas Corrales, H. F. (2003). Estudio del comportamiento de la especie *Spodoptera sunia* lepidoptera: noctuidae utilizando dos dietas artificiales diferentes para su producción masiva. Campus Agropecuario 2003. [Monografía de grado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León]. Repositorio institucional, UNAN-León. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/1250/1/192009.pdf>
- Lecuona, R. (1996). Microorganismos Patógenos empleados en el control Microbiano de Insectos Plaga. Editorial Leucona, Castelar.
- Brunetti, M., Magoga, G., Gionechetti, F., De Biase, A. & Montagna, M. (2022). Does diet breadth affect the complexity of the phytophagous insect microbiota? The case study of Chrysomelidae. *Environmental Microbiology*, 24(8), 3565-3579
- Capinera, J. (2001). *Handbook of vegetable pests*. Academic Press, San Diego 729p.
- Castillo, P., Acosta, N. & Ciliézar, A. (1995). *Control microbiológico de plagas artrópodos. Manual para la enseñanza del control biológico en América Latina*. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano, Tegucigalpa (Honduras).
- Castro, J. (2019). Presencia y patogenicidad del Virus de la Poliedrosis nuclear en larvas de lepidópteros del cultivo de Quinua en la Región Puno. (Monografía de grado, Universidad Nacional del altiplano de Puno).
- Cave, R. D., Trabanino, R. & Pitty, A. (2011). Zamorano y sus contribuciones a la agricultura sostenible a través del control biológico de plagas. *Ceiba*, 52(1), 26-38.
- Chen, T., Hu, N., Tan, L., Xiao, Q., Dong, Z., Chen, P., Zu, A., Pan, M. y Lu, C. (2018). Resistant silkworm strain block viral infection independent of melanization. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 154, 88-96 <https://doi:10.1016/j.pestbp.2018.12.012>
- Coronado, I., Castillo, M. & Delgado, G. (2012). *Efecto del virus de la poliedrosis nuclear y de neem (*Azadirachta indica*) en el consumo de hojas de maíz (*Zea mays*) y la mortalidad en larvas de diferentes instar de *Spodoptera frugiperda*, en condiciones de laboratorio*. Campus Agropecuario UNAN-León 2011 [Tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León]. Repositorio Institucional, UNAN-León.
- Cory, J. S. & Myers, J. H. (2003). The ecology and evolution of insect baculoviruses. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34(1), 239-272. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132402>
- Cruz Valdez, E. A. (2002). *Estimación de la DL50 y DL90 del virus Poliedrosis nuclear autographa californica en Spodoptera exigua y Helicoverpa zea*. (Tesis de grado, Zamorano, Honduras).
- El-Sheikh, E. (2015). Toxicidad comparativa y efectos subletales del benzoato de emamectina, lufenurón y spinosad en *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lepidópteros: Noctuidae). *Protección de cultivos*, 67, 228-234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2014.10.022>
- Espinoza, A., Cherry, A. & Cave, R. D. (1994). Efecto del VPN *Galleria mellonella* (L.) sobre larvas de *Plutella xylostella* (L.). *Cieba*, 35(1), 57-61 <https://revistas.zamorano.edu/index.php/CEIBA/article/view/418>
- Fuxa, J. R. (1987). Ecological Considerations for the Use of Entomopathogens in IPM. *Annual Review of Entomology*, 32(1), 225-251. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.32.010187.001301>.
- Gómez Valderrama, J. A., Guevara Agudelo, E. J., Barrera Cubillos, G. P., Cotes Prado, A. M. & Villamizar Rivero, L. F. (2010). Aislamiento, identificación y caracterización de nucleopoliedrovirus nativos de *Spodoptera frugiperda* en Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63(2), 5511-5520. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/25041/25580>.
- Groner, A. (1986). Specificity and safety of baculoviruses. In R. R. Granados and B.A. Federici (Eds), *The Biology of Baculoviruses* (Vol.1, pp.177-202). CRC Press, Boca Raton, Florida.

- Huerta, N. y Arroliga, R. (2020). *Establecimiento de cría de la especie Helicoverpa zea, hospedero del Virus de la Poliedrosis nuclear VPN-Hz, bajo condiciones de laboratorio periodo de marzo-octubre del año 2020*. [Monografía de grado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua León]. Repositorio institucional, UNAN-León.
- Jiménez, E. (2009). Métodos de control de plagas. *Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua*.
- Jiménez, E. & Rodríguez, O. (2014). *Insectos: Plagas de cultivos en Nicaragua*. Universidad Nacional Agrarias. <https://repository.una.edu.ni/id/eprint/2700>
- Lezama, L. (2011). *Actividad biológica de una formulación en polvo del virus de la poliedrosis nuclear (VPN) almacenado a diferentes temperaturas y eficacia para el control de Spodoptera exigua en el cultivo de cebolla, en Sébaco-Matagalpa*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León]. Repositorio institucional, UNAN-León.
- Quiroz-Medina, C. R., Real-Baca, C. I., Silva-Illescas, P. F. & Moreno-Mayorga, L. F. (2023). Preferencia de oviposición de *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) en plantas herbáceas. *Agronomía Mesoamericana*, 34(1), Artículo 50410. <https://doi.org/10.15517/am.v34i1.50410>
- Real-Baca, C. I. & Zuniga-Gonzalez, C. A. (2023). Periodical crossing of the laboratory population with the natural population would improve fitness in *S. sunia*. *Lepidoptera: Noctuidae* [version 2; peer review: 1 approved with reservations]. *F1000Research*, 12:30 <https://doi.org/10.12688/f1000research.129183.2>
- Reisig, D. (7 de enero de 2022). *Helicoverpa Zea* (gusano de la cápsula). CABI. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.26776>.
- Rizo, C. y Narváez, C. (2001). Uso y producción de Virus de la Poliedrosis Nuclear en Nicaragua. Manejo integrado de plagas (Costa Rica), 61, 90-96
- Romero Gutiérrez, M. I. & Cruz Reyes, C. M. (2011). *Calidad de la cría de Spodoptera: algunos parámetros biológicos para su reproducción*. Campus Agropecuario de la UNAN-León. Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRCB) 2011. [Tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León]. Repositorio institucional, UNAN-León.
- Sánchez, J., Valle, J., Pérez, E., Neira, M. y Calderón Arias, C. (2019). Control biológico de *Spodoptera frugiperda* en cultivo de *Zea mays*: Uso de nematodos entomopatógenos. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 551-557.
- Sosa Gómez, D. R., Morgado, F. S., Correa, F. S. T., Silva, L. A., Ardisson, M. P., Rodrigues, B. M. P., Oliveria, E. E., Aguiar, R.W. S. y Riveiro, B. M. (2020). Entomopathogenic Viruses in the Neotropics: Current Status and Recently Discovered Species. *Entomología neotropical*, 49, 315,39. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00770-1>.
- Urbina, F. y Valle, C. (2012). *Evaluación de la calidad de la producción del virus de la poliedrosis nuclear de Spodoptera sunia (SsVPN) del Laboratorio del Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRCB), en el Campus Agropecuario. UNAN-León, 2012*. [Monografía de grado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León]. Repositorio institucional, UNAN-León.
- Vargas, L. (2009). Interacción de un baculovirus con azadiractina para el control del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: noctuidae). (Tesis de grado, Instituto Tecnológico de Costa Rica). Repositorio Institucional Tecnológico de Costa Rica https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/2911/Informe_Final.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Villamizar, L. F., Cuartas, P., correal, C. E. & Lopez-Ferber, M. (2018). Virus entomopatógenos en el control biológico de insectos. En Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros: agentes de control biológico(pp. 372-401). Agrosavia.
- Yu, S. J. (1983). Age Variation in Insecticide Susceptibility and Detoxification Capacity of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larva. *Journal of Economic Entomology*, 76(2), 219–222. <http://dx.doi.org/10.1093/jee/76.2.219>