

Estudio de agentes de control biológico virales y bacterianos hacia plagas agrícolas

María Luz Hernández Ruiz¹, Noemi Guadalupe Vazquez Navarro², Jackelyn Hernández Alvarado², Daniela Arroyo Arellano², Luis Fernando García García² y María Cristina Del Rincón Castro³

¹Instituto Tecnológico Superior de la Región Sierra del Estado de Tabasco, Tabasco; ² División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Gto.; ³División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Irapuato, Gto.

Resumen

Los insecticidas químicos se han utilizado por muchos años como la única alternativa de control de plagas de insectos de importancia agrícola. Estos han generado numerosos problemas de contaminación ambiental, intoxicación de animales y el mismo hombre. El control biológico de plagas es una alternativa para disminuir el uso de los mismos. Este se basa en el uso de microorganismos como virus, bacterias, hongos, nemátodos y protozoarios. En este trabajo se describen a los virus y bacterias entomopatógenas, para entender su biología, sus mecanismos de infección, aplicación en campo, etc., así como los motivos por los que pueden ser exitosos como agentes de control biológico de plagas y pueden coadyuvar a una menor contaminación ambiental a un mejor manejo de control de plagas y para entender por qué son más amigables con el medio ambiente y con la sociedad misma.

Palabras clave: virus, bacterias, entomopatógenos, insectos, control biológico.

Introducción

Los insectos son el grupo de animales más diverso de la Tierra con aproximadamente el 54% de todas las especies descritas actualmente. Además, se estima que existen entre 6 y 10 millones de especies aún no descritas ni clasificadas. Sin embargo, a pesar de los más de 30 órdenes taxonómicos de esta clase, solo 6 son considerados como plagas a la agricultura. Dentro de los cuales, se calcula que aproximadamente 5000 especies pueden ser clasificadas como dañinas. Los órdenes taxonómicos que contienen a las especies consideradas plagas son: Coleóptera, Lepidóptera, Díptera, Hemíptera, Tysanóptera y Ortóptera. Siendo los dos primeros los que contienen el mayor número de insectos plaga. Para el control de los mismo se utiliza mayoritariamente a el control químico. Este es el control de sus poblaciones o la prevención de su desarrollo mediante el uso de sustancias químicas. Los compuestos químicos que se utilizan en la protección de los cultivos reciben el nombre genérico de pesticidas o plaguicidas. Por otro lado, el control biológico de plagas por medio de patógenos de insectos (entomopatógenos) se reconoce como una alternativa viable al uso de insecticidas químicos, aunque su uso en el control de plagas agrícolas ha sido limitado, llegando sólo a cubrir aproximadamente un 2% del mercado de los pesticidas a nivel mundial. Este uso marginal de los entomopatógenos se debe principalmente al estrecho espectro de acción contra algunas especies de plagas, a la corta persistencia en el campo y a la precisión que se debe tener en la aplicación hacia determinados estados de desarrollo del insecto. A pesar de estas limitaciones, los bioinsecticidas presentan una mejor alternativa a los insecticidas sintéticos, debido a la gran cantidad de desventajas que éstos últimos presentan en cuanto a su toxicidad indiscriminada, y sus efectos sobre el medio ambiente. Muchos entomopatógenos se han estudiado desde hace muchos años, y muchos de ellos han sido desarrollados como insecticidas microbianos o bioinsecticidas exitosos, siendo los dos grupos más importantes los virus y las bacterias entomopatógenas.

Virus entomopatógenos

Los virus son clasificados según el Comité Internacional de Taxonomía Viral (ICTV) (Fauquet et al., 2005 e Ibarra y Del Rincón, 2010). Para ello se toma en consideración el tipo de ácido nucleico que contengan (DNA ó RNA), si son de cadena simple o doble (dsDNA ó dsRNA), cadena positiva o negativa (+ ó -), la morfología y tamaño del virión, presencia o ausencia de cuerpos de inclusión (CO's), con o sin envoltura, hospedero o rango de hospederos, entre otras características. Las familias Baculoviridae, Poxviridae y Reoviridae, poseen la característica de formar cuerpos de oclusión (CO's), esta estructura ha evolucionado de forma independiente como un mecanismo de protección contra la degradación ambiental y ésta, entre otras características, les confiere una gran ventaja para ser usados como bioinsecticidas (Caballero y Williams, 2008). A continuación se describen las principales familias de virus entomopatógenos.

- a)** Iridoviridae. Este tipo de virus tienen cuerpos icosaédricos conteniendo genomas que oscilan entre los 100 y 210 kilobases (Kb), siendo su DNA de cadena doble (dsDNA) y circularmente permutado. Los iridovirus de invertebrados abarcan dos géneros de virus, los Iridovirus y Chloriridovirus, aislados únicamente de invertebrados. El acomodo de una gran cantidad de partículas icosaédricas en las células infectadas provoca la iridiscencia característica de éste tipo de virus, abarcando los colores violeta, azul, verde y naranja. Infeccionan tejidos de los insectos, tales como, tejido graso, hemocitos, epidermis y algunas áreas del intestino (William, 2008). Los insectos infectados con este tipo de virus presentan una marcada reducción en su capacidad reproductiva y longevidad. Han sido aislados de Coleóptera, Díptera, Hemíptera, Lepidóptera y Ortóptera (Chinchar et al., 2005 y William et al., 2009)
- b)** Reoviridae. Los virus de este grupo, de mayor interés para su desarrollo como bioinsecticidas son los virus de la poliedrosis citoplasmática (CPV) que se encuentran agrupados en el género Cypovirus. Este tipo de virus presentan RNA de cadena doble (dsRNA). Tienen cuerpos de inclusión poliédricos que se forman en el núcleo de la célula, y sus viriones son icosaédricos. Su vía de transmisión es oral, y los cuerpos de inclusión son disueltos en el mesenterón, afectando células epiteliales. Han sido aislado de insectos del orden de Lepidóptera y Díptera (Shapiro et al., 2005 y Mertens et al., 2005).
- c)** Poxviridae. En esta familia se encuentran los Entomopoxvirus (EPV's), que son clasificados en tres géneros y un grupo de virus aún no clasificado; esta clasificación depende de la especie de la cual se haya aislado el virus; Coleóptera (Alphaentomopoxvirus), Lepidóptera y Ortóptera (Betaentomopoxvirus), Díptera (Gammaentomopoxvirus) e Himenóptera (aún no clasificados) cuyo ácido nucleico es dsDNA (130-375 kb); los cuerpos de inclusión son esféricos, la forma del virión es, ovoide o tabique y están envueltos (Buller et al., 2005). Las larvas que han adquirido infección con EVP se hinchan y adquieren una apariencia blanquizca (Caballero y Williams, 2008).
- d)** Baculoviridae. La familia Baculoviridae posee varias características adicionales a las otras familias, por ejemplo, el hecho de que solo se han aislado del filo Artrópoda y en su mayoría de la Clase Insecta, presentando una gran seguridad para seres humanos y otros vertebrados, así como para la vida silvestre en general. Además, tienen una alta patogenicidad y virulencia contra insectos plaga. Debido a éstas características es que han recibido mayor atención y se ha potenciado su uso como bioinsecticidas (Caballero y William, 2008). La utilidad y efectividad de los baculovirus para el control de las plagas, tanto en cultivos agrícolas como en ecosistemas forestales, han sido ampliamente demostradas, ya que se han empleado en huertas, forestales, cultivos de campo abierto e invernadero e incluso en productos almacenados (Caballero y Williams, 2008). Los virus de esta familia tienen dsDNA, circular y cerrado cuyo tamaño oscila entre los 80 y 180 Kb, que es empaquetado en nucleocápsides con forma de bastón o varilla cuyo diámetro oscila entre 40-60 nm y 230-385 nm de longitud; éste genoma codifica entre 90 y 180 genes, la variabilidad en el número de genes es debido a que algunos de éstos se repiten, en ocasiones hasta 17 veces y se han descrito más de 600 baculovirus aislados de insectos pertenecientes a los géneros Lepidóptera, Díptera e Himenóptera. (Maruniak et al., 2004).

Clasificación de baculovirus

Los baculovirus son clasificados en cuatro géneros Alphabaculovirus, Betabaculovirus, Gammabaculovirus y Deltabaculovirus, dicha clasificación está basada en la evidencia filogenética, y en las características biológicas y morfológicas (Jehle et al., 2006). A su vez se dividen en dos grupos (Fig. 1), cuya clasificación depende de la morfología de su cuerpo de inclusión, pueden ser Nucleopoliedrovirus (NPV) o Granulovirus (GV).

- a)** Nucleopoliedrovirus. En cuanto a los NPV, miden de 0.6-2 µm de diámetro, estos se replican en el núcleo de las células infectadas. Están constituidos por una proteína llamada poliedrina. Al mismo tiempo, los NPV pueden ser Nucleopoliedrovirus simples (SNPV) o Nucleopoliedrovirus múltiples (MNPV), dependiendo del tipo de nucleocápsides que se encuentren presentes en la envoltura viral, es decir, solo tienen una nucleocápside o, dos o más nucleocápsides por envoltura respectivamente (Fig. 1) (Jehle et al., 2006).
- b)** Granulovirus. Los GV presentan cuerpos de inclusión de forma granular cuyo diámetro oscila entre 0.2-0.4 µm (Fig.1), este tipo de virus pueden presentarse tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células infectadas (Jehle et al., 2006). Los cuerpos de inclusión presentan una matriz cristalina compuesta de una proteína llamada granulina. Los cuerpos de inclusión contienen solo un virión por granulo y una sola nucleocápside por virión. Se han encontrado exclusivamente infectando insectos del orden Lepidóptera.

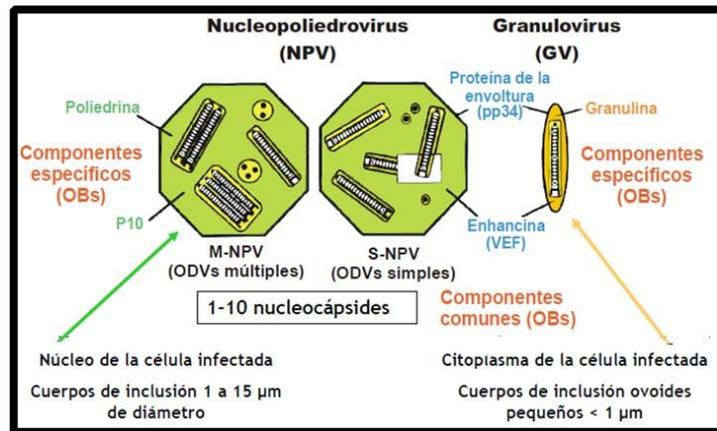


Figura 1. Fenotipos de baculovirus: Nucleopoliedrovirus y Granulovirus

Ciclo de vida de virus entomopatógenos

Los insectos contaminados con virus entomopatógenos adquieren regularmente una infección viral cuando ingieren alimento contaminado (Fig.2), ya que como patógenos obligados, estos agentes no actúan por simple contacto como los insecticidas químicos y otros agentes entomopatógenos. Otras posibles rutas alternativas de infección, podrían ser la contaminación de la superficie del huevo, contaminación dentro del huevo y la infección por medio de parasitoides (Granados, 1980). Para el caso particular de los baculovirus, los insectos adquieren los cuerpos de oclusión presentes en el ambiente o en el alimento, y una vez que el virus entra al insecto, debido a un ambiente de alta alcalinidad (pH arriba de 10) en el intestino medio, los CO's se degradan liberándose los viriones envueltos (Granados, 1980). Posteriormente, los viriones se fusionan a las microvellosidades de las células epiteliales y las nucleocápsides desnudas se dirigen hacia al núcleo celular, en el cual el virus se replica por vez primera, sin formar CO's. La progenie resultante, gema a través de estas células, hacia la hemolinfa del insecto, por cuya vía accede al resto de los tejidos del mismo, causando una infección sistémica al reproducirse por segunda vez las partículas virales y ocluirse en un proceso de novo en poliedros recién formados. Los insectos mueren finalmente, quedando en una posición de V invertida característica (Fig. 2), los CO's son liberados al ambiente al degradarse el integumento de los mismos, representando una nueva fuente de inóculo para que el ciclo viral reinicie (Granados y Williams, 1986).



Figura 2. Sintomatología del insecto *Trichoplusia ni* infectado con baculovirus.

En lo referente a las infecciones causadas por los entomopoxvirus, éstas inician cuando los insectos adquieren la infección mediante la ingestión de los esferoides (Fig.3A). Estos son degradados en el intestino medio de los insectos y se replican discretamente en sus células. El principal órgano donde se replican los EPV's es en las células del tejido graso (Erlandson, 1991). Al término de la infección los insectos se debilitan y la mortalidad se presenta entre los 12 a 15 días post-infección, con un máximo de mortalidad a los 25 a 30 días. Los CPV se restringen a infecciones de las células epiteliales del intestino medio, causando infecciones crónicas en los intestinos (Fig.3B) de lepidópteros y dípteros (mosquitos) (Becnel et al, 2003). Los CO's también se degradan en estas células, con la subsecuente liberación de los viriones. Estos se fusionan a las microvellosidades de las células epiteliales, pero a diferencia de los baculovirus, la replicación ocurre únicamente en el citoplasma celular de dichas células. Las larvas infectadas tienden a desecarse y presentar una coloración blanca en el intestino medio.

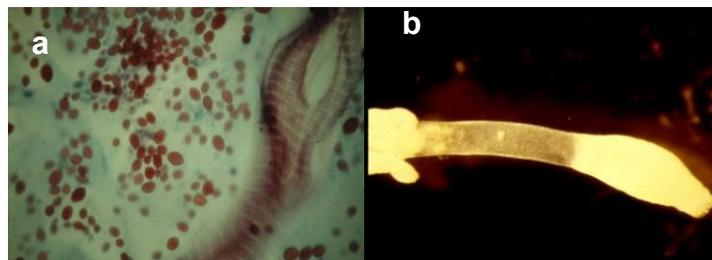


Figura 3. a) Esferoides de Entomopoxvirus. b) Intestino medio infectado con Cypovirus

Por otro lado, los iridovirus se replican tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células infectadas, una vez que entran por pinocitosis. No obstante, el ensamble de las partículas virales ocurre solamente en el citoplasma de las células. Estos virus se reproducen principalmente en el tejido graso de los mosquitos y en menor extensión en la epidermis y otros tejidos. Al final del proceso infeccioso, pueden causar una iridiscencia visible en el cuerpo de las larvas, con tonalidades naranjas, azul-verdes y turquesas (Fig.4). No necesariamente las infecciones causadas por los iridovirus son letales, y en muchos de los casos causan infecciones crónicas en los mismos, sin causarles la muerte.



Figura 4. Larvas de mosquitos infectadas con Iridovirus.

Países como Brasil, Bolivia y Perú, ya producen de manera comercial sus propios bioinsecticidas virales. Uno de los ejemplos más exitosos de control microbiano con virus en un sistema agrícola, lo representa el control del "gusano de la soya" *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera:Noctuidae) en el Brasil y en menor escala en Paraguay. Se han utilizado a nivel de campo dosis de 1.5×10^{11} CO/Ha (aproximadamente 50 equivalentes larvales). Este programa comenzó a principios de los 80's y para el año 2005 ya se estaba utilizando en cerca de 2 millones de hectáreas (Szewczyk, 2006). En un inicio la producción la realizaban los propios productores quienes colectaban los virus infectados después de una primera aspersión, llegando a obtener hasta 1.8. kg de larvas muertas por este virus diariamente. Para principios del 2004 se fundó un laboratorio de producción masiva llegando a infectar hasta 600,000 larvas diariamente.

Los baculovirus aislados de *Spodoptera frugiperda* NPV y GV (SfMNPV y SfGV) se han utilizado exitosamente en el control del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), cuyo control

exclusivo con insecticidas químicos ya ha registrado numerosos casos de resistencia (Ríos-Díez et al, 2011). Debido a ello, en América Latina países como México, Argentina, Brasil, Colombia, Honduras, Perú y Venezuela, ya han evaluado la utilidad de productos a base de estos baculovirus tanto en laboratorio como en campo, con resultados muy variables. Se sabe que existe una amplia heterogeneidad en los aislamientos nativos de estos virus y eso dificulta su estandarización y aplicación a nivel de campo. No obstante, en Colombia ya se está desarrollando un producto comercial a base de un SfNPV por la empresa CORPOICA. Este producto ya se ha evaluado experimentalmente a nivel de campo resultando ser tan efectivo como los insecticidas químicos probados. Asimismo, en Brasil una cepa nativa de un SfNPV se probó en 20,000 Ha de maíz por año, pero debido al elevado costo de producción el producto se discontinuó (Moscardi et al, 2011). En México se han realizado algunas pruebas de aplicación en campo con diferentes formulados virales (Martínez et al, 2000), así como se han probado a nivel laboratorio, el efecto de cepas exóticas de baculovirus contra el gusano cogollero nativo (Rangel Núñez et al, 2014), pero hasta a la fecha no se logrado implementar el uso a nivel de campo de un producto viral contra esta plaga. Recientemente el grupo de investigación de virus entomopatógenos de la Universidad de Guanajuato, ha comenzado a realizar pruebas de campo con cepas nativas y exóticas de baculovirus SfNPV, con resultados bastante alentadores, pero se requieren realizar más pruebas para dar información concreta de su utilidad a nivel de campo.

El uso de los virus entomopatógenos es cosmopolita. Su aplicación y mayor éxito como bioinsecticidas se ha enfocado con mucho en los países desarrollados pertenecientes a Europa y América del Norte (Estados Unidos y Canadá). En América Latina, se han empleado de manera moderada, y ha sido difícil de implementar esta alternativa de control biológico, debido principalmente al lento modo de acción de los virus y a una falta de cultura en el uso de este tipo de agentes de control de plagas. No obstante, según mencionan Haase y colaboradores (2015), finalmente el éxito de los baculovirus en América Latina dependerá del esfuerzo conjunto de los gobiernos, instituciones educativas, asociaciones de productores, y compañías privadas, cuyo objetivo en común sea la protección de la población humana y del medio ambiente.

Bacterias entomopatógenas

Bacillus thuringiensis no es solamente la bacteria sino el entomopatógeno más conocido, más estudiado y más extensamente utilizado como agente de control microbiano. Más del 90% del mercado de bioinsecticidas lo cubren productos a base de esta *B. thuringiensis* (BT), es una bacteria Gram positiva, aeróbica, que forma esporas subterminales, las células vegetativas tienen forma de salchicha, y presenta flagelos peritricos. Es un microorganismo ubicuo y presenta una distribución cosmopolita bacteria (Glare y O'Callaghan, 2000).

La característica principal de BT es que, simultáneo a la formación de la espora, produce un cuerpo de naturaleza proteica denominado cristal o cuerpo parasporal (Fig. 5). Al igual que el cristal de *L. sphaericus* y de *P. popilliae*, su denominación se debe a la conformación en látice (red) de sus moléculas. A diferencia de las otras especies, BT forma un cristal mucho más notorio y separado de la endospora. Estas proteínas cristalizadas son liberadas al medio ambiente cuando se degrada la pared celular (autólisis) al final de la esporulación. El cristal puede llegar a representar hasta el 30% del peso seco del esporangio.

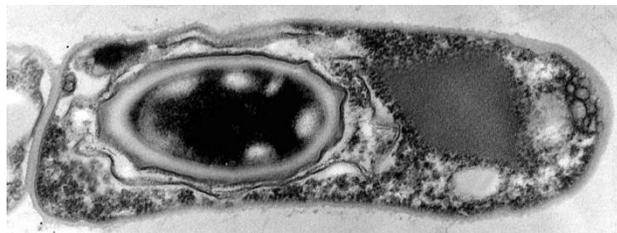


Figura 5. Esporangio de *B. thuringiensis*.

a) Patotipos. Como se mencionó anteriormente, el cristal proteico posee la capacidad insecticida propia de esta bacteria. La gran mayoría de los serotipos, variedades y cepas conocidas presentan un cristal bipiramidal, con cierta variación de tamaño y forma. Este cristal normalmente presenta toxicidad a una gran diversidad de larvas de lepidópteros, incluyendo a un número significativo de plagas agrícolas. Este es el llamado patotipo I y el serotipo típico

de este patotipo es kurstaki, aunque hay muchos más con estas características. El cuerpo parasporal, sin embargo, varía en su forma, al variar el patotipo. Es decir, las cepas que presentan alta toxicidad hacia mosquitos y jejenes (Delécluse et al., 2000), muestran un cristal irregular en su forma, aunque tiende a la esfericidad. Este es el llamado patotipo II y su serotipo típico es israelensis (Federici et al., 1990). Por último, el patotipo III tiene un rango de actividad que se restringe a unas pocas especies de coleópteros, principalmente crisomélidos. En este patotipo, el cristal muestra una forma cuadrada y aplanada, similar a la de un cojinete delgado. Si bien el patotipo al que pertenecen estas cepas es el morrisoni, la cepa se le conoce como tenebrionis. Cabe hacer mención que algunas compañías han reportado cepas con actividad hacia otros tipos de insectos (hormigas, pulgones, etc.) y no insectos (nematodos, ácaros, platelmintos, etc.), las cuales deberían considerarse como nuevos patotipos, pero desafortunadamente no han demostrado su verdadera efectividad con datos contundentes, con excepción de aquellas cepas con actividad nematocida.

b) Serotipos. En la actualidad existe una gran cantidad de cepas de BT, aisladas de muy diversas partes del mundo. Con el objeto de diferenciar los diversos aislamientos, se han tratado de establecer los parámetros que ayudarían a discriminar una cepa de otra. Uno de estos parámetros consiste en la serotipificación. Esta técnica se basa en la reacción cruzada de las proteínas flagelares de BT, contra los anticuerpos producidos a partir de las cepas tipo. Hasta la fecha se conocen 71 grupos; sin embargo, debido a que algunos presentan subgrupos (ej. H-3a3b3c, H-6a6c, etc.), el número de serovarietades es mayor (84). A su vez, a cada serotipo corresponde un nombre de serovarietad o serovar de tal forma que los diferentes subgrupos de BT se reconocen más ampliamente por su tercer apelativo. Así, el serotipo H-3a3b3c corresponde a la serovarietad kurstaki, el serotipo H-14 corresponde a la serovarietad israelensis, y así sucesivamente. En la actualidad, y debido a que la serotipificación presenta importantes limitantes, se han desarrollado numerosas alternativas moleculares que permiten no sólo agilizar la identificación de las cepas, sino que son más confiables y permiten establecer las relaciones filogenéticas de los serotipos (Reyes-Ramírez e Ibarra, 2008)

c) Modo de Acción. Similarmente a las otras bacterias ya mencionadas, BT requiere ser ingerido para que lleve a cabo su efecto patotóxico. Al ingerirse el complejo espora-cristal, los cristales se disuelven en el mesenterón debido a su contenido altamente alcalino. Una vez disueltos, las proteínas del cristal (protoxinas) sufren proteólisis por las proteasas digestivas del insecto; sin embargo, su degradación no es completa, quedando intacta una proteína de aproximadamente 65 Kdal. Esta es la toxina activada llamada δ -endotoxina, la cual adquiere una conformación tridimensional que le confiere gran especificidad para acoplarse a un componente proteico de la membrana de las células epiteliales, comúnmente llamado "receptor" (Escriche y Ferré, 2001). Se ha logrado dilucidar la naturaleza del receptor para la proteína Cry1Ac en el gusano de cuerno del tabaco *Manduca sexta*, el cual es una glicoproteína de 120 kDa que presenta una gran similitud con la enzima aminopeptidasa N (Garczynski y Adang, 2000), además de una proteína tipo cadherina. Esta unión es seguida de una oligomerización de la toxina, la cual desequilibra la estructura de la membrana y "abre" un poro por el cual penetran diversos iones seguidos de agua (Escriche y Ferré, 2001). El exceso de agua en el citoplasma de las células epiteliales provoca una distensión excesiva de la célula, hasta que ésta estalla. Cantidades suficientes de δ -endotoxina normalmente destruyen amplias áreas del epitelio, las cuales se manifiestan en huecos por donde pasa el contenido altamente alcalino del mesenterón hacia la hemolinfa (que presenta un pH casi neutro). Esto trae consigo un aumento del pH de la hemolinfa, la conducción nerviosa cesa y la larva se paraliza. Esto implica que deja de comer y por lo tanto se detiene el daño al cultivo. Consecuentemente, la larva puede morir de inanición en 3 a 5 días. Por otro lado, se crea un ambiente favorable para la proliferación de las bacterias en el individuo paralizado, pudiendo sobrevenir la muerte por septicemia, o por la combinación con el efecto tóxico. A pesar de que las larvas muertas contienen algunas esporas y cristales debido a que proliferan en los cadáveres, éstas normalmente no representan focos de infección para otros individuos. Además, en el cadáver se presentan mayormente otras bacterias saprófitas, las cuales compiten con BT (Broderick et al., 2006). Esto último ha cuestionado el papel de BT como verdadero patógeno natural de insectos, ya que tampoco se presentan epizootias en el campo, como las que causa cualquier otro entomopatógeno.

La diferencia en los niveles de toxicidad depende del tipo de δ -endotoxina. Se conocen hasta esta fecha casi 800 diferentes secuencias de δ -endotoxinas, las cuales se han clasificado como proteínas Cry de la 1 a la 72, a cuya lista se agregan más cada año (Noguera e Ibarra, 2010). Estas familias de genes cry a su vez se dividen en subgrupos (Crickmore et al., 1998), y cada grupo presenta no sólo diversos grados de homología a nivel de la secuencia de sus aminoácidos, sino que su especificidad normalmente también es compartida con los Cry del mismo grupo. Algunas cepas de *B. thuringiensis* pueden producir varias proteínas Cry, relacionadas o no, lo cual puede ampliar el rango o el nivel de actividad de estas cepas. De la misma forma, una especie insectil puede ser susceptible a varias proteínas Cry (principalmente dentro de los lepidópteros), pero normalmente muestra diferentes grados de susceptibilidad a cada una de ellas (Schnepp et al., 1998).

d) Producción Comercial. Los bioinsecticidas a base de BT se producen en gigantescos fermentadores (biorreactores), cuyos medios artificiales se basan en el uso de diversas materias orgánicas baratas (ej. harina de soya, sangre en polvo, harina de cascarilla de algodón, etc.), aunque la formulación completa de cada medio representa un secreto de cada compañía (González et al., 2001). Una vez que la fermentación ha llegado a su fase de autólisis, el fermento se concentra por centrifugación y/o por secado atomizado. Este concentrado se homogeniza, se estandariza (normalmente por medio de bioensayos, para determinar la actividad de cada lote de fermentación) (Ibarra y Del Rincón, 2001), y se formula, de acuerdo a su presentación comercial (polvo humectable, suspensión, gránulos, croquetas, etc.). Normalmente la concentración de los productos a base de BT varía entre 2 y 10%, dependiendo de la actividad de la cepa y de la potencia que se requiera del producto (González et al., 2001). Existen algunas reglas básicas para el uso eficiente de los productos a base de BT, como son su aplicación: 1) en horarios de poca incidencia solar; 2) sobre poblaciones iniciales y de los primeros instares larvarios; y 3) amplia y bien distribuida, ya que las larvas deben ingerir el producto.

Como se mencionó anteriormente, BT muestra actividad contra un gran número de larvas de lepidópteros, contra larvas de mosquitos y jejenes, y contra algunas especies de coleópteros. La especificidad que muestra contra estos insectos representa una de las grandes ventajas de este bioinsecticida, ya que es completamente inocuo a otro tipo de insectos, especialmente los benéficos. De esta forma, su eficiencia en el Manejo Integrado de Plagas es muy alta. Asimismo, existe un cúmulo de evidencias que certifica su inocuidad hacia vertebrados (incluyendo al Hombre), lo cual hace de BT, junto con su inocuidad al medio ambiente, una de las alternativas ecológicas más atractivas.

Referencias

- Becnel JJ, White SE and Shapiro AM. 2003. *Culex nigripalpus* (CuniNPV) infections in adult mosquitoes and possible mechanism for dispersal. *J. Invertebr. Pathol.* 83,181-183.
- Broderick, A.N., K. F. Raffa and J. Handelsman. 2006. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103(41): 15196-15199.
- Buller RM, Arif BM, Black DN, Dumbell KR, Esposito JJ, Lefkowitz EJ, Mcfadden G, Moss B, Mercer AA, Moyer RW, Skinner MA y Tripathy DN. 2005. Family Poxviridae. En Fauquet C M, Mayo M A, Maniloff J, Desselberger U y Ball L A. *Virus taxonomy, eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier, San Diego, USA. 117-133.
- Caballero P y Williams T. 2008. Virus entomopatógenos. *Control Biológico de plagas agrícolas*. De Jacas J A y Urbaneja A. Phytoma S. A., Valencia, España. 121-135.
- Crickmore, N., D.R. Zeigler, J. Feitelson, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum and D.H. Dean. 1998. Revision of the Nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiol. Mol. Biol. R.* 62:807-813.
- Chincar VG, Essbauer S y He JG. 2005. Iridoviridae. In *Virus Taxonomy: VIII Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses*. De Fauquet C M, Mayo M A, Maniloff J, et al. London: Elsevier. 145-162.
- Delécluse, A., V. Juárez-Pérez, and C. Berry. 2000. Vector-active toxins: structure and diversity. In: *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application* (J-F. Charles, A. Delécluse and C. Nielsen-Le Roux, (Eds.) Kluwer Academic Publishers. pp. 101-125.
- Escrache, B. y J. Ferré. 2001. Modo de acción de las proteínas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*. En: *En: Bioinsecticidas: Fundamentos y Aplicaciones de Bacillus thuringiensis en el Control Integrado de Plagas*. (P. Caballero y J. Ferré, Eds.) M.V. Phytoma-España, S. L. Valencia. pp. 87-108.
- Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U y Ball LA. 2005. *Virus Taxonomy, VIIIth Report of the ICTV*. Elsevier / Academic Press. London.
- Federici, B.A., P. Luthy and J.E. Ibarra. 1990. Parasporal body of *Bacillus thuringiensis israelensis*, structure, protein composition, and toxicity. Chpt. 3. In: *Bacterial Control of Mosquitoes and Blackflies*. H. de Barjac and D.J. Sutherland (eds.) Rutgers University Press. New Brunswick pp. 16-44
- Garczynski, S.F., and M.J. Adang. 2000. Investigations on the *Bacillus thuringiensis* Cry1 toxin receptor structure and function. In: *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application* (J-F. Charles, A. Delécluse and C. Nielsen-Le Roux, Eds.) Kluwer Academic Publishers. pp. 101-125.
- Glare, T.R. and M. O'Callaghan. 2000. *Bacillus thuringiensis: Biology, Ecology and Safety*. John Wilery & Sons, LTD. New York. 350pp.
- González, A., A. Restrepo y S. Orduz. 2001. Producción de *Bacillus thuringiensis*. En: *Bioinsecticidas: Fundamentos y Aplicaciones de Bacillus thuringiensis en el Control Integrado de Plagas*. (P. Caballero y J. Ferré, Eds.) M.V. Phytoma-España, S. L. Valencia. pp. 109-132.
- Granados RR. 1980. Infectivity and mode of action of baculoviruses. *Biotech and Bioengineering*. XXII, 1377-1405.

- Granados RR and William, KA. 1986. In Vivo infection and replication of baculoviruses. En: R.R. Granados y B.A. Federici (Eds.). The biology of baculoviruses. Vol.I. CRC Press. Boca Ratón, Florida. pp. 89-108.
- Ibarra, J.E. y M.C. Del Rincón-Castro. 2001. Cuantificación Toxicológica de *Bacillus thuringiensis*. En: Bioinsecticidas: Fundamentos y Aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* en el Control Integrado de Plagas. (P. Caballero y J. Ferré, Eds.) M.V. Phytoma-España, S. L. Valencia. pp. 133-152.
- Ibarra R JE y Del Rincón C MC. 2010. Insect viruses diversity, biology, and use as bioinsecticides. *Tropical Biology and Conservation Management*. 3.
- Jehle JA, Blissard GW, Bonning BC, Cory JS, Herniou EA, Rohrmann GF, Theilmann DA, Thiem SM y Vlack JM. 2006. On the classification and nomenclature of baculoviruses: A proposal for revision. *Archives of Virology*. 151, 1257-1266.
- Maruniak GA, Maruniak JE, Zanotto PMA, Doumbouya AE, Liu JC, Merritt TM y Lanoie JS. 2004. Sequence analysis of the genome of the Neodiprionserifernucleopolyhedrovirus. *Journal Virology*. 78:6036-7051.
- Mertens PPC, Rao S y Zhou ZH. 2005. Genus Cypovirus. En: Fauquet C M, Mayo M A, Mniloff J, Desselberger U y Ball L A. *Virus Taxonomy, eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier. San Diego. USA. 522-533.
- Moscardi F, de Souza Lobo M, de Castro Batista ME, Moscardi LM, Szewczyk B. 2011. Baculovirus pesticides: Present state and future perspectives. In *Microbes and Microbial Technology*; Ahmad, I., Ahmad, F., Pichtel, P., Eds.; Springer: New York, NY, USA; pp. 415-445.
- Rangel Núñez JC, Vázquez Ramírez MF, Del Rincón Castro MC. 2014. Caracterización biológica y molecular de cepas exóticas de *Baculovirus SfNPV*, con actividad bioinsecticida hacia una población mexicana del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera:Noctuidae). *Interciencia*, 39, 320-326.
- Reyes-Ramírez, A. and J. E. Ibarra. 2008. Plasmid patterns of *Bacillus thuringiensis* type strains. *Applied and Environmental Microbiology* 74(1): 125-129.
- Ríos-Díez JD, Saldamando-Benjumea CI. 2011. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) strains from central Colombia to two insecticides, Methomyl and Lambda-Cyhalothrin: A study of the genetic basis of resistance. *J. Econ. Entomol.* 104, 1698-1705.
- Schnepf, E., N. Crickmore, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, J. Feitelson, D.R. Zeigler and D.H. Dean. 1998. *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62(3):775-806.
- Szewczyk B. 2006. Baculoviruses—re-emerging biopesticides. *Biotechnol. Adv.* 24: 143-160.
- William T. 2008. Iridoviruses of Invertebrates. *Encyclopedia of Virology*. Mahy B W J y Van Regenmortel M H V. Elsevier, Oxford, Uk. Third Edition. 161-167.
- William T, Chitnis SN y Bilimoria L S. 2009. Invertebrate Iridovirus Modulation of Apoptosis. *Virologica SINICA*. 24 (4): 295-304.
- Shapiro A, Green T, Rao S, White S, Carner G, Mertens CPP and Becnel JJ. 2005. Morphological and Molecular Characterization of a Cypovirus (Reoviridae) from the Mosquito *Uranotaenia sapphirina* (Diptera: Culicidae). *Journal of Virology*. 79 (15): 9430-9438