

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN
ÁREA DE CONOCIMIENTO DE CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIA
INGENIERÍA EN AGROECOLOGÍA TROPICAL**



**“TRABAJO MONOGRÁFICO PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERÍA EN
AGROECOLOGÍA TROPICAL”**

**Evaluación de la contaminación transovárica y transestadial de una cepa
del Virus de la poliedrosis nuclear (VPNSf) en la progenie de adultos de
*Spodoptera frugiperda***

Autores:

Br. Hazel Raquel Pineda Caballero.

Br. Álvaro Rafael López Robleto.

Tutor:

M.Sc. Carlos Iván Real.

León, Nicaragua, 2024

2024: 45/19 ¡LA PATRIA, LA REVOLUCIÓN!

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN
ÁREA DE CONOCIMIENTO DE CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIA
INGENIERÍA EN AGROECOLOGÍA TROPICAL**



**“TRABAJO MONOGRÁFICO PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERÍA EN
AGROECOLOGÍA TROPICAL”**

**Evaluación de la contaminación transovárica y transestadial de una cepa
del Virus de la poliedrosis nuclear (VPNSf) en la progenie de adultos de
*Spodoptera frugiperda***

Autores:

Br. Hazel Raquel Pineda Caballero. _____

Br. Álvaro Rafael López Robleto. _____

Tutor:

M.Sc. Carlos Iván Real. _____

León, Nicaragua, 2024

2024: 45/19 ¡LA PATRIA, LA REVOLUCIÓN!

AGRADECIMIENTO

Primeramente, le doy gracias a Dios por permitirme llegar a esta etapa de mi vida y jamás haberme dejado desistir; le agradezco a mi tutor M.Sc. Carlos Real y asesor Ing. Conrado Quiroz por guiarnos durante esta experiencia llena de aprendizaje; a mi profesor M.Sc. Pedro Silva por el apoyo durante nuestra investigación y por sus consejos, a mi compañera de tesis Hazel Pineda por haber estado siempre conmigo en este proceso; a Cony Reyes y Marling Cisne, con sus consejos pude aprender muchas cosas que fueron fundamentales para mi documento, también por apoyarme con las tareas que se realizaron en laboratorio; a Álvaro Delgadillo por su apoyo durante toda mi carrera; a Verenises Espinales por ser parte muy importante en la recolección de información del documento y habernos apoyado en laboratorio; a UNAN-LEON y al Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRCB) por darnos el espacio de realizar nuestro ensayo y por los 5 años de carrera.

Álvaro López Robleto

AGRADECIMIENTO

A Dios, por haber sido mi guía durante estos cinco años de estudios, por estar a mi lado en cada una de mis decisiones y retos que se presentaron en el camino, además de ser parte de mi fortaleza para trabajar por mis sueños; a mí, por no rendirme y luchar hasta el final a pesar de que en ocasiones todo iba en contra; a mi familia, por ser mi apoyo incondicional ante momentos difíciles, ayudarme a tomar mejores decisiones, alentarme a luchar por mis sueños y no rendirme; al hermano David y hermana Brenda, por hacer realidad su sueño y porque ese sueño logró impulsar el mío; a mi compañero de tesis Alvaro López, por asumir este reto conmigo, por cada situación afrontada y por cada conocimiento compartido; a Verenises Espinales quien desde el principio se sumó a esta aventura, y aunque la vida nos llevó por caminos diferentes no nos faltó su apoyo; a mi tutor M.Sc. Carlos Real y asesor Ing. Conrado Quiroz por guiarme en cada paso de la tesis, por todo el conocimiento compartido, por creer en mí; al M.Sc. Pedro Silva quien compartió su conocimiento en los momentos claves de ésta investigación; a Cony Reyes y Marling Cisne por su apoyo en la etapa de laboratorio, por alentarme en días difíciles y por compartir su conocimiento; a mis maestros y compañeros de la carrera de INGENIERIA EN AGROECOLOGÍA TROPICAL, por compartir sus conocimientos tanto en la carrera como en la vida y ser parte de mi crecimiento profesional; a mis maestros y compañeros de la primaria y secundaria por sentar las bases de mi conocimiento, así como los valores éticos, morales y espirituales; a mi Alma Mater UNAN LEON y el Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRCB), por permitirnos realizar el ensayo en sus instalaciones y así finalizar mis estudios con éxito.

Hazel Pineda

DEDICATORIA

Me dedico este logro porque con disciplina pude terminar una etapa que 5 años atrás me prometió culminar, una etapa llena de aprendizaje y logros que solo con mucha disciplina podemos llegar a la meta que nos proponemos, también se lo dedico a mi familia especialmente a mi mamá Deysi Robleto quien es el pilar fundamental en mi vida y mi motivación para seguir cumpliendo las metas que me propongo en la vida, todo su esfuerzo está plasmado en las letras de este documento.

Álvaro López Robleto

DEDICATORIA

A Dios, que ha sido bueno conmigo en su misericordia, por ser mi guía en cada una de mis decisiones, ya que sin él no sería nada de esto posible; a mi abuelo Manuel Méndez, un hombre que hasta el final de sus días no dejó de amar la agricultura; a hermano David y hermana Brenda por el gran apoyo que me brindaron durante los cinco años de mi carrera y por enseñarme a poner a Dios siempre en primer lugar; a mi familia, por siempre respetar mis decisiones, por estar conmigo en los momentos difíciles, por sus consejos, por los valores enseñados que fueron pilar fundamental a lo largo de este camino.

Hazel Pineda

ÍNDICE

AGRADECIMIENTO	i
DEDICATORIA	iii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	3
III. HIPÓTESIS.....	4
IV. MARCO TEÓRICO.....	5
4.1. Gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i>	5
4.1.1. Clasificación taxonómica de <i>Spodoptera frugiperda</i> Smith.....	5
4.1.2. Ciclo biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i> Smith.	5
4.2. Aspectos Generales de Baculovirus.	6
4.2.1. Familia.....	7
4.2.2. Clasificación.....	8
4.3. Virus de las Poliedrosis Nuclear.	8
4.3.1. Clasificación del Virus de la Poliedrosis Nuclear.	8
4.3.2. Modo de acción.	9
4.3.3. Mecanismo de acción y sintomatología del VPN.....	9
4.4. Métodos de transmisión vertical.....	10
4.4.1. Transmisión transovárica.....	10
4.4.2. Transmisión transovum.....	10
4.5. Infecciones encubiertas.	10
V. Diseño metodológico	11
5.1. Descripción del laboratorio.....	11

5.2. Tipo de investigación.....	11
5.3. Descripción diseño experimental.	11
5.4. Definición de los tratamientos.....	12
5.5. Elaboración de la dosis del VPN de una cepa de <i>Spodoptera frugiperda</i>	13
5.6. Definición y clasificación de las variables a evaluar.....	14
5.7. Definición de la muestra.....	14
5.8. Establecimiento del bioensayo.	15
5.8.1. Establecimiento del pie de cría de <i>Spodoptera frugiperda</i>	15
5.8.2. Elaboración de la dieta artificial.....	15
5.8.3. Apareamiento de adultos de <i>Spodoptera frugiperda</i> contaminados con VPN y no contaminados.	15
5.9. Análisis de datos.....	16
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
VII. CONCLUSIÓN	33
VIII. RECOMENDACIONES.....	34
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
X. ANEXOS.....	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. <i>Taxonomía de Spodoptera frugiperda</i>	5
Cuadro 2. <i>DCA por cada una de las repeticiones y tratamientos.</i>	12
Cuadro 3. <i>Resumen del modelo lineal generalizado (estimado, error estándar, Estadístico Z, valor de p e intervalos de confiabilidad inferior (ICI) y superior (ICS)) para la mortalidad promedio de la primera generación de la progenie de los adultos de Spodoptera frugiperda con el VPNSf en los diferentes tratamientos a una confiabilidad del 95 %</i>	18
Cuadro 4. <i>Resumen del modelo lineal generalizado (estimado, error estándar, Estadístico Z, valor de p e intervalos de confiabilidad inferior (ICI) y superior (ICS)) para la sobrevivencia de la eclosión en larvas de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovarica del VPNSf en los diferentes tratamientos a una confiabilidad del 95 %</i>	20
Cuadro 5. <i>Resumen del modelo lineal generalizado (estimado, error estándar, Estadístico Z, valor de p e intervalos de confiabilidad inferior (ICI) y superior (ICS)) para la mortalidad acumulada promedio de la primera generación de larvas de Spodoptera frugiperda cn la contaminación transovárica del VPNSf en los diferentes tratamientos a una confiabilidad del 95 %.</i>	22
Cuadro 6. <i>Resumen del modelo lineal generalizado (estimado, error estándar, Estadístico Z, valor de p e intervalos de confiabilidad inferior (ICI) y superior (ICS)) para la mortalidad de la eclosión de larvas de la segunda generación de Spodoptera frugiperda con l contaminación transovárica del VPNSf en los diferentes tratamientos a una confiabilidad del 95 %</i>	31

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. <i>Mortalidad de la eclosión de la primera generación de los adultos de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovárica del VPNSf por tratamiento.....</i>	17
Figura 2. <i>Sobrevivencia de la eclosión en la primera generación de adultos de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovárica del VPNSf por tratamiento.....</i>	19
Figura 3. <i>Mortalidad acumulada durante el ciclo biológico de la primera generación de los adultos de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovárica del VPNSf.....</i>	21
Figura 4. <i>Mortalidad en el tiempo por tratamiento de la primera generación de los adultos de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovárica del VPNSf por tratamiento.....</i>	23
Figura 5. <i>Mortalidad de eclosión de la segunda generación de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovárica del VPNSf.....</i>	30
Figura 6. <i>Elaboración de pie de cría.....</i>	47
Figura 7. <i>Sexado de pupas.....</i>	47
Figura 8. <i>Primera centrifugación para la Elaboración de VPNSf.....</i>	48
Figura 9. <i>Elaboración de VPNSf.....</i>	48
Figura 10. <i>Forrado de tazas.....</i>	49
Figura 11. <i>Elaboración de la comida para adultos y contaminación con VPNSf... </i>	49
Figura 12. <i>Tratamientos.....</i>	50
Figura 13. <i>Larvas muertas por VPN.....</i>	50

RESUMEN

En la agricultura los virus entomopatógenos son de gran importancia, son sostenibles desde el punto ecológico controlando insectos plagas que atacan los cultivos. El objetivo de este estudio fue evaluar la contaminación transovárica de Virus de la Pliegrosis Nuclear (VPNSf) en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio, mediante un diseño completamente al azar con tres repeticiones y tres tratamientos, a una concentración de 8.45×10^8 CIP/ml. Los tratamientos: (T1) Hembra adulto contaminada + Macho adulto contaminado, (T2) Hembra adulto contaminada + Macho adulto sin contaminar, (T3) Macho adulto contaminado + Hembra adulta sin contaminar. La muestra total fue de 180 adultos, 10 parejas individualmente apareadas por tratamiento, monitoreo cada 24 horas para recolectar las masas de huevos; evaluando la mortalidad, sobrevivencia, daño en todo el ciclo de vida de la progenie. Se realizó un modelo lineal generalizado calculando la mortalidad y sobrevivencia de la progenie con un nivel de confiabilidad del 95%. T1 obtuvo los mayores porcentajes en la mortalidad de eclosión, así como en la sobrevivencia de eclosión junto a T2, T1 presentó los mayores valores de mortalidad acumulada en todo el ciclo biológico. Los sobrevivientes presentaron: pequeños puntos negros en sus segmentos, tegumento rosado, abdomen inflamado, expulsión de líquido viscoso amarillento por el aparato bucal, disminución de movilidad, mal formación de pupas, mal formación en adultos y estadios largos. Los valores altos de mortalidad de eclosión en la segunda generación los presentó T1, no se obtuvo descendencia de T3. Se concluyó que la baja concentración de VPNSf influyó en la contaminación transovárica, reduciendo la fecundidad, permaneciendo de forma encubierta en la progenie sobreviviente como instinto de supervivencia.

I. INTRODUCCIÓN

Los virus desempeñan un papel importante en la agricultura, porque regulan las poblaciones cuando se usan en un programa de control (Narváez,1995 citado por Velásquez *et al.*, 2012). La transmisión vertical, o el paso de padres a hijos de un microorganismo patógeno, es un fenómeno comúnmente observado con virus de insectos. Dicha transmisión es común en los Cypovirus (CPV) (Belloncik y Mori,1998) y especialmente en los nucleopoliedrovirus (NPV) (Kukan,1999).

Con el aumento de la agricultura en Nicaragua en los años 60, principalmente con la extensión del monocultivo del algodón, realizando un manejo inadecuado, en particular el uso indiscriminado de plaguicidas sintéticos ha conducido a la resistencia de insectos plagas, así como el resurgimiento de plagas secundarias, contaminación ambiental, provocando un desequilibrio en los agroecosistemas y por ende su degradación, aumentando los costos de producción, entre otros (Narváez, 2013).

El gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* Smith) (Lep: Noctuidae) es el principal insecto que se presenta en los ciclos de cultivo de muchas gramíneas de importancia económica como el Maíz, siendo los fertilizantes sintéticos el más utilizado para su control (Isman, 2015). Por esa razón se han buscado muchas alternativas novedosas para hacer agricultura. Una de ellas es el control biológico de plagas donde se hace uso de depredadores, parasitoides, bacterias, hongos y virus entomopatógenos para el control de plagas (Glare, 1995).

Los VPN y los Virus de la Granulosis, de la familia de los Baculoviridae, han sido los más estudiados con la finalidad de obtener insecticidas biológicos (Moscardi, 1983). Lecuona (1995) indica que la ruta primaria de ingreso del virus al hospedante es la vía del tracto alimenticio durante el curso de la alimentación, especialmente para las larvas y los adultos. Este mismo autor también reporta que otras vías como la infección a través de espiráculos, pasaje transovariano o parasitoides no son consideradas importantes.

Numerosos estudios hablan sobre la eficiencia que tiene este controlador biológico en la disminución de poblaciones larvales de *Spodoptera*, pero no es mucha la información que se enfocan encontrar otras alternativas de contaminación como:

transovárica del virus a la plaga para un mayor aprovechamiento además del efecto que podría tener el virus en la progenie de los adultos de *Spodoptera*.

Elnagar *et al.* (1982) llevó a cabo un estudio sobre la transmisión de la enfermedad del Virus de la Poliedrosis Nuclear (NPV) de *Spodoptera littoralis* (Lep: Noctuidae) a través de la exposición de adultos de *Spodoptera littoralis* alegando que las hembras voladoras de *S. littoralis* pueden contribuir a la dispersión de la enfermedad entre las poblaciones de campo del insecto.

Por lo que el objetivo principal del presente estudio es evaluar la contaminación transovárica del VPNSf en la progenie de adulto de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio, con la cual se quiere presentar si existe una nueva estrategia de control biológico en el VPNSf para los productores y como referencias a estudios futuros.

II. OBJETIVOS

General

Evaluar la contaminación transovárica del Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPNSf) en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio, CIRCB, 2024.

Específicos

- Determinar el porcentaje de mortalidad y sobrevivencia en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* con la contaminación transovárica del VPNSf.
- Describir el efecto de la contaminación transovárica del VPNSf en el desarrollo físico de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda*.
- Determinar el porcentaje de mortalidad de la eclosión de la progenie que procede de adultos de *Spodoptera frugiperda* inoculados con el VPNSf.

III. HIPÓTESIS

Ho: Al evaluar la mortalidad en los tratamientos del VPNSf mediante la contaminación transovárica en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* no habrá diferencias estadísticamente significativas en todos los tratamientos.

Ha: Al evaluar la mortalidad en los tratamientos del VPNSf mediante la contaminación transovárica en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* habrá diferencias estadísticamente significativas en al menos unos de los tratamientos.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1. Gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*

Es la principal plaga del cultivo por su importancia económica y por los daños que ocasiona al cultivo, en los últimos años se reportan en algunos países de África serios problemas por el agresivo crecimiento de sus poblaciones y al ser plaga exótica carece de sus enemigos naturales, su manejo es más complicado. Sumándole a esto también las condiciones de clima caliente y seco agravan a un más la problemática de baja de los rendimientos del cultivo (Zamora *et al.*, 2006).

4.1.1. Clasificación taxonómica de *Spodoptera frugiperda* Smith

Según Morales (2003):

Cuadro 1. Taxonomía de *Spodoptera frugiperda*

Taxonomía de <i>Spodoptera frugiperda</i>	
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Lepidóptera
Suborden	Glossata
Infraorden	Heteroneura
Familia	Noctuidae
Subfamilia	Amphiryrinae
Género	<i>Spodoptera</i>
Especie	<i>S. frugiperda</i>

4.1.2. Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda* Smith.

- **Huevo:** Son de forma redonda color verde pálido, eclosionan entre 3-5 días, son puestos en grupos de hasta 300 en cualquier superficie de la hoja y tallos.

- **Larva:** Vive de 14-21 días, pasa por cinco a seis estadios, dependiendo de la temperatura y el tipo de alimento, miden de 35-40 mm de longitud cuando están maduras.
- **Pupa:** el estado de pupa dura de 9-13 días, es de color pardo, mide de 18-20 mm de largo empupan en el suelo en un capullo suelto, algunas veces entre las hojas del huésped.
- **Adulto:** es una palomilla con mayor actividad nocturna, tiene una envergadura de 32-38 mm; alas delanteras de las hembras son uniforme de color gris a pardo-gris; en el macho son pardos claro, con marcas oscuras y rayas pálidas en el centro del ala; las traseras son blancas (Zamora *et al.*, 2006).

4.2. Aspectos Generales de Baculovirus.

Los Baculovirus son un conjunto de grupos formados por virus que solamente infectan a insectos. Estos tienen la característica de propagarse (Levy *et al.*, 1994). Baculovirus genera interés en la sociedad por su capacidad de controlar varias especies de insectos plagas, por otra parte, no genera daños al medio ambiente.

La familia de los Baculovirus pertenece al género de la Poliedrosis Nuclear (VPN) son los más utilizados como agentes de control biológico, debido a que su estabilidad es mejor que la de los géneros de la granulosis (VG) (Cory & Bishop, 1995). Son altamente seguros y efectivos, su efecto no es muy rápido como un producto convencional, pero también va a influir la edad de la plaga, la dosis y las condiciones climáticas (Bonning & Hammock, 1996). Una característica importante de Baculovirus es que aún no se presenta resistencia, son seguros para el hombre y para el medio ambiente (Richards *et al.*, 1998).

Presentan ventajas sobre los insecticidas convencionales (Bonning & Hammock, 1996; Cory & Bishop, 1995; Richards *et al.*, 1998), como tener un estrecho rango de huéspedes, algunos pueden persistir en el medio ambiente, los podemos modificar genéticamente para mejorar su eficiencia, los podemos reproducir localmente y con bajos costos, no causan efectos adversos en las personas que lo manipulan, aunque también podemos encontrarnos con limitantes al usar el producto cuando las condiciones ambientales son inadecuadas.

Los Baculovirus además de tener buenos efectos en la disminución de poblaciones de insectos huésped, también muestran buena producción y disseminación (Moscardi, 1999).

Los daños provocados por Baculoviridae en ambos géneros virales a menudo provoca la muerte del insecto hospedero (Kroemer *et al.*, 2015). Las larvas infectadas presentan síntomas característicos varios días después de la infección, observándose el cese de la alimentación dejando de alimentarse de manera paulatina, cambio en la coloración del tegumento con la transformación fenotípica de las larvas infectadas donde comienza con la hinchazón del cuerpo larvario y la posibilidad de obtener un color lechoso y blanquecino de la cutícula, fragilidad de la misma hasta su ruptura cuando la infección avanza, liberando los CO₂ producidos durante la infección al medio ambiente por la descomposición de la cutícula (Sauer *et al.*, 2017).

4.2.1. Familia.

Baculovirus se divide en dos subfamilias, según su formación o cuerpo de inclusión. A estos virus que son exclusivos de artrópodos se los conoce como Nucleopolyhedrovirus (NPVs), excepto los Betabaculovirus, que también se los llama Granulovirus (GVs) debido a las características diferentes (Richardson *et al.*, 1995).

Aquellos Baculovirus que son miembros de las subfamilias Eubaculoviridae son Baculovirus que están dentro de cuerpos de inclusión, estos infectan aquellas larvas Lepidopteras, Coleopteras, Diptera, Hymenoptera y Trichoptera (Richardson *et al.*, 1995; Blissard & Rohrmann, 1990).

Los miembros de la subfamilia Nudibaculoviridae son aquellos Baculovirus sin cuerpo de inclusión en forma de varillas o bacilos nucleares, entre sus huéspedes se encuentran: el escarabajo rinoceronte de la Palma de aceite (*Oryctes rhinoceros* (L.) (coleoptera: Searabacidae)) y el Grillo (*Gryllus Campestris* (L.) (Orthoptera: Gryllidae)) (Richardson *et al.*, 1995; Blissard & Rohrmann, 1990).

El VPN tiene su género que se caracteriza por la presencia de cuerpos de inclusión en forma de Poliedros, los cuales contienen partículas virales distribuidas al azar (Blissard & Rohrmann, 1990).

4.2.2. Clasificación.

Los Baculovirus se clasifican según su morfología de los OB (cuerpos de inclusión) en dos géneros: Nucleopoluhedrovirus (NPV) y Granulovirus (GV), por otro lado, los virus se pueden clasificar a partir de la naturaleza y la estructura de su genoma y de su método de replicación, no de acuerdo con las enfermedades que causan. (Haase *et al.*, 2013).

4.3. Virus de las Poliedrosis Nuclear.

El virus está compuesto por una capa de proteína llamada cápsido, que rodea y protege el ácido nucleico, que representa la porción biológica del virus, pudiendo presentar ADN o ARN, a este conjunto se le llama nucleocápsido. Estos nucleocápsidos pueden estar uno solo o en grupos con una envoltura lipo-proteica, construida a partir del material del insecto parasitado. Al conjunto de nucleocápsidos más la envoltura se le denomina virión o partícula viral. Esta construido por unidad infectiva del virus. Los viriones están envueltos por una matriz proteica formando el cuerpo poliédrico de inclusión (CIP), (Rizo & Narváez, 2001).

4.3.1. Clasificación del Virus de la Poliedrosis Nuclear.

Evans & Entwistle (1987) mencionan la clasificación de los Baculoviridae y describe que el Virus de la Poliedrosis Nuclear, Virus de la Granulosis y Virus no Ocluidos son los virus patogénicos con mayor importancia. Estos virus se clasifican porque la unidad viral tiene forma de barra de replicación de ácido nucleico, formación de capa proteica, unión en el núcleo de las células y tienen viriones ocluidos. citado por Lobo de Souza & Lecuona (1995) describen que el VPN está basado en la clasificación bioquímicos y biofísicos reportan que los virus de insectos fueron agrupados en diversos grupos.

a) Los que presentan un cuerpo de inclusión de naturaleza proteica, visibles al microscopio óptico, dentro de ellos están el Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN).

b) Virus de Granulosis (VG), Virus Citoplasmática (VCP) y Entomopoxvirus. Iridovirus, Densovirus, Sigmavirus, Virus X Drosophila, Picornavirus y otros virus de ARN.

4.3.2. Modo de acción.

La contaminación del virus al insecto se da por vía oral. Siendo ingeridos con los alimentos que se encuentran en los tallos y hojas. La contaminación es posible por medio de los huevos de los insectos de manera interna y externa por la contaminación del corion. Las larvas recién nacidas tienen el hábito de comer el corion de los huevos por lo que facilita la contaminación (Alves, 1886).

La vía del tracto alimenticio es la ruta primaria de ingreso del virus al hospedero, en adultos y larvas durante su alimentación para pasar al intestino externo (Leucona, 1995; Evans & Entwistle, 1987).

4.3.3. Mecanismo de acción y sintomatología del VPN.

El hospedero adquiere al VPN por vía oral y por otras formas como: transmisión transovárica, la contaminación de la superficie del huevo y por heridas provocadas por el parásito (Santos, 1998). La ingestión de los poliedros de VPN que contienen los viriones se disuelven en condiciones alcalina ($\text{pH} > 7.5$) del intestino medio y liberan los viriones, cuando pasa en contacto con las microvellosidades del intestino, los viriones liberan los cápsidos a las células epiteliales del intestino donde el virus habitualmente realiza su primera vuelta de replicación (Cáceres, 2002). El virus afecta otros tejidos susceptibles del hospedero, donde después continúa reproduciéndose y multiplicándose. Entre los tejidos que ataca se menciona el cuerpo graso, epidermis del intestino, hemocitos, tráqueas y glándulas de seda (Cave, 1995).

Su sintomatología se presenta después del tercer o cuarto día de infección de las larvas, primero se observan manchas en el integumento y la piel, con un tono amarillento y apariencia oleosa, tiempo después la larva reduce su movilidad, dejan de alimentarse y se suben a la parte alta de la planta, después se cuelgan de las hojas con las patas traseras y seguidamente se vuelven oscuras debido a la desintegración de los tejidos internos hasta la ruptura del integumento (Rizo & Narváez, 2001).

4.4. Métodos de transmisión vertical.

Esta vía requiere la transmisión del virus de los padres infectados a la descendencia, siendo de forma transovárica o transóvula (Vilaplana *et al.*, 2010).

4.4.1. Transmisión transovárica.

La transmisión transovárica requiere que el virus pase dentro de los óvulos, ya sea como partículas de virus o solo como genoma; mientras que en transovum, las partículas virales se ubican en la superficie del huevo y los neonatos se infectan cuando ingieren el corion (Vilaplana *et al.*, 2010).

4.4.2. Transmisión transovum.

La transmisión vertical transovum consiste en la contaminación de la superficie del huevo con partículas virales durante el proceso de oviposición infectando a las larvas recién nacidas cuando ingieren el corion durante la eclosión (Vilaplana *et al.*, 2010).

4.5. Infecciones encubiertas.

Las infecciones encubiertas (también conocidas como infecciones inaparentes, subletales, silenciosas u ocultas) son conocidas por presentar ausencia de síntomas visibles de enfermedades. Esta infección se asemeja a infecciones que implican un bajo nivel de replicación por virus como los poliomavirus en vertebrados o infecciones latentes no productivas por herpesvirus, retrovirus y bacteriófagos (Williams *et al.*, 2017).

Hay dos tipos de infección encubierta: (i) infección persistente o subletal que implica la replicación del virus en bajos niveles en la célula huésped y (ii) infección latente en la que el virus está esencialmente inactivo. El primer caso de infección encubierta se ha demostrado en los baculovirus (Burden *et al.*, 2003). El segundo no se ha demostrado para los baculovirus, aunque sí para otros virus (Kane & Golovkina, 2010). Las infecciones encubiertas pueden activarse en huéspedes que contienen el virus y pasar a infecciones notorias mediante la exposición a tensiones fisiológicas como altas densidades de huéspedes, alta humedad relativa, inanición, calidad de los alimentos, presencia de otros patógenos que provocan la muerte y transmisión horizontal (Martemyanov *et al.*, 2015).

V. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1. Descripción del laboratorio.

El estudio se llevó a cabo durante el periodo del año 2024, en el Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRCB) ubicado en el Campus Agropecuario de la UNAN León, 1.5 km carretera La Ceiba en la Ciudad de León, departamento de León. El laboratorio presenta una temperatura promedio de 27°C, humedad relativa de 80%.

5.2. Tipo de investigación.

Es una investigación experimental debido a la manipulación intencional de una o más variables independientes, donde la variable independiente se considera como causa en una relación entre variable y el efecto provocado por dicha causa se le denomina variable dependiente (Agudelo *et al.*, 2008).

5.3. Descripción diseño experimental.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres repeticiones y tres tratamientos a una concentración de 8.45×10^8 CIP/ml (Cuerpos de Inclusión Poliedral/mililitros); el cual consiste en el número de replicas que se encuentra por tratamientos, con una asignación aleatoria de los tratamientos a las unidades experimentales (Hinkelmann & Kemphorne, 1994).

Cuadro 2. DCA por cada una de las repeticiones y tratamientos.

REPETICIONES	TRATAMIENTOS		
1	T3	T1	T2
2	T2	T3	T1
3	T1	T2	T3

	T1: Hembra adulto contaminado + Macho adulto contaminado
	T2: Hembra adulto contaminado + Macho adulto sin contaminar
	T3: Macho adulto contaminado + Hembra adulto sin contaminar

5.4. Definición de los tratamientos

5.4.1. Adulto hembra contaminada + Adulto macho contaminado (MC + HC):

Se tomó un adulto hembra y un adulto macho contaminados con el VPNSf a una concentración de 8.45×10^8 CIP/ml Las unidades experimentales fueron de 10 parejas por tratamiento con un total de 20 adultos por tratamiento.

5.4.2. Adulto hembra contaminada + Adulto macho sin contaminar (HC + M):

Se tomó un adulto hembra contaminado del VPNSf a una concentración de 8.45×10^8 CIP/ml con un adulto macho sin contaminar. Las unidades experimentales por tratamiento fueron de 10 parejas por tratamiento con un total de 20 adultos por tratamiento.

5.4.3. Macho adulto contaminado + Adulto hembra sin contaminar (MC + H):

Se tomó un adulto macho contaminado con el VPNSf a una concentración de 8.45×10^8 CIP/ml con un adulto hembra sin contaminar. Las unidades

experimentales fueron de 10 parejas por tratamiento con un total de 20 adultos por tratamiento.

5.5. Elaboración de la dosis del VPN de una cepa de *Spodoptera frugiperda*

a) Producción de la cepa de VPNSf.

Se colocó la dieta semilíquida sobre un recipiente específico para la producción hasta quedar en estado sólido, una vez totalmente fría se procedió a inocular con una solución viral la dieta, posteriormente se introdujo en cada recipiente entre 1 a 2 larvas de *Spodoptera frugiperda* dependiendo del tamaño de estas. Después de 6 días se procedió a revisar las larvas de *Spodoptera frugiperda* que mueren por virus y colocándose en un recipiente de plástico con etiqueta (nombre de la cepa, número de LE, fecha de cosecha). Cada una de las larvas equivalentes contiene una concentración de CIP por ml de la solución del virus (Rizo & Narváez, 2001).

b) Conteo de Cuerpos de inclusión poliedral.

1. Centrifugación

Lo primero fue colocar la suspensión viral en los tubos de la centrifugadora, posteriormente dentro de la misma y se centrifugó por 1 minuto a 3000 rpm (Revoluciones por minuto). De la primera centrifugación se eliminó el fondo siendo basura, proteínas y restos del cuerpo de las larvas. Los sobrenadantes (El sobrenadante es el líquido suspendido donde se encuentra el virus) se volvió a centrifugar por 10 minutos a 6000 rpm, sucediendo lo contrario lo que queda en el fondo es el virus y el líquido suspendido son restos.

Para poder succionar el virus en el fondo del tubo se le agregó una cantidad mínima de agua destilada, con una pipeta Pasteur se succiono la solución y se depositó en un vial estéril, siendo ésta la solución madre de la cual se prepararán 3 diluciones, 1:10, 1:100, 1:1000. De la dilución 1: 1000 se realizó el conteo CIP con una cámara de Neubauer (Hemocitómetro) se colocó un cubreobjetos y se colocó la placa en un microscopio de contraste de fase.

2. Localización de los Cuerpos de Inclusión Poliedral en el microscopio

a. Se uso un objetivo de 25 x y un ocular 16 x.

- b. Se contó los poliedros en 5 cuadros grandes, uno en cada esquina de la cuadrícula y uno en el centro. Omitiendo los poliedros que tocan el lado superior y el derecho de cada cuadro, luego se sacó un promedio de los conteos realizados.
- c. El resultado obtenido se multiplicó por $5 \times 104 \times 1000$, donde 5 es el número de cuadros contados, 104 es el área de profundidad de la cámara y el volumen contenido en la cámara y 1000 es la solución usada. El resultado es igual a X CIP/ml.

5.6. Definición y clasificación de las variables a evaluar.

- **Mortalidad:** Cantidad de organismos que mueren en un periodo de tiempo en un determinado lugar. Se observó la sintomatología del patógeno en la postura de huevo, larva, pupa y adulto.
- **Sobrevivencia:** Capacidad de los seres vivos de sobrepasar circunstancias específicas que atentan contra su vida. Se observó la sintomatología del patógeno en la progenie de *Spodoptera frugiperda* (postura de huevo, larva viva, pupa y adulto).
- **Daño:** Acción o efecto negativo sobre un organismo vivo. se realizó una descripción física de daños que se presente en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda*.
- **Postura de huevos:** Número de masas huevos durante el ciclo de vida de una especie de la primer y segunda generación.
- **Mortalidad de la eclosión de la segunda generación:** Muerte de un organismo ante condiciones adversas. de manera visual se contó las masas de huevos que no eclosionaron de la segunda generación de adultos procedentes de los adultos contaminados

5.7. Definición de la muestra.

El número de muestra total es de 180 adultos de *Spodoptera frugiperda*, se aparearon 10 parejas por cada tratamiento siguiendo la metodología de Young, (1990).

5.8. Establecimiento del bioensayo.

5.8.1. Establecimiento del pie de cría de *Spodoptera frugiperda*.

Se recolectaron larvas de *Spodoptera frugiperda* de un pie de cría del laboratorio de cría de la UNAN-León dónde pasaron por un periodo de cuarentena para observar si no presentan alguna enfermedad ya sean hongos o bacterias, se les alimento con dieta artificial posterior a eso se cruzaron con las larvas que se encuentren en el laboratorio de cría para aumentar la población y obtener el pie de cría que se necesitó, una vez obtenido el número de larvas se procedió a esperar hasta que lleguen a pupa donde se sexaron para obtener la cantidad de hembras y machos que se requería, al emerger los adultos se trasladaron al laboratorio de entomología ubicado en el CIRCB de la UNAN-LEÓN, dónde se realizó la fase de infección del virus y apareamiento por tratamiento.

5.8.2. Elaboración de la dieta artificial.

La dieta con la cual se alimentaron las larvas se preparó de la siguiente manera: se cocinó frijol y soya separadamente, cuando estaba suave se retiró el agua y se revolvió individualmente en una licuadora. En otro recipiente se mezcló el germen de trigo, la proteína de soya, el agar y la levadura, después de mezclados se adiciono con el producto molido en 2400 ml de agua de grifo y se introdujo en la autoclave por 20 minutos para esterilizarse (Narváez, 2013).

Después de la esterilización se esperó que la mezcla bajara a una temperatura de 60° C, se disolvió el ácido sórbico, el ácido ascórbico, metil paraben, el benlate, la tetraciclina y las vitaminas, se homogenizo, posteriormente se procedió a colocar en una bandeja forrada con papel aluminio, se tapa y se refrigera, una vez que tuvo consistencia, se cortó en pedazos forma de cuadritos y lista para alimentar las larvas de *Spodoptera frugiperda*.

5.8.3. Apareamiento de adultos de *Spodoptera frugiperda* contaminados con VPN y no contaminados.

Una vez los adultos al laboratorio de entomología se procedió a infectar a los adultos hembras o machos de *Spodoptera frugiperda* que fue necesario aplicarles VPNSf. Primeramente se forraron tazas de polietileno de 16 onzas con papel reciclado y tapadera de papel reciclado la cual fueron prensadas con una liga para evitar que el adulto de

Spodoptera frugiperda se escape, una vez forradas las panas se realizaron pequeñas esferas de algodón bañados en agua y miel para alimentar los adultos, la esfera de algodón que contenía miel fue envuelto en gazas para evitar que el adulto se infecte de manera externa, para asegurar su contaminación solo por vía ingestión a este mismo se le agregó con una jeringa 2cc de VPNSf, realizada la contaminación, se procedió a trasladar a los adultos individualmente dejándolos expuestos al virus por 24 horas. Al estar contaminadas se seleccionaron 20 adultos para cada tratamiento T1 (HC+MC), T2 (HC+M), T3 (MC+H), se formaron 10 parejas por tratamiento, cada pareja fue colocada en tazas forradas diferente con esferas de algodón de agua y miel sin contaminar dependiendo del tratamiento, las masas de huevos de las primeras 24h del apareamiento se desecharon, por lo que se empezaron a recolectar las masas de huevos después de 48h siendo apareados.

5.9. Análisis de datos.

Se introdujo la base de datos en el programa Microsoft Excel 2016, para ser exportado al programa **R** donde se realizó un modelo lineal generalizado con un nivel de confiabilidad del 95% para determinar el efecto significativo de la dosis por cada tratamiento.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- **Mortalidad y sobrevivencia en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda*.**

En cuanto a la mortalidad de eclosión de la primera generación de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* el tratamiento que presentó mejores resultados fue T1 (Hembra contaminada + Macho contaminado) con un promedio de 87.8% de mortalidad, seguido del tratamiento T3 (Macho contaminado + Hembra sin contaminar) con un promedio de 56.8%, T2 (Hembra contaminada + Macho sin contaminar) presentó el promedio más bajo de mortalidad con 43.1% (figura 1).

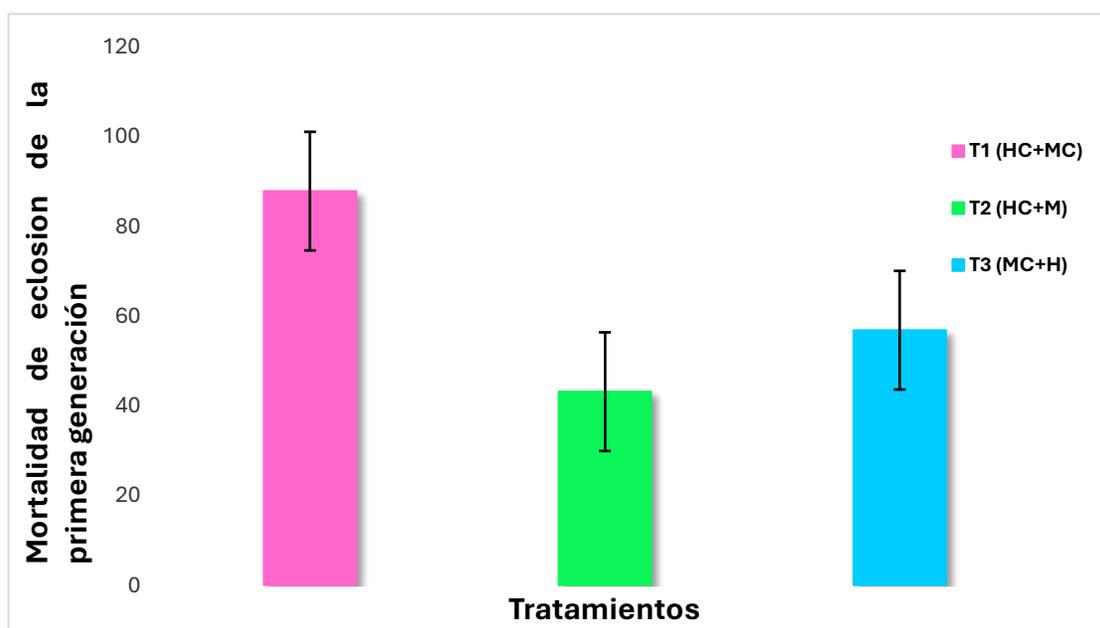


Figura 1. Mortalidad de la eclosión de la primera generación de los adultos de *Spodoptera frugiperda* con la contaminación transovárica del VPNSf por tratamiento.

El tratamiento T1 presentó diferencia significativa al ser comparado con T2, pero no presentó diferencia significativa con T3. El T1 presentó un estimado de 1.31, con intervalos de 5.62 hasta 3.06 veces la mortalidad, mientras que el T3 presentó un estimado de 3.44 con intervalos de 1.95 hasta 0.61 veces la mortalidad, mientras

que el T2 presentó un estimado de 3.82, con intervalos de 2.14 hasta 6.80 veces la mortalidad (Cuadro 3).

En la variable de mortalidad de eclosión de la primera generación con la contaminación transovárica de VPNSf de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* con una confiabilidad del 95% se rechaza la hipótesis nula de igualdad entre los tratamientos.

Cuadro 3. Resumen del modelo lineal generalizado (estimado, error estándar, Estadístico Z, valor de p e intervalos de confiabilidad inferior (ICI) y superior (ICS)) para la mortalidad promedio de la primera generación de la progenie de los adultos de Spodoptera frugiperda con el VPNSf en los diferentes tratamientos a una confiabilidad del 95 %

Término	Estimado	Error estándar	Estadístico	p.valor	IC Inferior	IC Superior
(Intercepto)						
T1 (HC + MC)	1.3123E+38	60475.8868	2892.85736	0	5.6272E+28	3.0603E+47
T2 (HC + M)	3.8255E-20	5722978.82	0.05669893	0.03	2.1497E-33	6.808E-07
T3 (MC + H)	3.4425E-14	5722978.82	0.13669543	0.09	1.9538E-27	0.61262639

Con respecto a la sobrevivencia de eclosión de la primera generación de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* con la contaminación transovárica del VPNSf el tratamiento que presentó mayor sobrevivencia fueron T1 (Hembra contaminada + Macho contaminado) y T2 (Hembra contaminada + Macho sin contaminar) con un promedio de 80.7%, siendo el más bajo T3 (Macho contaminado + Hembra sin contaminar) con un promedio de 33.3% (figura 2).

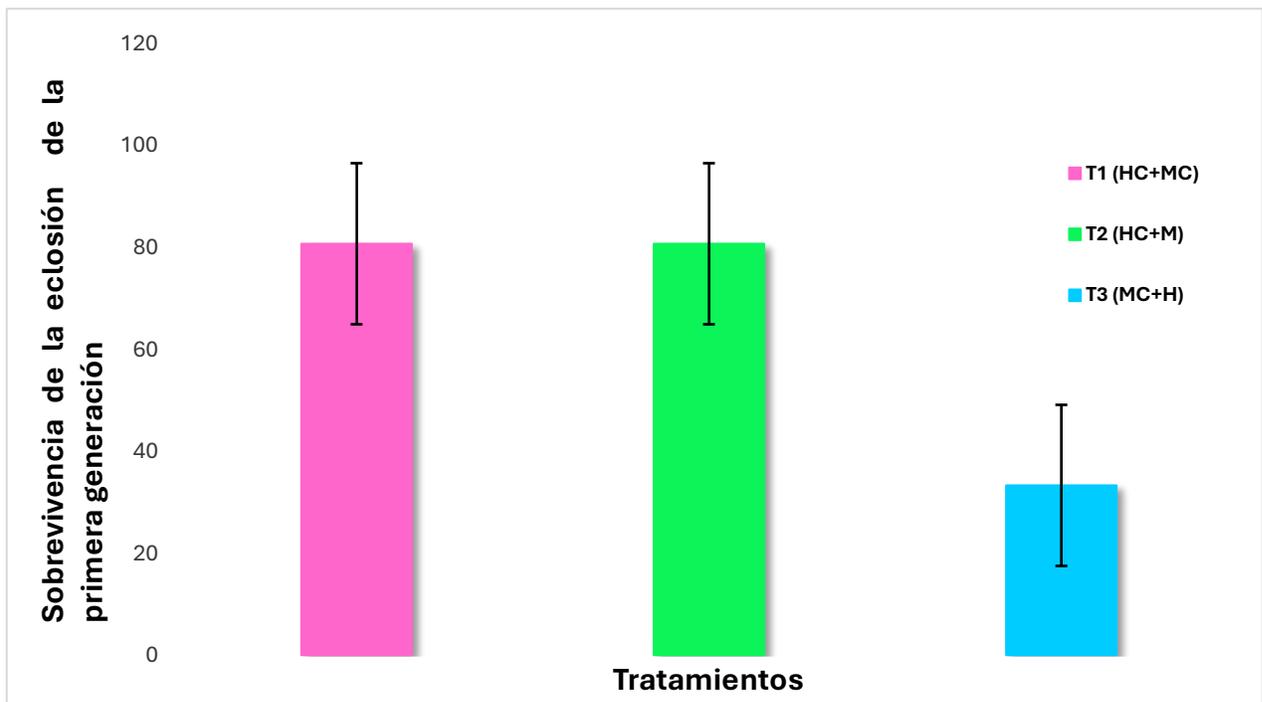


Figura 2. Sobrevivencia de la eclosión en la primera generación de adultos de *Spodoptera frugiperda* con la contaminación transovárica del VPNSf por tratamiento.

El T1 presentó diferencia significativa con T3 con un nivel de confiabilidad del 95%, pero T1 no presentó diferencia significativa con el T2. El T1 obtuvo un estimado de 80.64, con intervalos de 70.80 hasta 90.92 veces la mortalidad, el T2 en cambio su estimado fue de 1, con intervalos de 0.83 hasta 0.19 veces la mortalidad, el T3 presentó un estimado de 0.41 con intervalos de 0.32 hasta 0.52 veces la mortalidad (cuadro 4)

En la variable de sobrevivencia de eclosión de la primera generación con la contaminación transovárica de VPNSf de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* con una confiabilidad del 95% se rechaza la hipótesis nula de igualdad entre los tratamientos.

Cuadro 4. Resumen del modelo lineal generalizado (estimado, error estándar, Estadístico Z, valor de p e intervalos de confiabilidad inferior (ICi) y superior (ICS)) para la sobrevivencia de la eclosión en larvas de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovarica del VPNSf en los diferentes tratamientos a una confiabilidad del 95 %

Término	Estimado	Error estándar	Estadístico	p.valor	IC Inferior	IC Superior
(Intercepto)						
T1 (HC + MC)	80.640419	1.06183655	4.5953E+29	0	70.8099835	90.9218185
T2 (HC + M)	1	1.09417428	1	1	0.83527021	1.19721736
T3 (MC + H)	0.41478291	1.12749685	0.00059319	0	0.32627979	0.52204578

En la mortalidad acumulada durante el ciclo biológico de la primera generación de los tratamientos evaluados el mejor fue T1 (Hembra contaminada + Macho contaminado) presentó un promedio de 33.01% de mortalidad acumulada, seguido del tratamiento T3 (Macho contaminado + Hembra sin contaminar) con un promedio de 14.33%, T2 (Hembra contaminada + Macho sin contaminar) presentó el promedio más bajo de mortalidad con 11.32% (figura 3).

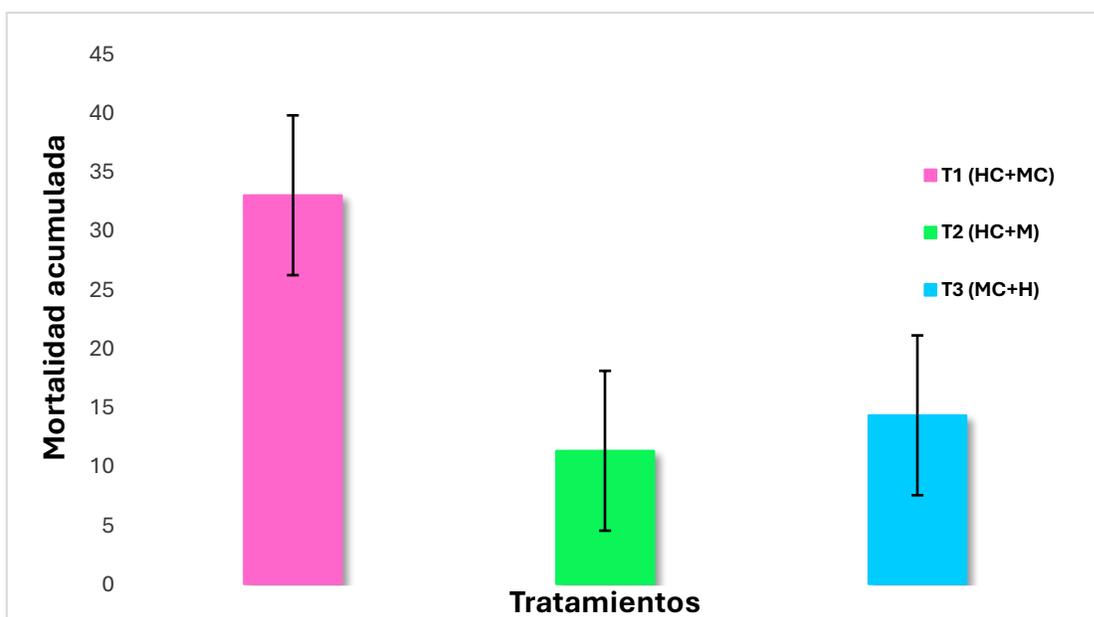


Figura 3. Mortalidad acumulada durante el ciclo biológico de la primera generación de los adultos de *Spodoptera frugiperda* con la contaminación transovárica del VPNSf.

Los tratamientos presentaron diferencia significativa entre ellos con un nivel de confiabilidad del 95%. El T1 presentó un estimado de 2.16 con intervalos de 1.74 hasta 2.71 veces la mortalidad, el T3 presentó un estimado de 7.71 con intervalos de 8.42 hasta 7.06 veces la mortalidad, en cambio el T2 presento estimados de 3.80, con intervalos de 4.15 hasta 3.48 veces la mortalidad (cuadro 5).

En la variable de mortalidad acumulada de la primera generación con la contaminación transovárica del VPNSf en los tres tratamientos con una confiabilidad del 95% se rechaza la hipótesis nula de igualdad entre los tratamientos.

Cuadro 5. Resumen del modelo lineal generalizado (estimado, error estándar, Estadístico Z, valor de p e intervalos de confiabilidad inferior (ICI) y superior (ICS)) para la mortalidad acumulada promedio de la primera generación de larvas de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovárica del VPNSf en los diferentes tratamientos a una confiabilidad del 95 %.

Término	Estimado	Error estándar	Estadístico	p.valor	IC Inferior	IC Superior
(Intercepto)						
T1 (HC + MC)	2.168E+14	11.7048115	673336.174	0	1.7489E+12	2.7146E+16
T2 (HC + M)	3.80323E-10	32.4597221	0.00196945	0	4.1521E-13	3.4837E-07
T3 (MC + H)	7.7158E-09	32.4597221	0.00465413	0	8.4235E-12	7.0675E-06

En cuanto a la mortalidad en el tiempo de la primera generación de los adultos de *Spodoptera frugiperda* con la contaminación transovárica del VPNSf a los 41 día después de establecido el ensayo, el tratamiento que presentó mejor mortalidad en el tiempo fue T1(Hembra contaminada + Macho contaminado)siendo de 99 individuos, posteriormente el T2 (Hembra contaminada+ Macho) presentó una mortalidad de 63 individuos y por último el tratamiento T3 (Macho contaminado+ Hembra sin contaminar) de 32 individuos (figura 4).

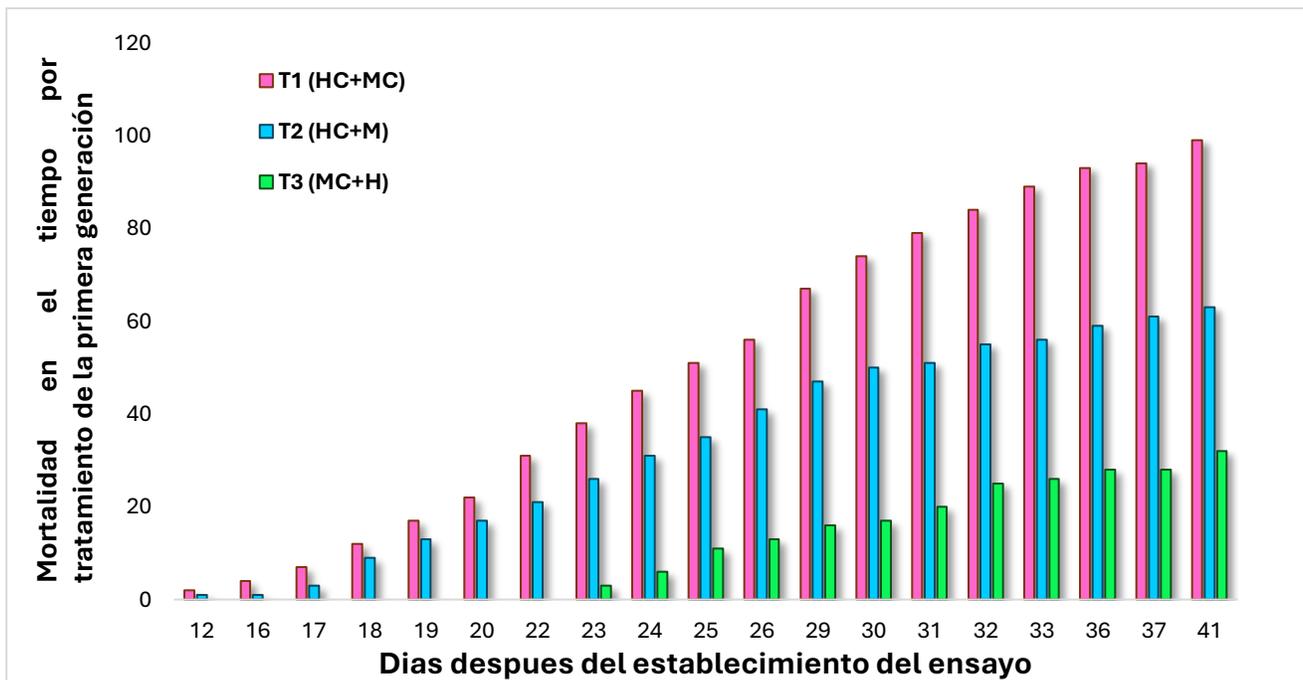


Figura 4. Mortalidad en el tiempo por tratamiento de la primera generación de los adultos de *Spodoptera frugiperda* con la contaminación transovárica del VPNSf por tratamiento.

Los mayores porcentajes de mortalidad en la eclosión de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* se presentaron en T1(Hembra contaminada + Macho contaminado) se debe a que los adultos al ser contaminados con VPNSf el virus no encontró condiciones para reproducirse horizontalmente optando por una contaminación transovárica de forma de infección encubierta subletal como instinto de supervivencia.

La transmisión vertical es sugerida como una estrategia de supervivencia para el virus que persiste en insectos infectados subletalmente durante períodos de baja densidad de huéspedes cuando las oportunidades de transmisión horizontal están muy restringidas (Cory y Myers, 2003). Por lo que su virulencia fue baja según Williams *et al.* (2017) las cepas transmitidas verticalmente deben tener una virulencia baja para transmitirse eficazmente a la siguiente generación de huéspedes por medio de los adultos supervivientes. La baja virulencia del virus se atribuye a una infección encubierta que no presenta ningún signo de enfermedad de VPN letal; afectando la fecundidad y fertilidad de los adultos siendo en mayor medida donde ambos padres fueron contaminados T1.

Un estudio realizado por Sait *et al.* (1994) suponen que cualquier virus subletal presente podría estar restringido a las gónadas de los adultos, ya que se ha demostrado en este sistema efectos en la fecundidad. Los resultados obtenidos por Burden *et al.* (2002) muestran alta proporción de ovarios individuales (90%) y testículos (70%) dando positivo para el ARNm viral, pero también se obtuvo resultados positivos en el resto del cuerpo adulto. En todo caso, la ubicación del virus que se replica en las gónadas de los adultos resalta un supuesto mecanismo por el cual los niveles subletales del virus podrían ser causa de una reducción significativa en la fertilidad masculina como femenina.

En cuanto a la sobrevivencia de la eclosión de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* se dio en T1(Hembra contaminada + Macho contaminado) y T2 (Hembra contaminada + Macho sin contaminar) debido a la dosis de baja concentración utilizada de VPN para la contaminación, los sobrevivientes presentaron resistencia al VPN por medio de la contaminación transovárica la cual

se asocia a una infección encubierta subletal obteniendo bajos niveles de replicación del virus en cada uno de los individuos.

Este mismo tratamiento también presentó los mayores valores de mortalidad acumulada de la primera generación durante el ciclo biológico y la mortalidad en el tiempo del ciclo biológico de la progenie de *Spodoptera frugiperda* debido al gasto de recursos para su desarrollo que utilizó cada individuo al presentar resistencia al virus por medio de la contaminación transovárica, limitando la replicación de los cuerpos de Inclusión Poliedral, lo que hizo acortar o alargar su ciclo de vida entre estadios, en etapa de pre-pupa o pupa.

Cabodevilla *et al.* (2011) dice que las infecciones subletales por baculovirus suelen ser frecuentes en poblaciones naturales de lepidópteros, lo que conlleva al huésped en invertir recursos en la supresión de la replicación del virus posterior al consumo de OB, el proceso de infección inicial, posteriormente durante el crecimiento de los insectos y desarrollo hasta la etapa adulta. Se encontró evidencia de un mayor tiempo de desarrollo larvario y reducciones significativas en el peso de las pupas y la emergencia de adultos.

Otros de los factores que influyó fue el hacinamiento que se dio durante su etapa larval al ser grandes las cantidades de descendientes que fueron colocados en limitados recipientes por el reducido material para el ensayo, causó estrés en las larvas aumentando la replicación del virus de forma subletal. No obstante, cuando son sometidos a períodos de estrés, provocados por una mala dieta, hacinamiento o presencia de otros patógenos latentes; las infecciones subletales pueden activarse y convertirse en una infección manifiesta letal que produce OB para su posterior transmisión horizontal (Fuxa *et al.*, 1999).

- **Efectos de la contaminación transovárica del VPNSf en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda***

Las masas de huevo procedentes de la primera generación con la contaminación transovárica del VPNSf en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda*, presentaron en el T1 (Hembra contaminada + Macho contaminado), T2 (Hembra contaminada + Macho sin contaminar), T3 (Macho contaminado + Hembra sin contaminar) retraso en la fecha de postura, el T1 y T2 fueron los primeros en que las masas de huevos eclosionaran; se obtuvo solo de eclosión de T1 y T2 de las 9 fechas de postura se obtuvieron 7 fechas, en cambio T3 obtuvo la eclosión de 4 fechas de postura de 10 que fueron realizadas.

Las larvas sobrevivientes de la primera generación con la contaminación transovárica del VPNSf en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda*, tanto en T1, T2 Y T3 hubo disminución de peso, de movilidad y de tamaño, así como retraso entre estadios durante su etapa larval en los resultados presentados por Javier *et al.*, (2020) sobre larvas de *Spodoptera picta* el tiempo de desarrollo entre larvas fue 2 días más largo en comparación a insectos de control concordando con lo observado durante el ensayo. Se observó a las larvas levemente infectadas inquietas y móviles. Considerado como signos y síntomas iniciales de infección por VPN en *S. picta*; los primeros estadios larvales L2, L3 y hasta L4 fueron los más afectados al presentar mayores síntomas de VPN como: movilidad media en T2, T3 y mayor movilidad en T1.

Las larvas presentaron pequeños puntos negros en cada costado de sus segmentos tegumento rosado con amarillo bajo, cabeza de color oscuro claro a oscuro, abdomen inflamado, al ser tocadas las larvas se retorcián y expulsaban un líquido viscoso de color amarillo por el aparato bucal. La infección por *Sppi*NPV en las larvas en cuarto y quinto estadio se caracterizaba por la coloración rosada de la cutícula, un síntoma característico en las especies de *Spodoptera*. El tegumento en las larvas subletalmente infectadas se retorció al tocarlo y expulsaba un líquido viscoso de la boca (Javier *et al.*, 2020), la fragilidad y la lisis son efecto de la

destrucción completa de las células epidérmicas, lo cual es un síntoma común de infección por VPN en larvas de *Spodoptera litura* (Ebora, 1987).

Ciertas larvas presentaban encogimiento de los segmentos al querer cambiar de instar. La fusión de segmentos abdominales de las larvas infectadas con *Sppi*NPV puede atribuirse a la manipulación viral de la metamorfosis larval (Ikeda *et al.*, 2015). Así como un hilo oscuro en su penúltimo segmento. El tegumento, las patas y la cápsula de la cabeza de las larvas infectadas, eran de color amarillo claro. El séptimo segmento abdominal entre las dos franjas negras estaba hinchado y de color amarillo. Los últimos segmentos abdominales parecían fusionados formando una gruesa franja negra transversal rodeando el cuerpo de la larva (Javier *et al.*, 2020).

Algunos fueron encontrados de manera acuosa en el recipiente de coloración rosado crema o marrón, los síntomas que se observaron en este estudio también fueron los mismos descritos por Barreto *et al.* (2005), en el que se observaron órganos internos rosados de *S. frugiperda* infectados por NPV, totalmente destruidos y licuados en el momento de la muerte. Y otras mostraron cutícula frágil, sobre todo en la parte de la cabeza al no lograr realizar el cambio de instar en su totalidad otro estudio realizado por Granados y Williams (1986) demuestra que, en las etapas avanzadas del desarrollo de la enfermedad, las larvas tendían a ser lentas y descolorida con una apariencia aceitosa.

A la hora de su muerte, la cutícula aceitosa se volvió más oscura los cuales contenía tejidos internos licuados. Después de su muerte, la cutícula se volvió frágil y rompiéndose en millones de poliedros, lo que puede contaminar el alimento del insecto huésped. Había larvas en L4 y L5 que presentaron oscurecimiento en el tegumento, en la parte abdominal color gris oscuro, mayor tamaño de la cabeza que de los últimos segmentos, disminución de apetito, otras larvas presentaron color verde amarillento con manchas rosadas en los últimos segmentos, otras con tegumento de manchas oscuras, amarillas y grises. Valicente (1988) aseguró que la decoloración, la palidez, la licuefacción del tegumento y la pérdida de apetito son signos comunes de larvas infectadas por baculovirus.

Pseudo-patas pálidas, aumentaron su canibalismo sobre todo en T1 hacia larvas más débiles, también presentaron una coloración más oscura y de mayor tamaño que las larvas de T2 y T3. La infección por VPN en la mayoría de las veces resulta en un mayor aumento de peso de las larvas, al alimentarse más para desarrollar abundantes tejidos para la producción de OB (O'Reilly y Miller, 1991), lo que conlleva a la liberación de más OB para una alta probabilidad de que el virus infecte a más insectos huéspedes (Carballo *et al.*, 2017).

Cory y Myers (2003) informaron sobre la correlación positiva que existe entre el aumento de peso de las larvas y la producción de OB, también en la replicación masiva in vivo del VPN, se necesita un crecimiento y desarrollo constante las larvas hasta su tamaño máximo que conlleva a una producción de cuerpos de inclusión poliédricos, propagando el virus de manera continua del dentro del cuerpo huésped. Si hay una muerte temprana del huésped, esto resultaría en un menor rendimiento del VPN (Ebora, 1987).

Las larvas se dirigían a la parte superior de la taza entre la tapadera y la lámina de papel higiénico inmóviles estas mismas observaciones coinciden con Javier *et al.* (2020) en donde las larvas durante su etapa avanzada de la infección se volvieron inmóviles y generalmente permanecían en el fondo del contenedor de cría junto al revestimiento de papel. Siendo las larvas rosadas, volviéndose extremadamente frágiles, se lisaban y al tocarse se rompían fácilmente. Estas mismas a los días eran encontradas colgadas de la lámina de papel higiénico en forma de L

Las larvas en L5 y L6 también se vieron afectadas por bacterias en los tres tratamientos sobre todo en L6, al momento de empupar las larvas en pre-pupa contenían deformaciones, así como retraso en el tiempo de empupar, algunas larvas antes de empupar mostraban encogimiento y coloración oscura en la parte superior y pálida en el abdomen, ciertas larvas quedaron en fase intermedia entre larva-pupa, ya sea por síntomas de bacteria o de VPN no logrando completar esa etapa. La mortalidad en larvas de *S. litura* infectadas con SppiNPV fue baja, cinco larvas

contaminadas no lograron completar la pupa, resultando en intermedios larva-pupa (Javier *et al.*, 2020).

Las pupas de T2 presentaron un mayor tamaño que las de T3 y la de T1 mostraron un mayor tamaño en comparación con las pupas del T2. Miller (2005) en el presente estudio, la prolongación del desarrollo de las larvas infectadas condujo a la formación de pupas pesadas, aunque esto no resultó en un aumento de la productividad femenina, ya que generalmente se observa en hembras sanas de *L. dispar*. También hubo 1 pupa que contenía coloración amarilla, blanco y café. Las larvas de gusano cortador de control se desarrollaron normalmente en pupas, mientras que tres pupas supervivientes en el grupo infectado presentaron tejido de color amarillo blanquecino y emergió como adultos con alas cortas malformadas. Los adultos infectados con SppiNPV mostraron un abdomen marrón suave, frágil y fácilmente lisible (Javier *et al.*, 2020).

Se presentó retraso en la emergencia de los adultos, por lo que el tiempo de vida del adulto aumentó, algunos adultos presentaron deformaciones en las alas o alas cortas a la hora de emerger, solo se obtuvo segunda generación de T1 y T2, ya que de T3 solo emergieron 4 hembras estudios realizados por Legacion y Gabriel (1978) describieron que larvas sobrevivientes a la infección por VPN pueden emerger como adultas, pero con alas cortas y malformadas. Aunque, es posible que los adultos de larvas infectadas con NPV de *S. litura* todavía aparenten tener alas normales, emerjan como adultos normales capaces de reproducirse, es posible que no produzcan descendencia (Ehora, 1987). Cada uno de estos síntomas podría ser efecto de la contaminación transovárica presente en la progenie de *Spodoptera frugiperda* a lo largo de su ciclo biológico.

- **Mortalidad de eclosión de la progenie de la segunda generación de *Spodoptera frugiperda*.**

En base a la mortalidad de eclosión de la segunda generación de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* con la contaminación del VPNSf el tratamiento que presentó mayor mortalidad de eclosión fue T2 (Hembra contaminada + Macho sin contaminar) con un valor de 36.36%, mientras que T1 (Hembra contaminada + Macho contaminado) obtuvo un valor de 29.87%, el T3 no presentó descendencia en la segunda generación (figura 5).

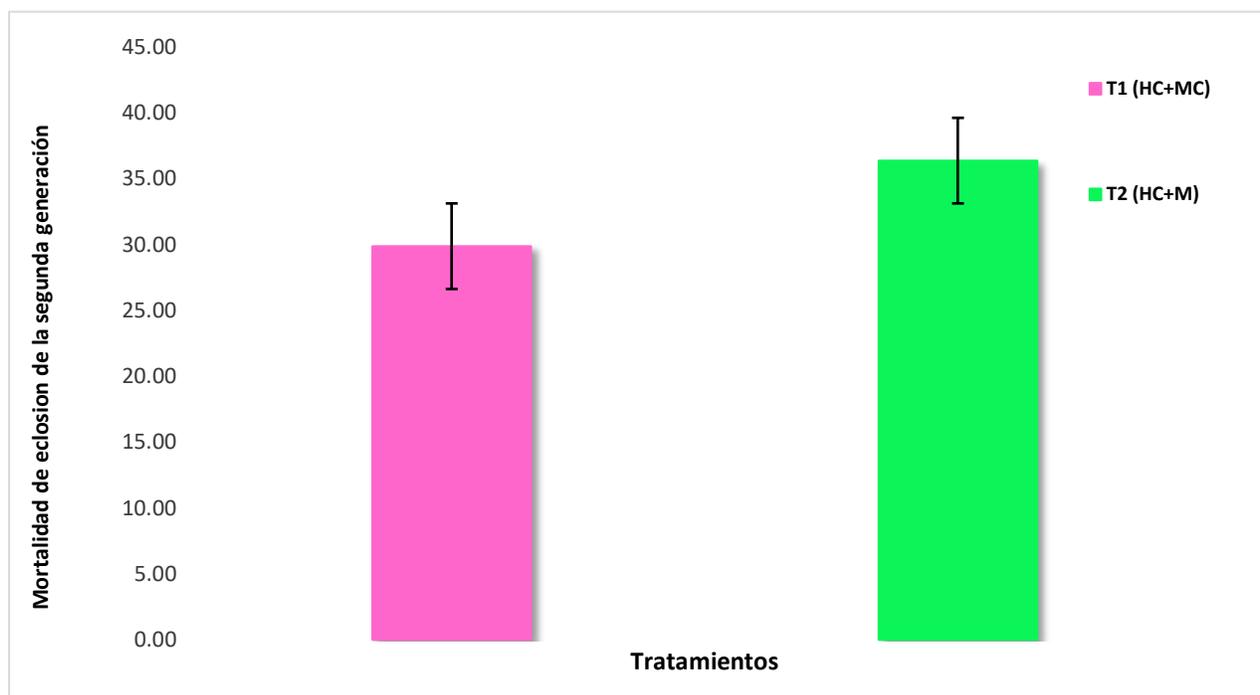


Figura 5. Mortalidad de eclosión de la segunda generación de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovárica del VPNSf.

Los tratamientos no presentaron diferencia significativa entre ellos con un nivel de confiabilidad del 95%. El T1 presentó un estimado de 0.33 con intervalos de 0.02 hasta 4.66 veces la mortalidad, en cambio el T2 presentó un estimado de 1.64 con intervalos de 0.11 hasta 23.10 veces la mortalidad (cuadro 6).

En la variable de mortalidad de eclosión de la segunda generación con la contaminación transovárica de VPNSf de la progenie de adultos de *Spodoptera*

frugiperda con una confiabilidad del 95% se acepta la hipótesis nula de igualdad entre los tratamientos.

Cuadro 6. Resumen del modelo lineal generalizado (estimado, error estándar, Estadístico Z, valor de p e intervalos de confiabilidad inferior (ICl) y superior (ICS)) para la mortalidad de la eclosión de larvas de la segunda generación de Spodoptera frugiperda con la contaminación transovárica del VPNSf en los diferentes tratamientos a una confiabilidad del 95 %

Termino	Estimado	Error estandar	Estadístico	P.valor	IC.inferior	IC.superior
T1 (HC + MC)	0.33287108	3.85742553	0.44043165	0.42	0.0237541	4.66459027
T2 (HC + M)	1.64872127	3.85742553	1.44773461	0.71	0.11765484	23.1038669

Los mayores porcentajes de mortalidad en la eclosión de la progenie de adultos de la segunda generación de *Spodoptera frugiperda* contaminados con VPNSf se presentaron en T2 (Hembra contaminada + Macho sin contaminar) se debe a que la contaminación vertical (transovárica) por medio de infecciones encubiertas subletales, las réplicas del virus se mantienen en la segunda generación afectando nuevamente la fecundidad de la progenie de los adultos contaminados con VPNSf.

Un estudio realizado por Akhanaey *et al.* (2020) demostró que los adultos sobrevivientes de *Lymantria dispar* que fueron infectados con OB transmitieron verticalmente el virus a las descendencias y este mismo se detectó en dos generaciones siguientes mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Por lo que su persistencia en la siguiente generación causa una menor resistencia afectando la eclosión y fertilidad de los adultos.

Cabodevilla *et al.* (2011) menciona que los insectos de la sexta generación de una línea infectada subletalmente demostraron ser dos veces más susceptibles a la sobreinfección por OB del mismo aislado que los insectos de control que se originaron a partir de una colonia libre de virus de idéntica composición genética. Al adoptar este enfoque, se asegura de que las diferencias biológicas en la susceptibilidad pudieran atribuirse a los efectos o costos asociados con la enfermedad subletal y no se debieran a diferencias genéticas entre poblaciones.

Burden *et al.* (2002) detectó casi 100% de infección subletal en 10 poblaciones silvestres diferentes de *Mamestra brassicae*, de las cuales tres fueron criadas en el laboratorio en condiciones limpias y probadas en la quinta y octava generación, lo que demuestra que el virus se transmitió verticalmente y se estaba replicando continuamente en niveles bajos.

VII. CONCLUSIÓN

La evidencia que se presentó en esta investigación demuestra que:

Con la contaminación transovárica del VPNSf en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda*, T1 presentó mayor mortalidad y sobrevivencia tanto de eclosión como durante el ciclo biológico de la progenie sobreviviente, por lo que la baja concentración de la cepa de VNPSf influyó en la contaminación transovárica al ser ambos padres contaminados y permanecer de forma encubierta en la progenie sobreviviente de *Spodoptera frugiperda* como instinto de supervivencia, causándoles la muerte o alargando su ciclo de vida, además de aumentar su replicación en períodos de estrés donde altas cantidades de individuos ocupan un espacio reducido pasando de una contaminación vertical a una horizontal.

La progenie sobreviviente de *Spodoptera frugiperda* contaminados con VPNSf presentaron síntomas característicos de VPNSf lo que se atribuye a efectos de la contaminación transovárica y transestadial.

Con la contaminación transovárica del VPNSf en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* la mayor mortalidad en la eclosión en la segunda generación se dio en el tratamiento T2 debido a la prevalencia de VPN en la siguiente generación por medio de la contaminación transovárica presente en la primera generación.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones de contaminación vertical con dosis altas, medias y bajas de VPNSf para determinar si existe relación entre la dosis utilizada y la transmisión vertical en la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda*.
- Realizar la contaminación de los individuos en distintos estadios para observar el comportamiento de la contaminación transovárica en la siguiente generación.
- Llevar a cabo investigaciones de la transmisión vertical durante varias generaciones para observar la resistencia de las demás generaciones al VPNSf.
- En investigaciones futuras aislar el testigo del área donde se llevará a cabo la manipulación de VPN, así como de los individuos contaminados.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agudelo Viana, G., Aigner Aburto, J. M., & Ruiz Restrepo, J. (2008). Diseños de investigación experimental y no-experimental. *La Sociología en sus Escenarios*, (18), 1–46. <https://hdl.handle.net/10495/2622>

Akhanaev, Y. B., Belousova, I. A., Lebedeva, D. A., Pavlushin, S., V y Martemyanov, V. V (2020). A comparison of vertical transmission of high- and low-virulence nucleopolyhedrovirus strains in *Lymantria dispar* L. *Insects*, 11 (7), 455. <https://doi.org/10.3390/insects11070455>

Alves, S. B. (1986). Controle microbiano de insetos. Sao Paulo. <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6896>

Barreto, M. R., Guimaraes, C. T., Teixeira, F. F., Paiva, E., & Valicente, F. H. (2005). Efeitos de isolados do Baculovirus spodoptera em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) e sua caracterização por meio de RAPD. *Neotropical Entomology*, 34, 67-75. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000100010>

Belloncik, S., Mori. H. (1998). Cypovirus. En: Miller, LK, Ball, LA (eds) *The Insect Viruses*. Los Virus. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5341-0_11

Blissard, G., Rohrmann, G. (1990). Baculovirus diversity and molecular biology. *Annual Review of Entomology (Estados Unidos)* v.35, p.127 - 155. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.35.010190.001015>

Bonning, B.C. and Hammock, B.D. (1996). Development of recombinant baculovirus for insect control. *Annual Review of Entomology*, 41:191 – 210. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.001203>

Burden, J. P., Griffiths, C. M., Cory, J. S., Smith, P., & Sait, S. M. (2002). Vertical transmission of sublethal granulovirus infection in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Molecular ecology*, 11(3), 547-555. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01439.x>

Burden, J. P., Nixon, C. P., Hodgkinson, A. E., Possee, R. D., Sait, S. M., King, L. A., & Hails, R. S. (2003). Covert infections as a mechanism for long-term persistence of baculoviruses. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00459.x>

Cabodevilla, O., Villar, E., Virto, C., Murillo, R., Williams, T., & Caballero, P. (2011). Intra-and intergenerational persistence of an insect nucleopolyhedrovirus: adverse effects of sublethal disease on host development, reproduction, and susceptibility to superinfection. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(9), 2954-2960. <https://doi.org/10.1128/AEM.02762-10>

Cáceres, C. A. (2002). Efecto del Ácido Bórico, Neem y Tinopal en dieta de *Spodoptera frugiperda* sobre la tasa de infectividad por el Virus de la Poliedrosis Nuclear. Tesis Ing. Agro. Zamorano, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras. 33 p. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/2321>

Carballo, A., Murillo, R., Jakubowska, A., Herrero, S., Williams, T., & Caballero, P. (2017). Co-infection with iflaviruses influences the insecticidal properties of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus occlusion bodies: Implications for the production and biosecurity of baculovirus insecticides. *PLoS One*, 12(5), e0177301. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177301>

Cave, R. (1995). Manual para la Enseñanza del Control Biológico. Zomorano Academic Press. Honduras. 187p. <https://catalogosiidca.csuca.org/Record/UNANI.009577/Details>

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>

Cory, J.; Bishop, D. (1995). Use of baculoviruses as biological insecticides. In: C. Richardson (Ed.) *Baculovirus expression protocols*. Humana Press. Totowa, USA. <https://doi.org/10.1385/0-89603-272-8:277>

Ebora, R. V. (1987). Laboratory and field evaluation of the nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera litura* (Fab.)(Lepidoptera: Noctuidae). <https://www.ukdr.uplb.edu.ph/etd-grad/2925>

Elnagar, S., Tawfik., M. F. S., y Abdelrahman. T. (1982). Transmisión de la enfermedad del virus de la polihedrosis nuclear (NPV) de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) a través de la exposición de adultos al virus. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* , 94 (1-5), 152-156. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1982.tb02560.x>

Evans, H. F.; Entwistle P. F. (1987). Viral Diseases. In *Epizootiology of insect diseases* Ed. Fuxa, R. Wiley & Sons, Inc. Oxford, England. 311 p. article. <https://www.wiley.com/en-us/Epizootiology+of+Insect+Diseases-p-9780471878124>

Fuxa, J. R. (2004). Ecology of insect nucleopolyhedroviruses. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 103(1), 27-43. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2003.10.013>

Fuxa, J. R., Sun, J. Z., Weidner, E. H., & LaMotte, L. R. (1999). Stressors and rearing diseases of *Trichoplusia ni*: evidence of vertical transmission of NPV and CPV. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74(2), 149-155. <https://doi.org/10.1006/jjpa.1999.4869>

Glare, T. (1995). Virus Entomopatogenos. [En línea] Lincoln, Nueva Zelanda. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/955/1/200849.pdf>

Granados, R.R., y Williams, K. A. (1986). Infección *in vivo* y replicación de baculovirus, en: *The Biology of Baculoviruses* , vol. I, *Propiedades biológicas y biología molecular* (RR Granados y BA Federici, eds.), págs. 89–108, CRC Press, Boca Raton, FL. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571698599800349952>

Haase, S., Ferrelli, L., Luis, M., & Romanowski, V. (2013). Genetic Engineering of Baculoviruses. In V. Romanowski (Ed.), *Current Issues in Molecular Virology—Viral Genetics and Biotechnological Applications*. InTech. <https://doi.org/10.5772/56976>

Hinkelmann, K. & Kempthorne, O. (1994), *Design and Analysis of Experiments*, Vol. 1 of *Introduction to Experimental Design*, Wiley, Hoboken, New York. https://fmipa.umri.ac.id/wp-content/uploads/2016/03/Klaus_Hinkelmann_Oscar_Kempthorne_Design_and_An_BookFi.org_.pdf

Ikeda, M., Hamajima, R., & Kobayashi, M. (2015). Baculoviruses: diversity, evolution and manipulation of insects. *Entomological science*, 18(1), 1-20. <https://doi.org/10.1111/ens.12105>

Isman, M. (2015). ¿Un renacimiento de los insecticidas botánicos? Ciencia de manejo de plagas, 1-6. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/955/1/200849.pdf>

Javier-Hila, A. M., Caoili, B. (2020). Cross-infectivity of a Putative *Spodoptera picta* Nucleopolyhedrovirus to *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). *Philipp J Sci* 149(3A): 887–896. <https://doi.org/10.56899/149.3A.15>

Kane, M., & Golovkina, T. (2010). Common threads in persistent viral infections. *Journal of virology*, 84(9), 4116-4123. <https://doi.org/10.1128/jvi.01905-09>

Kroemer, J.A., Bonning B.C., and Harrison, R. L. (2015). Expression, delivery and function of insecticidal proteins expressed by recombinant baculoviruses. *Viruses*. 7(1): 422-455. <https://doi.org/10.3390/v7010422>

Kukan, B. (1999). Transmisión vertical de nucleopoliedrovirus en insectos. *J. Invertebr. Patol.* 74, 103–111. <https://doi.org/10.1006/jipa.1999.4873>

Lecuona, R., Lecuona, R., Papierok, B., & Riba, G. (1995). Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Hongos entomopatógenos. [http://www.ainfo.inia.uy/consulta/busca?b=ad&id=36759&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22Lecuona,%20R.E.%22&qFacets=autoria:%22Lecuona,%20R.E.%22&ort=&paginacao=t&paginaAtual=1](http://www.ainfo.inia.uy/consulta/busca?b=ad&id=36759&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22Lecuona,%20R.E.%22&qFacets=autoria:%22Lecuona,%20R.E.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1)

Legacion, D. M., & Gabriel, B. P. (1974). Dosage-mortality study on the nuclear polyhedrosis of the common cutworm, *Spodoptera litura* (Fabricius)(Lepidoptera: Noctuidae). <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19780556157>

Levy J., Fraenkel, H., Owens, R. (1994). *Virology*. Prentice Hall. New York, USA.
p. 203, 204, 363 - 365.
<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/936>

Martemyanov, V. V., Pavlushin, S. V., Dubovskiy, I. M., Yushkova, Y. V., Morosov, S. V., Chernyak, E. I., & Glupov, V. V. (2015). Asynchrony between host plant and insects-defoliator within a tritrophic system: The role of herbivore innate immunity. *PLoS one*, 10(6), e0130988.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130988>

Miller, W. E. (2005). Extrinsic effects on fecundity-maternal weight relations in capital-breeding Lepidoptera. *Journal-Lepidopterists Society*, 59(3), 143.
[https://images.peabody.yale.edu/lepsoc/jls/2000s/2005/2005\(3\)143-Miller.pdf](https://images.peabody.yale.edu/lepsoc/jls/2000s/2005/2005(3)143-Miller.pdf)

Morales, J. (2003). Manejo del gusano cogollero del maiz utilizando extratos de plantas. cooperacion tcnica CORPOICA-universidad del Sinu, 10. Article.
<https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/2220>

Moscardi, F. (1983). Utilizacao de Baculovirus anticarsia para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* Embrapa De Soja. No. 23, 21p. Article.
<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/445512>

Moscardi, F. (1999). Assessment of the application of baculoviruses for the control of Lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 257-289. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.44.1.257>

Myers, J. H., Malakar, R. y Cory, J.S. (2000). Effects of sublethal nucleopolyhedrovirus infection on female pupal weight, egg mass size, and vertical transmission in the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *Environmental Entomology*, 29 (6), 1268-1272. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-29.6.1268>

Narváez Solis, C.D.M. (2013). Evaluación de la patogenicidad e infectividad del virus de la poliedrosis nuclear (VPN) en *Spodoptera frugiperda*_J. Smith (Lepidoptera: noctuidae) (Doctoral dissertation).
<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/115>

Narváez, S. C. (1995). Utilización de Virus Entomopatógenos para el Control de Plagas. Informe del Departamento de Control Integrado de Plagas. UNAN-León. Nicaragua. 7 p.

<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/5673/1/221317.pdf>

O'Reilly, D. R., & Miller, L. K. (1991). Improvement of a baculovirus pesticide by deletion of the egt gene. *Bio/technology*, 9(11), 1086-1089. <https://doi.org/10.1038/nbt1191-1086>

Richards, A., Matthews, M., Christian, P. (1998). Eco-logical considerations for the environmental impact evaluation of recombinan baculovirus insecticides. *Animal Review of Entomology (Estados Unidos)* v.43, p.493 -517. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.43.1.493>

Richardson, C., Vlalard, J., Arif, B. (1995). Introduction to the molecular biology of baculovirus. In: D. Richardson (Ed.). *Baculovirus expression protocols*. Humana Press. Totowa, USA. p. 1-24. <https://doi.org/10.1385/0896032728>

Rizo, C. M., Narváez, S. C. (2001). Uso y producción de Virus de la Poliedrosis Nuclear en Nicaragua. Avances en el fomento de productos Fitosanitarios No-Sintéticos. *Revista de Manejo Integrado de Plagas*. 61:90 - 96. <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6896>

Sait, S. M., Begon, M., & Thompson, D. J. (1994). The effects of a sublethal baculovirus infection in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Journal of Animal Ecology*, 541-550. <https://doi.org/10.2307/5220>

Sauer, A. J., Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Nguyen, P., Marec, F., Heckel, D. G., & Jehle, J. A. (2017). Novel resistance to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) in codling moth shows autosomal and dominant inheritance and confers cross-resistance to different CpGV genome groups. *PLoS One*, 12(6), e0179157. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179157>

Santos, E. F. (1998). Uso combinado de VPN *Spodoptera frugiperda*, *Telenomus remus* y aplicaciones de azúcar para el control biológico del cogollero, *Spodoptera frugiperda*, en maíz. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras. Escuela Agrícola

Panamericana. 63 p. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstreams/205c058f-f627-4a3d-9f72-40656962061f/download>

Valicente, F. (1988). Consumo foliar da lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith 1797) infectada com vírus de granulose ou de poliedrose nuclear. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/477021>

Velásquez, I. M. C., Castillo Calderón, ML, & Delgado García, G. D. J. (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 estadios de *spodoptera frugiperda*, en condiciones de laboratorio. Campus Agropecuario UNAN-León 2011 (Tesis doctoral). <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/5673/1/221317.pdf>

Vilaplana, L., Wilson, K., Redman, E. M. (2010). Persistencia de patógenos en insectos migratorios: altos niveles de infección por virus de transmisión vertical en poblaciones de campo del gusano cogollero africano. *Evol Ecol* 24, 147–160. <https://doi.org/10.1007/s10682-009-9296-2>

Williams, T., Virto, C., Murillo, R. y Caballero, P. (2017). Covert baculovirus infection of insects. *Frontiers in microbiology*, 8, 257814. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01337>

Young, S. Y. (1990). Effect of nuclear polyhedrosis virus infection in *Spodoptera ornithogalli* larvae on post larval stages and dissemination by adults. *Journal of Invertebrate Pathology*, 55(1), 69-75. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(90\)90034-4](https://doi.org/10.1016/0022-2011(90)90034-4)

Zamora, S. M., Gutiérrez, Y. G., & Gutierrez, C. (2006). Manejo de insectos y enfermedades en sorgo. *La Nicaragua de hoy*, Managua Nicaragua, 43. Article. <https://catalogosiidca.csuca.org/Record/UNANL.52819/Description>

X. ANEXOS

Anexo 1. Presupuesto de la investigación

Descripción	Cantidad	Unidad	Costo/un	Costo/total
Algodón	10	Paquete 50gr	C\$27	C\$270
Alcohol	1	Lt	C\$100	C\$100
Pinza	2	Unidad	C\$432	C\$864
Papel higiénico	2	Unidad	C\$25	C\$50
Papel toalla	1	Unidad	C\$60	C\$60
Tazas de polietileno	3	Cajas de 250 unidad	C\$2160	C\$6480
Pincel	2	Unidad	C\$20	C\$40
Miel	1	Lt	C\$170	C\$170
Masking tape	1	Unidad	C\$80	C\$80
Bolsas de una libra	1	Cien	C\$30	C\$30
Tijeras	2	Unidad	C\$35	C\$70
Gasas	1	Paquete	C\$20	C\$20
				Total: 8134

Anexo 4.

Cuadro 3. Mortalidad promedio de la eclosión de la primera generación de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* por tratamiento con la contaminación transovárica del VPNSf.

	Tratamiento	Mortalidad	ee	li	ls
#	<fct>	<dbl>	<dbl>	<dbl>	<dbl>
1	Ambos	87.8	6.69	74.4	101
2	Hembra	43.1	6.19	30.7	55.4
3	Macho	56.8	16.7	23.3	90.3

Anexo 5.

Cuadro 4. Supervivencia de la postura en la primera generación de *Spodoptera frugiperda* con la contaminación transovárica del VPNSf en los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Promedio	Ee	I.C Inferior	I.C Superior
T1 (HC+MC)	80.7	4.37	71.9	89.4
T2 (HC+M)	80.7	8.84	63	98.3
T3 (MC+H)	33.3	21	-8.64	75.3

Anexo 6.

Cuadro 5. Mortalidad acumulada promedio de la primera generación de la progenie de adultos de *Spodoptera frugiperda* por la contaminación del VPNSf por tratamiento.

Tratamiento	Promedio	Ee	I.C Inferior	I.C Superior
T1 (HC+MC)	33	1.24	30.5	35.5
T2 (HC+M)	11.3	2.22	6.87	15.8
T3 (MC+H)	14.3	3.42	7.5	21.2

Anexo 7.



Figura 6. Elaboración de pie de cría



Figura 7. Sexado de pupas

Anexo 8



Figura 8. Primera centrifugación para la Elaboración de VPNSf



Figura 9. Elaboración de VPNSf

Anexo 9



Figura 10. Forrado de tazas



Figura 11. Elaboración de la comida para adultos y contaminación con VPNSf

Anexo 10



Figura 12. Tratamientos



Figura 13. Larvas muertas por VPN

