

Ecología de los baculovirus

SIMÃO DIAS VASCONCELOS

1. Introducción	145
2. Las enfermedades de insectos y sus manifestaciones	146
3. Epizootias	148
4. Epizootiología: factores relacionados con los huéspedes	150
4.1. Biología y hábitos del insecto	151
4.2. Comportamiento del insecto	152
4.2.1. Canibalismo, oviposición y movilidad	152
4.2.2. Modificaciones del comportamiento causadas por baculovirus	153
4.3. Predisposición del huésped	154
4.3.1. Susceptibilidad	154
4.3.2. Resistencia	155
4.4. Densidad y distribución de la población	157
5. Factores relacionados con el patógeno	158
5.1. Patogenicidad, virulencia y variabilidad de los baculovirus	158
5.2. Especificidad y estrategia reproductiva	159
5.3. Productividad	160
5.4. Densidad y distribución poblacional	161
5.5. Capacidad de transmisión, dispersión y persistencia	161
6. Factores relacionados con el ambiente	161
6.1. Radiación solar	161
6.2. Temperatura y humedad	163
6.3. Características del cultivo y del suelo	164

7. Transmisión	165
7.1. Transmisión horizontal directa	166
7.2. Transmisión horizontal mediante vectores	166
7.3. Transmisión vertical	167
8. Dispersión	168
8.1. Dispersión por factores abióticos	168
8.2. Dispersión por factores bióticos	168
8.2.1. El huésped	168
8.2.2. Parasitoides y depredadores	169
8.2.3. El hombre y otros mamíferos	170
9. Persistencia	170
9.1. Persistencia extra-huésped	171
9.1.1. Suelo	171
9.1.2. Plantas	172
9.2. Persistencia en el huésped	173
10. Modelos matemáticos aplicados a la ecología de los baculovirus	175
10.1. Fundamentos teóricos	175
10.2. Aplicaciones ecológicas	177
10.3. Verificación e incorporación de parámetros	179
11. Interacciones multitróficas	180
11.1. Interacciones con otros animales	181
11.2. Interacciones con otros patógenos	182
11.3. Interacciones con la planta	183
12. Impacto ambiental de los baculovirus	184
13. Consideraciones finales	187
14. Agradecimiento	187
15. Bibliografía	187

1. Introducción

Los baculovirus son virus específicos de artrópodos cuyas características morfológicas, modo de acción y capacidad de persistencia en el ambiente los hacen excelentes candidatos a agentes de control biológico. Al mismo tiempo, los baculovirus son ideales para el estudio de la ecología de enfermedades, especialmente después de los avances teóricos y empíricos ocurridos en las dos últimas décadas, que han permitido resaltar diferentes facetas de la interacción insecto-patógeno-ambiente. El desarrollo de técnicas bioquímicas y moleculares para la detección, cuantificación y caracterización de los baculovirus ha posibilitado mayor rigor en la identificación de aislamientos, en la confirmación de la presencia del virus en niveles subletales y en el monitoreo genético de las poblaciones del virus y del huésped. El análisis del genoma de los baculovirus ha permitido conocer mecanismos por los cuales el virus manipula al huésped para su beneficio. Basándose en esto, la ingeniería genética ha hecho posible la construcción de cepas más letales y, al mismo tiempo, ha favorecido la realización de estudios que permiten determinar el riesgo ambiental de la utilización de entomopatógenos. Adicionalmente, el perfeccionamiento de modelos matemáticos de transmisión de patógenos en poblaciones de insectos ha mejorado nuestro entendimiento de la dinámica de la infección vírica.

Con base en estos avances en áreas tan distintas, este capítulo tiene como objetivo ofrecer una visión aplicada de la ecología de los baculovirus. Evidentemente, es imposible separar la ecología del baculovirus de la ecología de su huésped, toda vez que por no poseer vida propia el virus no puede desenvolverse sin su huésped. Así es que en esta revisión la familia *Baculoviridae*, compuesta por los nucleopoliedrovirus (NPV) y los granulovirus (GV), se considerará entre los seres vivos, a pesar de no estar clasificada como tal. Esto porque los baculovirus, como otros patógenos, deben mantenerse dentro de un nicho ecológico para asegurar su supervivencia y funcionamiento (Fuxa, 1995). El éxito ecológico de los baculovirus es determinado por la presencia de un cuerpo de inclusión proteico que protege las unidades infectivas (viriones). El término cuerpo de inclusión (OB) se utilizará genéricamente para referirse a los poliedros o gránulos de los NPV o GV respectivamente.

Para describir la ecología de los baculovirus, se utiliza la definición clásica de ecología como el estudio científico de la distribución y abundancia de los seres vivos y de sus relaciones entre sí y con el medio físico. Esto significa que la participación de determinada especie en un ecosistema es dinámica y que las interacciones entre individuos y ambiente conducen a fluctuaciones de la densidad poblacional de los organismos involucrados. El estudio de la ecología de los baculovirus puede abordar desde aspectos moleculares y patológicos hasta evolutivos y de comportamiento; al escogerse un determinado nivel de estudio, es natural que ciertos componentes sean subestimados para facilitar el análisis de los factores individuales.

Este capítulo se inicia con una revisión de los conceptos ecológicos relacionados con las enfermedades, seguida por una descripción de la epizootia de baculo-

virus en poblaciones de insectos. Se discuten individualmente los factores que afectan el desarrollo de enfermedades en la población, con énfasis en tres procesos clave: transmisión, dispersión y persistencia. Por último, se tratan temas de la ecología de los baculovirus que representen avances significativos en la última década, como la aplicación de modelos matemáticos y el estudio de interacciones multi-tróficas. Detalles sobre biología molecular, mecanismos de infección y producción y aplicación del virus en campo se abordan en otros capítulos de este libro.

El objetivo a lo largo de este trabajo es examinar como afectan los parámetros ecológicos al éxito de los baculovirus y cómo puede contribuir la manipulación de estos factores al diseño de programas de control biológico de insectos plaga. Para obtener mayor detalle, se recomienda consultar los siguientes trabajos: Entwistle y Evans (1985), Maramorosch y Sherman (1985), Evans (1986), Fuxa y Tanada (1987), Tanada y Kaya (1993), Fuxa (1995), Cory *et al.* (1997), Alves (1998) y Hunter-Fujita *et al.* (1998).

2. Las enfermedades de insectos y sus manifestaciones

Según la definición clásica de Gaumann (1950) la enfermedad es: "una interacción ecológica dinámica entre huésped y patógeno, influenciada directamente por el ambiente en que se encuentran, resultando en modificaciones morfo-fisiológicas en los dos sistemas biológicos". Por otro lado, Fuxa y Tanada (1987) definen la enfermedad como "una condición en la cual el equilibrio fisiológico del huésped en relación al ambiente es perturbado". Estas definiciones resaltan el papel de la interacción huésped-patógeno-ambiente en el establecimiento de la enfermedad, de modo que probablemente la manera más completa de abordarla sería con un enfoque ecológico.

Las enfermedades causadas por los baculovirus pueden causar tres tipos de cambios en la dinámica poblacional de insectos: i) afectar la densidad media de la población, ii) inducir fluctuaciones en las poblaciones, iii) regular (sólo o en conjunto con otros factores) la población de huéspedes (JERVIS Y KIDD, 1996). En las últimas décadas el interés de los ecólogos se ha centrado en la posible regulación de poblaciones de insectos por el patógeno, ya sea estabilizando la población en un punto de equilibrio después de pequeñas perturbaciones o restringiendo la población dentro de ciertos límites, pero permitiendo fluctuaciones razonables en sus números (ciclos) dentro de estos límites (ANDERSON Y MAY, 1979, 1980, 1981).

El estudio de los factores que determinan o controlan el desarrollo de enfermedades en poblaciones animales en un ecosistema se llama epizootiología (análogo al término epidemiología, que describe variaciones en los niveles de enfermedades en poblaciones humanas). La epizootiología investiga la evolución de la enfermedad en la población y sus causas, en diferentes épocas y localidades, describiendo el ciclo de vida de los patógenos en las poblaciones de sus huéspedes, cuantificándolos y explicando su ocurrencia en una escala espacial y temporal (EVANS, 1986; FUXA Y TANADA, 1987).

La epizootiología es una ciencia reciente: sus fundamentos fueron introducidos por Steinhaus hace poco más de medio siglo y solamente a partir de la obra de Fuxa y Tanada (1987) se propuso una terminología apropiada. Originada de la patología de insectos, la epizootiología adquirió relevancia propia debido a sus aplicaciones prácticas y teóricas, como el control microbiano aplicado y el entendimiento de los patrones de enfermedades o la ausencia de los mismos (TANADA Y KAYA, 1993; ALVES Y LECUONA, 1998).

La presencia y el progreso de la enfermedad en una población huésped son definidas por dos parámetros: prevalencia e incidencia. La prevalencia se refiere al número total de insectos afectados por una enfermedad en un determinado periodo de tiempo (o sea, la suma de los casos nuevos y viejos de la infección) mientras que la incidencia es el número de nuevos casos de la enfermedad en un determinado periodo de tiempo (FUXA Y TANADA, 1987). La variación de los niveles de prevalencia e incidencia del patógeno en la población sirva para determinar si la enfermedad está produciendo una epizootia o una enzootia.

Generalmente, la enfermedad enzootica ocurre anualmente con nivel de prevalencia bajo, una vez que es regulada por factores (ambientales, climáticos, por ejemplo), que la llevan a un patrón estable (EVANS, 1986; TANADA Y KAYA, 1993). El patógeno y el huésped coexisten, implicando una presencia constante de la enfermedad. Otras características de la enzootia incluyen una baja virulencia y una tasa reproductiva básica del patógeno en torno de 1,0 (EVANS, 1986; FUXA Y TANADA, 1987). La tasa reproductiva básica (R_0) constituye el número medio de casos secundarios que resultan de la introducción de un individuo infectado en una población susceptible, o sea, representa la capacidad intrínseca del patógeno de dispersarse y multiplicarse después de ser introducido en una población susceptible (ANDERSON Y MAY, 1979, 1980, 1981). Como ejemplo de enzootia, Fuxa (1982) describe la ocurrencia del nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Lep.; Noctuidae) en el sur de los Estados Unidos.

En cambio, la enfermedad epizootica aparece esporádicamente, provocando grandes variaciones en la prevalencia e incidencia de la misma (EVANS, 1986; FUXA Y TANADA, 1987). Las epizootias pueden eliminar gran número de individuos en un corto periodo de tiempo o como afirma Evans (1986), un número no necesariamente alto, pero bastante superior al normalmente observado. Para que esto ocurra es importante que el patógeno tenga un ciclo reproductivo corto, que la población del huésped se encuentre en un nivel que permita un contacto suficiente para que ocurra la transmisión y que la tasa reproductiva del patógeno sea mayor a 1,0 (ANDERSON Y MAY, 1979, 1981).

Se debe resaltar que los conceptos de enzootia y epizootia no representan sistemas aislados: una enfermedad típicamente enzootica puede tornarse en una epizootia en un caso dado, favorecido por factores como cambios en condiciones ambientales o un incremento en la densidad del huéspedes (EVANS, 1986). La propia identificación de un patrón de mortalidad como epizootia se encuentra sujeta a diversos errores, como: fallas en la obtención de muestras o colectas inadecuadas de insectos y patógenos, la definición imprecisa de las variables analizadas,

la extrapolación impropia de resultados, conclusiones erróneas de relaciones causa-efecto (cuando se atribuye a un factor un efecto causado por un componente no considerado), subjetividad en la validación e interpretación o extrapolación exagerada de los datos obtenidos, al generalizar explicaciones pertinentes a sólo una determinada especie o población (FUXA Y TANADA, 1987). Tales encrucijadas son comunes en una área tan compleja como la epizootiología, que utiliza información de laboratorio (patología, virulencia y productividad del patógeno, etc.), de campo (fenología y química de la planta huésped, persistencia del virus, etc.) y los modelos matemáticos para explicar la dinámica de la infección.

3. Epizootias

Ejemplos de disminuciones radicales en poblaciones de insectos causadas por baculovirus son conocidas desde hace varios siglos, con la descripción de los síntomas distintivos en larvas del gusano de seda que se remontan al siglo XVI. Desde entonces, se han registrado numerosos casos de epizootias naturales producidas por baculovirus, como los registros de bajas periódicas en las poblaciones de *Gilpinia hercyniac* (Hym.; Diprionidae) en Canadá, *Lymantria dispar* (Lep.; Lymantriidae) en Bulgaria, *Orgyia pseudotsugata* (Lep.; Lymantriidae) en los Estados Unidos y *Zeiraphera diniana* (Lep.; Tortricidae) en Suiza (BALCH Y BIRD, 1944; BALTENSWEILER, 1964; THOMPSON Y SCOTT, 1979; ENTWISTLE Y EVANS, 1985).

La epizootia típica se caracteriza por tres condiciones: i) altas densidades poblacionales del huésped, siendo común que la epizootia tienda a actuar de manera densidad-dependiente retrasada, ii) alta mortalidad en la población del huésped, y iii) una abundante liberación del virus en el ambiente después de muertos los huéspedes infectados, como resultado de la desintegración del cadáver (ENTWISTLE Y EVANS, 1985; KAUPP Y SOHI, 1985).

Las epizootias pueden ser esporádicas o cíclicas. Las esporádicas son típicas de ambientes efímeros, como agroecosistemas, y dependen de un eficiente reservorio de inóculo en el ambiente, por ejemplo en el suelo. En estos ambientes, la remoción del material vegetal (y consecuentemente del alimento del insecto) y determinadas técnicas de preparación del suelo comprometen a la población del huésped y a la supervivencia del inóculo. Este tipo de epizootia de baculovirus parece ocurrir en *Autographa californica* (Lep.; Noctuidae) en alfalfa, *Trichoplusia ni* (Lep.; Noctuidae) en crucíferas, *Phthorimaea operculella* (Lep.; Gelechiidae) en papas y *Mamestra brassicae* (Lep.; Noctuidae) en cultivos de col (HOFMASTER, 1961; TANADA Y OMI, 1974; BRIESE, 1981).

Las epizootias cíclicas en sistemas forestales son los ejemplos más comúnmente encontrados en la literatura desde hace más de dos siglos. Basándose en la naturaleza cíclica de brotes poblacionales, Anderson y May (1979, 1980, 1981), sugirieron, a través de modelos matemáticos, que los ciclos poblacionales de lepidópteros e himenópteros en ambientes forestales se deben en parte a la acción de baculovirus. Los intervalos entre las explosiones poblacionales varían de 7 a

10 años para las especies *L. dispar*, *O. pseudotsugata* y *Z. diniana*, mientras que para *Lymantria monacha* (Lep.; Lymantriidae), tales intervalos llegan a 70 años (BALTSWEILER, 1964; THOMPSON Y SCOTT, 1979; ENTWISTLE Y EVANS, 1985).

Teóricamente una epizootia puede iniciarse con un único insecto infectado, a partir del cual el virus se dispersa para infectar nuevos huéspedes. Esto significa que el desarrollo de la epizootia resulta de la interacción de dos componentes: temporal y espacial. El componente temporal se refiere a los cambios en la incidencia de la infección a lo largo del tiempo. El componente espacial, en cambio, involucra el movimiento de la enfermedad a través de la población del huésped (KAUPP Y SOHI, 1985). La combinación de los procesos espaciales y temporales puede ser representada por una "curva epizootica" que describe el progreso de la enfermedad en la población (EVANS, 1986). El patrón observado es semejante al descrito para enfermedades de vertebrados, aunque en el caso de los insectos el crecimiento de la curva de infección ocurre en varias generaciones de huéspedes (ENTWISTLE Y EVANS, 1985).

La curva epizootica puede ser dividida en tres fases. La fase pre-epizootica en general ocurre en una etapa temprana, cuando las larvas recién eclosionadas adquieren el virus, y se caracteriza por el pequeño número de huéspedes afectados, dando paso a los focos primarios de la enfermedad (el inóculo primario) en el ambiente (KAUPP Y SOHI, 1985; ALVES Y LECUONA, 1998). Esos focos se originan con la introducción de insectos infectados (o inóculo) o por la activación del virus que puede haber persistido entre generaciones en el suelo y/o en las plantas. Con la muerte de los huéspedes infectados se produce más virus (inóculo secundario), que causa un elevado índice de mortalidad entre los huéspedes. El alto índice de infección, resultante de la multiplicación y diseminación del inóculo producido en los focos primarios, caracteriza la fase epizootica. Por último, en la fase post-epizootica ocurre disminución del número de insectos infectados en relación a la fase anterior como resultado, entre otras causas, de la reducción del número y susceptibilidad de los huéspedes disponibles debido a la previa mortalidad de los individuos susceptibles. La forma de la curva descrita varía en función del hábito, ciclo de vida, densidad, edad y comportamiento del huésped, tipo de vegetación, condiciones de suelo, clima y la presencia de agentes diseminadores del patógeno (ENTWISTLE Y EVANS, 1985; KAUPP Y SOHI, 1985; ALVES Y LECUONA, 1998).

El componente espacial de la epizootia consiste, en general, en tres fases de dispersión del inóculo (ENTWISTLE *et al.*, 1983; EVANS, 1986). La dispersión primaria se observa a partir de focos discretos y aislados de la enfermedad en huéspedes recién infectados. Hay una rápida disminución de la incidencia de la infección a medida que la distancia entre los focos aumenta y, en la siguiente generación de huéspedes, la enfermedad se expande en forma de "ondas" de infección. A partir de ahí, se inicia la fase secundaria que consiste en ondas de dispersión cuya eficiencia depende de la producción de inóculo en la fase anterior y de la presencia de huéspedes susceptibles en los márgenes de la onda de infección. Según Entwistle *et al.* (1983), la fase terciaria de dispersión de la enfermedad, conocida como la fase de interferencia, no posee un patrón definido, estando la

enfermedad ya bastante diseminada en el área. Ese patrón caótico refleja la multiplicidad de focos de infección generada por agentes de diseminación discontinua (por ejemplo, pájaros), sobreponiéndose eventualmente a los focos de las fases primaria y secundaria (ENTWISTLE *et al.*, 1983; EVANS, 1986). En la naturaleza es difícil determinar con exactitud el origen de una epizootia, pues cuando una enfermedad alcanza grandes proporciones, hay abundancia y solape de los focos, que rápidamente interactúan para formar un patrón confuso de dispersión. Estudios teóricos recientes han empleado modelos matemáticos para explicar tales lagunas en el patrón de dispersión de la infección (DWYER, 1992; WHITE *et al.*, 1999).

Según Kaupp y Sohi (1985), el patrón de evolución de la enfermedad depende también del cambio en el grado de susceptibilidad de la larva a medida que envejece. En poblaciones donde el aumento de la resistencia de la larva al patógeno con la edad es relativamente pequeño, comparado con la cantidad de inóculo producido, la incidencia de la infección asumirá un patrón sigmoide. Ese patrón fue observado en poblaciones de *Neodiprion sertifer* (Hym.; Diprionidae), *Neodiprion swainei* (Hym.; Diprionidae), *Neodiprion lecontei* (Hym.; Diprionidae), *G. hercyniae* y *Mythimna (Pseudaletia) unipuncta* (Lep.; Noctuidae). Entretanto, en algunas poblaciones de lepidópteros, el progreso de la infección tiene forma de ondas, en las cuales el crecimiento inicial es seguido por un descenso en la incidencia de la enfermedad, probablemente porque el inóculo acumulado es incapaz de continuar infectando debido a una reducción radical en la susceptibilidad de las larvas más desarrolladas (KAUPP Y SOHI, 1985; EVANS, 1986). En las generaciones subsiguientes de insectos la incidencia de la infección aumenta hasta alcanzar una mortalidad generalizada, para después decaer en virtud de la reducción substancial del número de huéspedes susceptibles y de la persistencia del inóculo (EVANS, 1986).

Independientemente del perfil de variación en la incidencia de infección, el patrón general a través del cual ésta se disemina y permanece en la población del huésped resultará de la combinación de los siguientes factores: i) huésped, ii) patógeno y iii) ambiente (Figura 1). En la naturaleza estos factores interactúan constantemente, aunque, para mayor claridad, serán descritos separadamente en los próximos apartados.

4. Epizootiología: factores relacionados con los huéspedes

Epizootias producidas por baculovirus solamente se han registrado en insectos masticadores holometábolos, de vida libre, debido a una combinación de factores patológicos, fisiológicos, ecológicos y de comportamiento. Aunque la densidad poblacional y el comportamiento del insecto sean tradicionalmente considerados los factores más críticos en la ecología de la enfermedad, otras características intrínsecas de la especie y de la población también influyen en la dinámica de la infección.

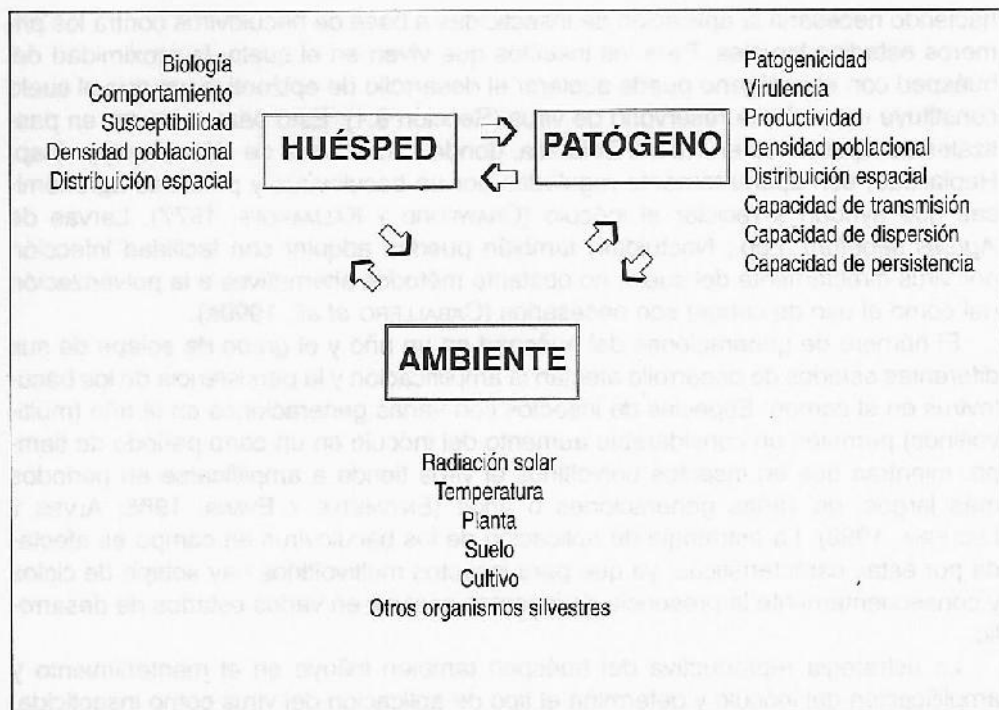


Figura 1. Principales factores que determinan la dinámica de la enfermedad en poblaciones de insectos.

4.1. Biología y hábitos del insecto

Epizootias de baculovirus típicamente ocurren en larvas terrestres y fitófagas, preferentemente las que se alimentan de la superficie de la planta y se dispersan ampliamente en el cultivo (ALVES Y LECUONA, 1998). Estas larvas tienen mayor probabilidad de adquirir el inóculo porque los cuerpos de inclusión tienden a permanecer en la superficie de hojas y frutos y en la capa superficial del suelo después de la muerte y descomposición del insecto infectado o después de ser introducidos en el ambiente. Informaciones acerca de la infección por baculovirus sobre insectos acuáticos y sociales son escasas. En el caso de insectos sociales, estrategias de prevención utilizadas contra patógenos, tales como limpieza de la colonia, remoción de cadáveres infectados y mudanza de la colonia, ayudan a evitar altos niveles de enfermedad (SCHMID-HEMPEL, 1998).

Insectos que hacen galerías en plantas o en granos almacenados pasan parte de su ciclo de vida protegidos de los patógenos y, así, el contacto insecto-virus en el ambiente se limita a una fracción de tiempo relativamente pequeña de la población susceptible. Este es el caso de *Diatraea saccharalis* (Lep.; Pyralidae), que puede esconderse de epizootias en las galerías que hace al tallo de la caña de azúcar,

haciendo necesaria la aplicación de insecticidas a base de baculovirus contra los primeros estadios larvales. Para los insectos que viven en el suelo, la proximidad del huésped con el patógeno puede acelerar el desarrollo de epizootias, ya que el suelo constituye un eficiente reservorio de virus (Sección 9.1). Esto parece ocurrir en pastizales semiperennes en Nueva Zelanda, donde poblaciones de *Wiseana* spp. (Lep. Hepialidae) son aparentemente reguladas por un baculovirus y prácticas agronómicas que ayudan a reciclar el inóculo (CRAWFORD Y KALMAKOFF, 1977). Larvas de *Agrotis segetum* (Lep.; Noctuidae) también pueden adquirir con facilidad infección por virus directamente del suelo; no obstante métodos alternativos a la pulverización (tal como el uso de cebos) son necesarios (CABALLERO *et al.*, 1990a).

El número de generaciones del huésped en un año y el grado de solape de sus diferentes estados de desarrollo afectan la amplificación y la persistencia de los baculovirus en el campo. Especies de insectos con varias generaciones en el año (multivoltinos) permiten un considerable aumento del inóculo en un corto periodo de tiempo, mientras que en insectos univoltinos el virus tiende a amplificarse en periodos más largos, de varias generaciones o años (ENTWISTLE Y EVANS, 1985; ALVES Y LECUONA, 1998). La estrategia de aplicación de los baculovirus en campo es afectada por estas características, ya que para insectos multivoltinos hay solape de ciclos y consecuentemente la presencia de insectos nocivos en varios estados de desarrollo.

La estrategia reproductiva del huésped también influye en el mantenimiento y amplificación del inóculo y determina el tipo de aplicación del virus como insecticida. Insectos que adoptan estrategias de vida tipo "r" en general colonizan ambientes temporales, tienen un ciclo de vida corto, son polífagos, tienen un tamaño corporal relativamente pequeño y una alta tasa de reproducción. En cambio, los insectos que adoptan estrategias de vida tipo "K" aprovechan nichos específicos con mayor eficiencia, tienen un ciclo de vida largo y tasas reproductivas menores; su tamaño corporal es relativamente mayor y presentan adaptaciones específicas a su ambiente (ALVES Y LECUONA, 1998). Según Fuxa (1995), esta diferencia afecta a la planificación del control; por ejemplo, para el control de plagas de tipo "r", una introducción anticipada del inóculo y autodiseminación del patógeno serían estrategias posibles, utilizándose aplicaciones múltiples, mientras que contra especies tipo "K", introducciones del virus a intervalos periódicos, serían la estrategia más adecuada.

4.2. Comportamiento del insecto

4.2.1. Canibalismo, oviposición y movilidad

La ocurrencia de canibalismo tiene dos consecuencias directas en la ecología de los baculovirus. La primera es la reducción de la densidad poblacional de huéspedes susceptibles, elemento clave para el inicio y permanencia de epizootias. Por otro lado, el canibalismo sobre individuos infectados, en caso que ocurra, puede constituir una forma de adquisición del patógeno. La información sobre la transmisión de baculovirus por canibalismo es contradictoria: Evans (1986) menciona que larvas de *M. brassicae* exhiben canibalismo intenso sobre cadáveres infectados, aunque

Vasconcelos (1996a) detectó una baja frecuencia de este fenómeno en la misma especie y consecuentemente una transmisión limitada del virus. El canibalismo en *Heliothis armigera* (Lep.; Noctuidae) contribuyó a la transmisión de un NPV (DHANDAPANI *et al.*, 1993); en cambio, en *S. frugiperda*, cuya larva es típicamente canibal, ocurrió poca transmisión del virus como consecuencia de dicha actividad (CHAPMAN *et al.*, 1999).

En casos donde el virus es transmitido del adulto a la descendencia (Sección 7.2), el comportamiento de oviposición de la hembra contaminada puede afectar la diseminación de la enfermedad. Por ejemplo, la hembra de *G. hercyniae* vuela activamente durante el periodo de puesta y pone los huevos individualmente. Cada huevo representa un nuevo foco de infección, y, por tanto, el potencial de dispersión del patógeno es considerable (BIRD, 1961; WATANABE, 1987). No obstante, la hembra de *N. sertifer* realiza la puesta en grupos y las larvas recién eclosionadas son gregarias y se mueven poco, lo que reduce la cantidad de focos de infección dispersos en el ambiente (*ibid.*).

Los cambios de comportamiento a lo largo del ciclo pueden afectar la tasa de transmisión entre larvas que habitan diferentes ambientes en el sistema suelo-planta. Por ejemplo, las larvas de *S. frugiperda* migran para el cogollo del tallo de la planta de maíz a partir del 2º estadio, donde se encuentran prácticamente aisladas debido a su conducta canibal, que reduce la amplificación potencial del inóculo. En contraste, las larvas de *M. brassicae* abandonan el lado inferior de las hojas para migrar hacia la cabeza de la col después del 4º estadio. En este sitio se encuentran a bajas densidades y próximas a la pupación, haciendo que el inóculo liberado, después de la licuefacción de los cadáveres tenga poco reciclaje inmediato (VASCONCELOS *et al.*, 1996a). Larvas jóvenes de *T. ni* y *Pieris rapae* (Lep.; Pieridae) tienen bajas tasas de alimentación y habitan áreas reducidas de la planta; a medida que envejecen aumentan su dispersión, alimentándose más y en áreas mayores lo que según Fuxa (1995), traería dos consecuencias en la aplicación de virus insecticida. La primera es que si una población tiene un patrón agregado, entonces el máximo de patógeno debe ser aplicado sobre esos agregados a fin de contactar el máximo de insectos con la pérdida mínima de virus. Por otro lado, insectos que forman agregaciones tendrían, teóricamente, alto riesgo inmediato de transmisión, como severa mortalidad, aunque la distribución espacial del inóculo sería más limitada.

4.2.2. Modificaciones del comportamiento causadas por baculovirus

Los cambios de comportamiento asociados a infecciones causadas por baculovirus fueron descritos hace casi un siglo, cuando larvas infectadas de *L. monacha* observadas en la cresta de pinos originaron el término *wipfelkrankheit* o "enfermedad de cresta de árbol" (WAHL, 1909 *apud* ENTWISTLE Y EVANS, 1985). Desde entonces, se ha descrito que las larvas infectadas de algunas especies tienen una movilidad acentuada, distanciándose de la planta alimenticia o migrando para lo alto de la misma donde mueren típicamente colgando de los pseudópodos en la forma de una "V" invertida (SMIRNOFF, 1965; EVANS Y ALLAWAY, 1983; MURRAY Y ELKINTON, 1992; VASCONCELOS *et al.*, 1996a). La pérdida del hábito gregario y una mayor movilidad fue-

ron observadas en larvas de algunos himenópteros infectados con baculovirus (SMIRNOFF, 1965; TANADA, 1976), en cuanto larvas gregarias de lepidópteros infectadas parecen caminar sin orientación definida sobre la hoja y pierden el hábito de alimentarse en grupo (FEDERICI Y STERN, 1990).

Vasconcelos *et al.* (1996a), observando *M. brassicae* en plantas de col, notaron que la alteración del comportamiento ocurre en varios estadios y depende del grado de la infección: inicialmente (2 días post-infección), larvas sanas e infectadas presentan movilidad semejante. En estadios intermedios a los 4 días post-infección (p.i.), los insectos infectados recorren distancias hasta 5 veces mayores que los sanos, aunque posteriormente, las larvas moribundas (7 días p.i.) presentan una reducida movilidad. La aparición de síntomas a partir del tercer día coincide con la multiplicación generalizada del virus, que en ese momento ya se replica en las células nerviosas, músculos, tejido adiposo y ganglios, entre otros (GRANADOS Y WILLIAMS, 1986).

Aunque el mecanismo involucrado en los cambios de comportamiento todavía permanezca desconocido, las consecuencias ecológicas del fenómeno pueden ser inferidas. La mayor movilidad de la larva infectada contribuye a la diseminación de inóculo y también al reciclaje del inóculo secundario (EVANS Y ALLAWAY, 1983). La migración de larvas moribundas para las partes altas de las plantas o al ápice de las hojas constituye un eficiente mecanismo de diseminación; los cuerpos de inclusión se dispersan a las regiones inferiores de la planta y al suelo por la desintegración del cadáver o por la acción de la lluvia, aumentando el área contaminada (D'AMICO Y ELKINTON, 1995; VASCONCELOS *et al.*, 1996a). Es más, la posición expuesta del cadáver en la planta, combinada al color pálido resultante de la infección, lo deja presa fácil de aves, depredadores que actúan como diseminadores de los baculovirus (Sección 8.2.2) (ENTWISTLE *et al.*, 1977ab, 1993).

Siendo los efectos generales de la infección, por definición, perjudiciales al huésped y beneficiosos al patógeno, la hipótesis de que el comportamiento del insecto es modificado apenas para maximizar la transmisión y supervivencia del patógeno debe ser considerada con cautela. Los cambios en el comportamiento pueden haber evolucionado para beneficiar a uno u otro organismo o simplemente como consecuencia del estrés o patología, sin ninguna ventaja aparente o selectiva en términos evolutivos para el insecto o el patógeno (HORTON Y MOORE, 1993). Al apartarse de sus congéneres, las larvas pueden estar minimizando el riesgo de infección para los individuos de la misma especie. Sobre este punto de vista, la migración a la parte exterior de la planta puede auxiliar al huésped; al quedarse expuesta la larva moribunda a la radiación ultravioleta, se facilita la desactivación del virus y, consecuentemente, se reduce el riesgo de transmisión a los individuos de la misma especie.

4.3. Predisposición del huésped

4.3.1. Susceptibilidad

Diferencias en las condiciones fisiológicas del huésped hacen que la respuesta a la infección varíe, incluso entre individuos de la misma especie provenientes de crías de laboratorio. Esta variación es común entre poblaciones de regiones geo-

gráficas distintas, posiblemente debido a diferencias en la exposición al patógeno o diferencias genéticas intrínsecas. Por ejemplo, Fuxà (1987) encontró diferencias significativas en la susceptibilidad de poblaciones de *S. frugiperda* provenientes de América del Norte, Central y Sur.

Los parámetros más utilizados para estimar la susceptibilidad de un insecto a un patógeno son la Dosis Letal Media (DL_{50}) y el Tiempo Letal Medio (TL_{50}). La DL_{50} se refiere al número de cuerpos de inclusión necesarios para matar 50% de la población experimental en un bioensayo. El TL_{50} se refiere al tiempo en el cual se observa la mortalidad de 50% de la población experimental. Tanto la DL_{50} como el TL_{50} varían con la especie, estadio, condiciones fisiológicas, sexo y estado nutricional de la larva, cepa del virus, condiciones de temperatura y dieta, etc. (Sección 4.4).

Una visible disminución de la susceptibilidad, medida por el mayor número de cuerpos de inclusión y/o por el mayor tiempo necesario para la muerte del huésped ocurre a medida que la larva crece, siendo este fenómeno conocido como "inmunidad por maduración" (WATANABE, 1987; TANADA Y KAYA, 1993). Por ejemplo, la DL_{50} de un NPV de *M. brassicae* aumenta 34.000 veces del 1º al 5º instar (EVANS, 1981, 1983). Una larva recién eclosionada de *Malacosoma disstria* (Lep.; Lasiocampidae) puede adquirir una infección letal al ingerir un sólo cuerpo de inclusión, mientras que la larva del 3º estadio necesitaría de 1.000 OBs y la del 4º instar, de 68.000 OBs (STAIRS, 1965). Además de la edad de la larva, procesos fisiológicos y hormonales pueden afectar el progreso individual de la enfermedad: interrupciones en la multiplicación de los baculovirus fueron observadas en pupas de *Bombyx mori* (Lep.; Bombycidae) y en *G. hercyniae* en diapausa (WATANABE, 1987).

El estadio de la larva es importante en el desarrollo de enfermedades, porque la infección en larvas más jóvenes conduce a la formación rápida de los focos de enfermedad y, en cambio, la infección de insectos más viejos contribuye a una mayor producción de la progenie del virus. La combinación de diferencias en la susceptibilidad y comportamiento del insecto determinará la probabilidad de ocurrencia de epizootias (Sección 4.2.1). Webb y Shelton (1990) notaron que larvas del 3º estadio de *Artogeia rapae* (Lep.; Pieridae) tienen mayor probabilidad de infección y que aplicaciones del virus deben ser dirigidas contra los 2º y 3º estadios, y no contra larvas recién eclosionadas. Eso sugiere que la reducción de susceptibilidad en la larva a medida que aumenta su desarrollo pueda ser compensada por la mayor probabilidad de adquirir el patógeno debido al mayor consumo de alimento y/o movilidad. Este hecho también fue observado en trabajos recientes (DWYER, 1991; GOULSON *et al.*, 1995).

4.3.2. Resistencia

La resistencia puede ser definida como el desarrollo de la habilidad de una raza o cepa de insectos para tolerar la dosis de un patógeno que causaría muerte o enfermedad en una población normal de la misma especie (FUXA, 1995); así, esto es una característica genética. Entre tanto, en términos de la aplicación de un patógeno, debe ser considerada como característica de una población local. La resis-

tencia a patógenos ya fue detectada en diversos órdenes de insectos. Sin embargo, se cree que este proceso es menos frecuente y requiere más tiempo para manifestarse que la resistencia a insecticidas químicos.

La aparición de resistencia en una población de insectos probablemente ocurre tras una asociación prolongada con la enfermedad, simplemente por un proceso de selección natural (WATANABE, 1987). La resistencia a los baculovirus ya fue generada en poblaciones de laboratorio: en un periodo de 7 generaciones se aumentó casi 4 veces la DL_{50} de *S. frugiperda* a su NPV (FUXA *et al.*, 1988). De la misma manera, Briese y Mende (1983) observaron un aumento de 140 veces en la resistencia de una población de *P. operculella* en apenas 6 generaciones del insecto. Entre tanto, este fenómeno no parece ocurrir tan fácilmente en otras especies: la resistencia de *Plodia interpunctella* (Lep.; Pyralidae) a un GV no llegó a ser del doble, aún cuando la población fue expuesta al patógeno por 15 generaciones (BOOTS Y BEGON, 1993).

El desarrollo de la resistencia en campo es difícil de cuantificar, especialmente porque pocos programas de control biológico se mantienen por tiempo suficiente para detectar el fenómeno. Una excepción es el control de *A. gemmatilis* con un NPV en soja, en el sur de Brasil, que lleva casi 20 años en práctica. En el laboratorio se observó una resistencia de cerca de 1.000 veces comparada a insectos testigo después de 15 generaciones de presión de selección del virus (ABOT *et al.*, 1995, 1996). Aunque esto sugiera la posibilidad de resistencia en poblaciones naturales, en el campo no fueron registradas diferencias significativas entre la DL_{50} de insectos provenientes de áreas expuestas al virus y de áreas libres del patógeno (ABOT *et al.*, 1996).

Una vez que el patógeno ha evolucionado juntamente con su huésped, es natural que las presiones para el desarrollo de resistencia por parte del insecto sean compensadas por alteraciones en el mecanismo de infección del virus, para contrarrestar este proceso. Se cree que la migración de insectos de áreas no expuestas al virus contribuye a impedir el desarrollo pleno de resistencia en campo (MOSCARDI, 1998). Además, la resistencia puede revertir cuando la presión de selección es eliminada: después de una sola generación en la ausencia del patógeno no fueron observadas diferencias entre la DL_{50} de la población "resistente" y la de la población testigo de *S. frugiperda* (FUXA Y RICHTER, 1989).

Los costos involucrados en la diferencia de susceptibilidad al patógeno son poco conocidos. En poblaciones resistentes se ha observado mayor tiempo de desarrollo (SAIT *et al.*, 1994a) y reducción en la fecundidad y viabilidad de los huevos (FUXA Y RICHTER, 1989). Myers (1988) sugirió que, si la fecundidad reducida es un costo por mayor resistencia al virus, entonces altas poblaciones expuestas a epizootias de virus tenderían a decaer. Cuando la presión de selección fuese eliminada, la susceptibilidad de la población aumentaría conjuntamente con su fecundidad, criando así los ciclos poblacionales observados en ambientes forestales. Uno de los problemas de la cuantificación de la resistencia en campo es la dificultad de detectar, también, la presencia de infecciones subletales por virus (Sección 9.2). En todo caso, el destino final del virus y su éxito para establecerse

en una población dependerá de la proporción y del grado de resistencia encontrado y la rapidez con que es adquirida.

4.4. Densidad y distribución de la población

Los baculovirus, como la mayoría de los patógenos, actúan de manera dependiente de la densidad del huésped, o sea, poblaciones de virus aumentan o disminuyen en función de las variaciones de la densidad poblacional del insecto (TANADA Y KAYA, 1993). Esto no es difícil de entender, ya que a altas densidades aumenta la probabilidad de contacto entre el insecto y el inóculo presente en las hojas, suelo, cadáveres, etc. (WATANABE, 1987). Así también, en altas poblaciones de un insecto la competencia por alimento puede estresar y debilitar parte de la población, tornándola más predispuesta a la infección (*ibid.*). Cambios de comportamiento asociados a densidades elevadas, como la movilidad acentuada, pueden aumentar la tasa de contacto entre el huésped y el virus que, en general, presenta una distribución espacial heterogénea.

Durante la ocurrencia de una epizootia se produce un retraso del pico en la población del patógeno en relación al del insecto; es decir, la enfermedad actúa de manera densidad-dependiente retardada (TANADA Y KAYA, 1993). Vale la pena resaltar dos puntos, primero que lo más importante no es el número de individuos sino la densidad de la población, o sea la cantidad de insectos por unidad de área, y, segundo, que al referirse a un efecto dependiente de la densidad se entiende que el efecto proporcional de la enfermedad es mayor en densidades elevadas (JERVIS Y KIDD, 1996). En condiciones de campo habrá una densidad umbral límite, bajo la cual el patógeno no conseguirá encontrar huéspedes y multiplicarse suficientemente para mantener la cadena de transmisión (ANDERSON Y MAY, 1981).

La relación entre densidad del huésped y el progreso de la enfermedad ha sido bien documentada en epizootias de *L. dispar* (DOANE, 1970) y *T. ni* (JACQUES, 1962) y se sabe, por ejemplo, que el desarrollo de la enfermedad en poblaciones de *N. sertifer* requiere un mínimo de dos colonias activas por árbol (EVANS, 1986). Entre tanto, grandes densidades no son las únicas condiciones para desencadenar epizootias. La distribución espacial de la población del insecto en el sistema suelo-planta es, sin duda, tan importante como su densidad, exigiendo un mínimo de contacto entre huéspedes sanos e infectados para que la transmisión se efectúe (Sección 4.1).

En cuanto el efecto de la densidad del huésped en la transmisión del virus es fácilmente perceptible, aún no se sabe como la densidad afecta la susceptibilidad del huésped. Larvas de *Mythimna separata* (Lep.; Noctuidae) mantenidas individualmente hasta la infección fueron tres veces más susceptibles a un BV que aquellas criadas a una densidad de 20 larvas por recipiente (KUNIMI Y YAMADA, 1990). Además, larvas mantenidas en grupos después de la infección fueron cuatro veces más resistentes que aquellas mantenidas individualmente (*ibid.*). Resultados similares fueron reportados por Goulson y Cory (1995) y Wilson y Reeson (1998) con especies diferentes de lepidópteros.

5. Factores relacionados con el patógeno

5.1. Patogenicidad, virulencia y variabilidad de los baculovirus

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

Hasta cierto punto, el análisis de virulencia es obstaculizado por la nomenclatura de los baculovirus basada en el nombre de la especie del insecto en la cual fue aislado, sin considerar que aislamientos de un mismo virus, recolectados en regiones geográficas diferentes (o en la misma región, pero en épocas diferentes) pueden presentar una variación considerable en su composición genética (CHERRY Y SUMMERS, 1985; SHAPIRO *et al.*, 1991) y en sus propiedades biológicas (Hatfield y Entwistle, 1988). Diferencias de virulencia de distintas cepas geográficas, normalmente comparadas a través de bioensayos, pueden estar asociadas a diferencias bioquímicas o genéticas (CASTRO *et al.*, 1999).

Las cepas muy virulentas, naturalmente, poseen ventajas como agentes de control. Así también, para el control biológico clásico, patógenos de virulencia moderada serían más eficientes a largo plazo, ya que descensos bruscos en la población del huésped pueden llevar a la extinción del propio patógeno, en caso de que este no disponga de mecanismos de persistencia adecuados (ANDERSON Y MAY, 1981). Los baculovirus de acción rápida serían adecuados para el control de plagas en cultivos de ciclo anual, mientras que, con virulencia menor o de acción más lenta estarían más adaptados a sistemas forestales, los cuales resisten un mayor nivel de defoliación sin sufrir una pérdida económica (ANDERSON Y MAY, 1981; ALVES Y LECUONA, 1998). En todo caso, la virulencia no puede ser considerada de forma aislada, pero sí relacionada con otros aspectos del ciclo de vida del patógeno, como su tasa de transmisión y su capacidad de persistencia.

La virulencia del baculovirus puede ser modificada al ser amplificado en huéspedes alternativos y se piensa que el proceso de selección natural también actúe en la eliminación de cepas menos adaptadas al ambiente (CORY *et al.*, 1997). También es posible aumentar la virulencia de una cepa a través de la ingeniería genética, agregando características que promuevan mayor rapidez para causar la muerte, alteraciones en el ciclo de vida del insecto o persistencia del virus (BONNING Y HAMMOCK, 1996). Sin embargo, la mayor rapidez de las cepas mejoradas disminuye el reciclaje del inóculo en situaciones de campo, debido a su menor productividad. Por ejemplo, un NPV de *A. californica* modificado para expresar una toxina de escorpión redujo el tiempo letal en un 25%, pero su productividad (OBs) también quedó reducida 10 veces (CORY *et al.*, 1994).

Técnicas moleculares indican que un insecto infectado por baculovirus puede producir un número variable de variantes que, aún siendo próximas, difieren en la manera en la cual interactúan con el huésped, especialmente en su virulencia. Variaciones genotípicas de una población de baculovirus también pueden surgir por recombinación (CROZIER Y RIBEIRO, 1992), mutaciones o adquisición del DNA celular del huésped (BROWN *et al.*, 1985). La ocurrencia de esta variabilidad estimula importantes interrogantes sobre el mantenimiento de la diversidad de los baculovirus en la población del insecto y sobre la selección de cepas para el control aplicado. Por ejemplo, en la recolecta en campo de cadáveres conteniendo mezclas de diferentes cepas, para la posterior aplicación del virus, a largo plazo se favorece la selección de cepas más productivas en detrimento de las más rápidas (CORY *et al.*, 1997). Para evaluar este proceso, en el control de *A. gemmatilis* con un NPV en Brasil, se sigue un riguroso monitoreo de la variabilidad y estabilidad genética de aislamientos temporales y geográficos desde que el programa fue iniciado hace cerca de 20 años (CASTRO *et al.*, 1999).

5.2. Especificidad y estrategia reproductiva

Los baculovirus tienen un limitado espectro de huéspedes y esto representa una gran ventaja en términos de seguridad, ya que ofrece riesgos mínimos para el hombre, animales domésticos y enemigos naturales. Por otro lado, tal especificidad es comercialmente desfavorable, pues el bioinsecticida no es capaz de combatir el complejo de plagas que normalmente ataca un cultivo, al contrario de los insecticidas químicos de amplio espectro. Los baculovirus con gama de huéspedes más amplia tienen mayor probabilidad de ser ingeridos por huéspedes susceptibles, manteniendo la cadena de transmisión y consecuentemente aumentando la densidad del patógeno y la prevalencia de la enfermedad. Al disponerse de huéspedes alternativos, se aumenta la persistencia del virus en el ambiente, especialmente en periodos de baja densidad del huésped principal (o de mayor importancia económica). Es obvio que cuanto mayor es el número de especies susceptibles, mayor la cantidad de inóculo producido, acelerando el progreso de la epizootia y aumentando el diámetro de la onda de infección.

Desafortunadamente, muchos estudios sobre el espectro de huéspedes de los baculovirus sufren de la metodología rudimentaria utilizada que, hasta recientemente, ignoraba la posibilidad de infecciones cruzadas. No obstante, con el refinamiento de técnicas moleculares que identifican con precisión la naturaleza del virus-inóculo y su progenie, se ha observado que las infecciones cruzadas son relativamente frecuentes (CORY *et al.*, 1997). Como no todas las especies son igualmente susceptibles a un baculovirus, hay una graduación de susceptibilidad, que según Bishop *et al.* (1995), identifica las especies como permisivas, semi-permisivas y no-permisivas. Los bioensayos de laboratorio apenas confirman la posibilidad de que una especie pueda ser infectada en condiciones ideales, eliminando aquellas cuya infección sería improbable. Cory *et al.* (1997) han apuntado la necesidad de identificar el espectro "ecológico" de huéspedes, o sea, el grado de interacción

entre especies permisivas, semi-permisivas y el patógeno en el ambiente, para detectar el verdadero riesgo de infección de la(s) especie(s).

En relación a la estrategia reproductiva, la mayoría de los baculovirus descritos pueden ser clasificados como estrategias "r", pues generalmente son capaces de provocar epizootias, tienen un tasa de reproducción rápida y actúan con eficiencia sobre poblaciones de insectos en un sistema de transmisión directa (ALVES Y LECUONA, 1998). Por otro lado, los virus estrategias "K" son generalmente enzoóticos, menos virulentos, poseen una limitada persistencia fuera del huésped y tienen baja capacidad de diseminación, por lo que patógeno y huésped pueden coexistir en un equilibrio más o menos estable. De modo general, los virus estrategias "r" son recomendados para el control de plagas anuales, mientras que los estrategias "K" son recomendados para el control de plagas de cultivos perennes o semiperennes, por medio del aumento o introducción inoculativa (FUXA, 1995).

5.3. Productividad

La intensa multiplicación de los NPV en el huésped resulta en una liberación *per capita* de cuerpos de inclusión extremadamente elevada. Por ejemplo, se han registrado hasta $6,6 \times 10^8$ OBs en *M. disstria* (EBLING Y KAUPP, 1999), $1,1 \times 10^9$ OBs en *L. dispar* (SHAPIRO *et al.*, 1981), $3,0 \times 10^9$ OBs en *A. gemmatilis* (MOSCARDI, 1999), y $3,3 \times 10^9$ OBs en *Spodoptera exigua* (Lep.; Noctuidae) (CHERRY *et al.*, 1997) comparado con hasta 6×10^{10} gránulos del GV por cadáver de *A. segetum* (VARGAS-OSUNA *et al.*, 1995).

En estudios de laboratorio se ha determinado que la cantidad de cuerpos de inclusión producidos por diversas especies de lepidópteros e himenópteros depende de la dosis inicial, temperatura, estado nutricional, especie, edad y sexo del insecto, entre otros. (EVANS, 1986; SMITS Y VLAK, 1988b; VARGAS-OSUNA *et al.*, 1995). Los datos sobre la productividad de individuos muertos por baculovirus en situaciones de campo son raros. Para los estudios de ecología de los baculovirus se debe señalar que la productividad aumenta substancialmente con el estadio y en el caso de larvas de lepidópteros, con el peso del insecto. En *M. brassicae* se han señalado diferencias de más de 100 veces entre la productividad de cadáveres cuando las larvas fueron infectadas en el 1^{er} y 5^o estadios (EVANS *et al.*, 1981).

La productividad también depende del intervalo entre la infección y la muerte de la larva, de modo que insectos que mueren más rápido producen, en general, menos virus. Esto afecta la velocidad de producción de inóculo en el campo y es un punto clave en la utilización de virus manipulados genéticamente de acción más rápida. Para estimar la transmisión y persistencia del virus en el sistema, idealmente, se debería considerar no sólo la producción por larva, sino también la tasa de aumento de inóculo dentro del huésped. De ese modo sería posible determinar cuánto y cuándo el nuevo inóculo estará disponible para iniciar infecciones secundarias. Según Evans *et al.* (1981), una de las aplicaciones de la determinación de la productividad es la recolección, en un tiempo optimizado, de individuos en campo para reutilizar el virus, sin que haya contaminación por bacterias oportunistas.

tas sobre los cadáveres. Tanto la productividad como la adquisición del virus por huéspedes sanos dependen también del tropismo de tejido del patógeno (infección localizada vs. generalizada).

5.4. Densidad y distribución poblacional

Así como la densidad del huésped (Sección 4.4), la densidad poblacional del patógeno también determina el mantenimiento de la cadena de transmisión. Su efecto es interdependiente de factores como la distribución espacial y modo de liberación del virus, la susceptibilidad de la población del huésped y la probabilidad de adquisición del virus por la larva. Los estudios de laboratorio informan sobre las dosis y tiempos letales pero es prácticamente imposible determinar la dosis real ingerida por el huésped en campo. Intuitivamente se deduce que la distribución espacial del inóculo afectará la transmisión de manera crítica, porque que la distribución espacial del virus es bastante heterogénea, consistente, en general, en agregados de OBs resultantes de la liquefacción de cadáveres. Además de la cantidad de inóculo presente, éste debe estar rápidamente disponible y distribuido de forma accesible al insecto. Las técnicas de cultivo pueden alterar la distribución del patógeno; por ejemplo, el NPV de *A. gemmatilis* tiende a permanecer en los 35 cm más superficiales del suelo y puede ser reciclado por técnicas agronómicas (FUXA Y RICHTER, 1996).

5.5. Capacidad de transmisión, dispersión y persistencia

Las capacidades de transmisión, dispersión y persistencia son características inherentes al patógeno las cuales desempeñan una función primordial en el inicio y mantenimiento de epizootias y en el éxito del virus como agente de control biológico. Por este motivo, serán discutidos separadamente como procesos ecológicos (Figura 2) (Secciones 7, 8, 9).

6. Factores relacionados con el ambiente

Los componentes del ecosistema involucrados en la dinámica de la infección incluyen factores abióticos (radiación solar, lluvia, temperatura, propiedades físico-químicas de suelo) y bióticos (características de la planta huésped, la actividad de microorganismos saprófagos, etc.). Algunos de estos factores son fácilmente cuantificables en laboratorio, por ejemplo, la influencia de la temperatura en la persistencia del virus, aunque la combinación de estos componentes en el campo exige estudios con un creciente grado de complejidad.

6.1. Radiación solar

La radiación solar representa el factor ambiental más crítico para la supervivencia de todos los entomopatógenos. El espectro de la luz visible (390–770 nm)

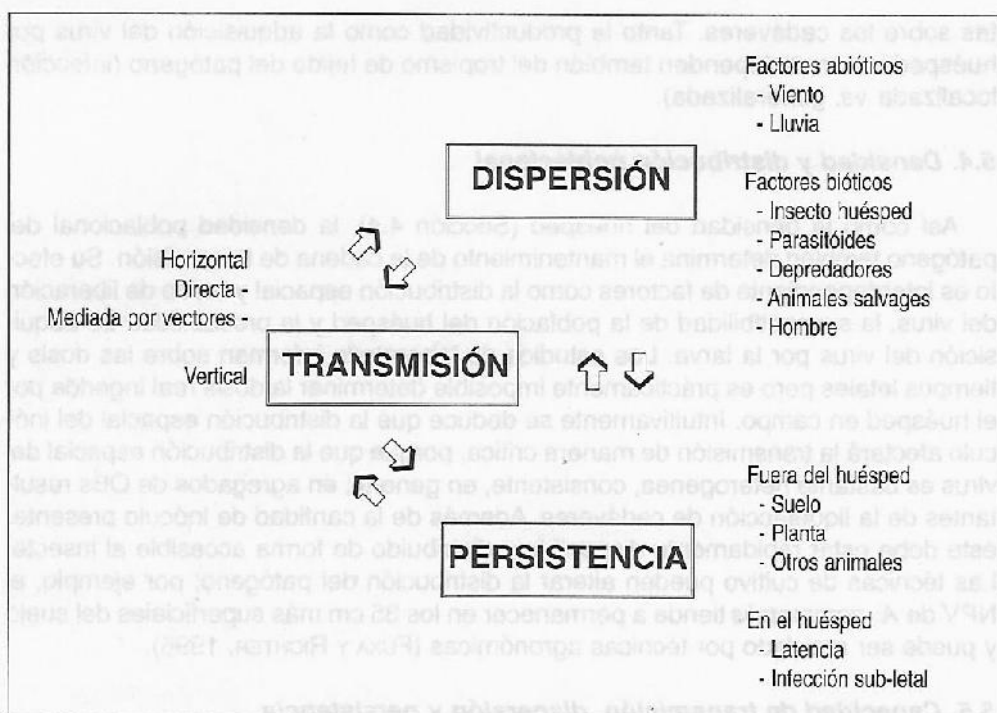


Figura 2. Principales procesos que determinan la ocurrencia de epizootias por baculovirus en poblaciones de insectos.

parece tener poco efecto sobre los baculovirus y estos efectos disminuyen a medida que se aumenta la amplitud de onda (ENTWISTLE Y EVANS, 1985). Por otro lado, la banda de luz ultravioleta (UV), inferior a 390 nm, es responsable de la desactivación gradual del virus, especialmente cuando los cuerpos de inclusión son expuestos a amplitudes de ondas de 290 a 315 nm (MCLEOD *et al.*, 1977; RICHARDS Y PAYNE 1982; KILLICK, 1990). Aunque el sol emita todas las amplitudes de onda de la banda ultravioleta, poca radiación ultravioleta inferior a 290 nm alcanza la superficie de la tierra (HARM, 1980).

Los efectos de la radiación en sistemas biológicos se deben principalmente a la absorción de rayos UV por los ácidos nucleicos o, en menor escala, por otras macromoléculas (HARM, 1980). El tiempo para la inactivación depende del virus, de la protección vegetal y de las características del suelo. Según Ignoffo *et al.* (1977), los baculovirus son rápidamente inactivados (< 24 horas) cuando expuestos directamente a la luz del sol, o pueden persistir hasta 6 meses en condiciones bien sombreadas (BENZ, 1987). Comparando los baculovirus a otros virus de insectos que poseen cuerpos de inclusión, Ignoffo *et al.* (1977) propusieron la siguiente escala de sensibilidad UV: entomopoxvirus (más resistente) > nucleopoliedrovirus = cipo-virus > granulovirus (más susceptible).

La acción directa de rayos UV en la dinámica de la enfermedad se relaciona con la persistencia del virus en campo y la estimación de ésta es obstaculizada por la naturaleza artificial de la mayoría de los estudios disponibles. Hunter-Fujita *et al.* (1998) destacan la falta de una estandarización en los análisis de la proporción de los OBs supervivientes, en la extrapolación de curvas de mortalidad y en las comparaciones directas con la mortalidad causada por el virus no expuesto a la radiación. Muchos factores del ecosistema son comúnmente ignorados. Se sabe, por ejemplo, que la tasa de radiación que llega a la Tierra depende de la latitud, de las condiciones atmosféricas y de la estación del año. Esto explica por qué un GV de *Pieris brassicae* (Lep.; Pieridae) sobre hojas de col fue inactivado dos veces más rápido en el verano que durante el invierno (RICHARDS Y PAYNE, 1982). Los tejidos de larvas también ofrecen alguna protección, ya que los OBs presentes en cadáveres presentan mayor resistencia que en forma de suspensión pura (BENZ, 1987).

Gran parte de la persistencia de los baculovirus en sistemas forestales se debe a la protección de los OBs mediante la sombra proporcionada por los árboles (Sección 6.3), permitiendo al virus sobrevivir en la parte superficial del suelo (Sección 9). A pesar de la mayor protección al virus conferida por las plantas de mayor tamaño y densidad foliar, el bombardeo de rayos ultravioleta reflejado en la superficie de la hoja, permite la penetración de cierta cantidad de radiación, aún en las áreas más internas de la planta (ENTWISTLE Y EVANS, 1985). De esta forma, para minimizar la acción de UV sobre los virus aplicados en campo, se recomienda el uso de sustancias protectoras y la aplicación del virus en horarios de menor radiación solar.

6.2. Temperatura y humedad

La temperatura afecta a dos aspectos de la enfermedad en una población de insectos: la supervivencia del patógeno fuera del huésped y el desarrollo de la enfermedad en individuos infectados. Temperaturas extremadamente elevadas pueden inactivar el baculovirus antes de que éstos alcancen al huésped (FUXA, 1995), o reducir la susceptibilidad del insecto a la infección, probablemente por disminuir la actividad de la larva o mediante una menor adsorción o penetración del virus en la célula (BENZ, 1987). Por otro lado, temperaturas altas tienden a acelerar la muerte del insecto infectado y, con ello, la productividad del virus en el huésped es reducida, disminuyendo el inóculo disponible para la transmisión posterior (ENTWISTLE Y EVANS, 1985).

La mayoría de los baculovirus se multiplican mejor entre 24 y 29°C y no soportan temperaturas superiores a los 60°C. La inactivación del virus a temperaturas elevadas parece resultar de la descomposición de sus macromoléculas, aunque, en condiciones de campo, temperaturas del aire por encima de los 45°C y del suelo por encima de 50°C son raras. Los virus purificados pueden ser conservados en refrigeración (4°C) o congelación (-20°C) por más de 20 años, pudiendo ser ocasionalmente congelados y descongelados con poca pérdida de actividad

(SHIEH, 1989). Así, en el control de *A. gemmatilis* con NPV en Brasil, se le recomienda al agricultor coleccionar larvas moribundas en el campo y congelarlas hasta que se requiera una nueva aplicación del virus (ALVES Y LECUONA, 1998).

A pesar de su extrema importancia para hongos y nematodos entomopatógenos, la humedad relativa parece ser menos crítica para la supervivencia de los baculovirus. Por ejemplo el NPV de *A. gemmatilis* puede causar infecciones en condiciones de baja humedad, incluso cuando otros patógenos como hongos, son incapaces de provocar una infección (MOSCARDI, 1998). Aparentemente, el efecto mecánico de la lluvia no perjudica al virus y puede dispersar el virus verticalmente a lo largo de la planta (DAVID Y GARDINER, 1966).

6.3. Características del cultivo y del suelo

La importancia de la planta se manifiesta especialmente en función de su morfología, de la composición química y de la calidad alimenticia hacia el insecto huésped. Como se ha mencionado anteriormente (Sección 9.1.2), la altura y densidad foliar afectan la persistencia del virus una vez que la cobertura vegetal ofrece sombra de la luz solar. De tal manera, los baculovirus tienen mayores probabilidades de persistir en árboles, especialmente en el área sombreada de la parte interior e inferior del follaje (KILLICK Y WARDEN, 1991).

Se ha observado que las características químicas de la superficie foliar juegan un papel importante en la estabilidad del virus. Por ejemplo, el rocío formado en las noches sobre las hojas de la planta de algodón tiene un pH bastante alcalino y contribuye a la inactivación de un NPV de *H. virescens* (ELLEMAN Y ENTWISTLE, 1985). Es más, la presencia de glándulas que excretan complejos salinos y de cationes bivalentes, como Ca^{++} y Mg^{++} , en la superficie foliar pueden causar inactivación del virus o reducción de su virulencia *in vivo* (HUNTER-FUJITA *et al.*, 1998).

La calidad de la planta como alimento para el insecto depende de la especie, edad, estado fisiológico y composición química del tejido ingerido, además de la capacidad de digestión del insecto, de metabolizar y asimilar el alimento (DUFFEY *et al.* 1995). La composición química de la planta influencia no sólo la actividad del virus, sino también la fisiología del insecto huésped. Un número creciente de estudios han señalado los efectos del substrato alimenticio sobre la susceptibilidad del huésped a la infección (KEATING Y YENDOL, 1987; RICHTER *et al.*, 1987; DUFFEY *et al.*, 1995; PENG *et al.*, 1997; ALI *et al.*, 1998). Los componentes más influyentes a este respecto son el contenido de proteína, el ácido clorogénico, enzimas como peroxidasas y fenoloxidasas inducidas por la defoliación y los taninos (SCHULTZ Y KEATING, 1991; HOOVER *et al.*, 1998a,b,c). El teor de taninos, por ejemplo, parece alterar la solubilidad de los OBs, de modo que el número de viriones capaces de iniciar una infección queda reducido (KEATING *et al.*, 1988, 1990).

La principal función del suelo en la ecología de los baculovirus consiste en su papel como un reservorio, lo cual facilita la supervivencia del virus en la ausencia del huésped (Sección 9). En este sentido, la estabilidad del ambiente afecta a la acumulación y al reciclaje del inóculo. Los agroecosistemas son ambientes ines-

tables, cuyas retiradas periódicas de material vegetal pueden eliminar el inóculo acumulado. La persistencia del virus sobre el follaje equivale, en la mayoría de los casos, a la duración del cultivo aunque obviamente dura más en el suelo. Por otro lado, los ambientes forestales, por su estabilidad y naturaleza sombreada, posibilitan la acumulación del virus hasta alcanzar una densidad suficiente para iniciar y mantener epizootias. El virus puede acumularse en las hojas, ramas y troncos de los árboles (EVANS Y HARRAP, 1982), o también en plantas silvestres inferiores, que pueden actuar como reservorios del patógeno tal como se ha demostrado para el NPV de *Orgyia antiqua* (Lep.; Lymantriidae) en plantaciones de pinos en el Reino Unido (RICHARDS *et al.*, 1999).

Informaciones sobre el efecto de prácticas agrícolas, tales como arado y rastreo, en la persistencia y reciclaje del virus son escasas y hasta cierto punto, contradictorias. Fuxa y Richter (1996) no observaron el efecto deletéreo de tales prácticas en la supervivencia de un NPV de *A. gemmatilis* en cultivos de soja. En cambio, Crawford y Kalmakoff (1977) notaron que sucesivos pases de arado y resiembra de pastizales diluyeron el inóculo existente en el suelo, reduciendo su eficiencia en el control de poblaciones de *Wiseana* spp.

7. Transmisión

Transmisión es el proceso por el cual el patógeno pasa de un huésped infectado a otro susceptible (ANDERSON Y MAY, 1982). Es, tal vez, el parámetro más importante en el estudio de la dinámica de la infección, pues el conocimiento de los mecanismos de transmisión de un patógeno posibilita no solamente predecir su capacidad de perpetuarse y diseminarse dentro de la población de huéspedes, sino también de evaluar su potencial como agente de control biológico. La transmisión de baculovirus es primordialmente directa, esto es, ocurre sin la necesidad de agentes intermediarios (vectores), siendo la adquisición del patógeno resultante de una interacción huésped-huésped o huésped-ambiente (ANDREADIS, 1987).

Los componentes espaciales y temporales del proceso de transmisión pueden ser agrupados en dos categorías: horizontal y vertical. La transmisión *horizontal* representa la transmisión de la enfermedad entre individuos de la misma generación, principalmente a través del consumo de follaje contaminado con OBs originarios de un cadáver infectado. En cambio, la transmisión *vertical* consiste en el paso del virus de una generación a otra y se usa este término para describir específicamente la transmisión del patógeno de un adulto infectado directamente a su progenie. Algunos autores consideran todavía una tercera categoría: transmisión transestadial o "intratransmisión" representada por el paso del virus de un estado de desarrollo para lo siguiente, como de huevo a larva y de larva a adulto. Sin embargo, cabe destacar que este concepto no es apropiado: la transmisión transestadial no es transmisión *per se* sino persistencia de la infección dentro de diferentes estadios del mismo individuo infectado.

7.1. Transmisión horizontal directa

La infección por baculovirus se inicia típicamente por vía oral, por la ingestión de alimento contaminado, partículas de suelo o heces conteniendo cuerpos de inclusión, o por canibalismo de individuos infectados. La probabilidad de transmisión horizontal es determinada por la especie, estadio, comportamiento, susceptibilidad y densidad del huésped, así como por las características del patógeno y del ambiente. El grado y la rapidez de la lisis del cadáver infectado también pueden afectar la disponibilidad del inóculo y consecuentemente la tasa de transmisión (YOUNG E YEARIAN, 1988; HERNÁNDEZ-CRESPO *et al.*, 1999).

El tipo de replicación del virus en el huésped también afecta la transmisión horizontal. Por ejemplo, en larvas de tentredínidos (Hymenoptera), donde la replicación del NPV es limitada al intestino medio, el virus es comúnmente expulsado en las heces o vómito de la larva infectada antes de su muerte y la transmisión horizontal de la enfermedad puede ser más rápida (HUNTER-FUJITA *et al.*, 1998). Este fenómeno ocurre en poblaciones de *G. hercyniae*, donde un acelerado aumento en la incidencia de infección refleja la liberación del inóculo viable de los primeros infectados justamente cuando el resto de la población está joven y susceptible (ENTWISTLE, *et al.*, 1983). La productividad del virus en los tentredínidos tiende a ser baja cuando se comparada a las infecciones generalizadas de los NPV en lepidópteros. En compensación, la liberación del inóculo secundario es más rápida y la DL_{50} tiende a ser menor en estos himenópteros. En Lepidoptera, por el contrario, la transmisión horizontal se basa en la liberación del inóculo tras la desintegración del cadáver; de esta forma, la demora en la liberación del inóculo es compensada por la alta producción de virus *per capita* de insecto infectado (HUNTER-FUJITA *et al.*, 1998).

7.2. Transmisión horizontal mediante vectores

Los depredadores de insectos actúan en su mayor parte como agentes de dispersión del virus, no como agentes de transmisión *per se* (Sección 8). En cambio, los insectos parasitoides pueden actuar como vectores mecánicos, transmitiendo el virus de un huésped infectado a uno sano (LEVIN *et al.*, 1979; ENTWISTLE, 1982; YOUNG E YEARIAN, 1990; BROOKS, 1993). La transmisión ocurre a través de la contaminación del ovipositor del parasitoide después de una picada en un insecto infectado y la subsecuente introducción del ovipositor contaminado en el huésped sano, ya que los viriones pueden ser inyectados directamente en el hemocele y desencadenar una infección en el huésped. La transmisión también puede ocurrir mediante la contaminación del alimento del huésped por el tegumento de parasitoides contaminados superficialmente (HOCHBERG, 1991; SAIT *et al.*, 1996).

Los parasitoides pueden también contaminarse al emerger de larvas infectadas y, aparentemente, hasta los machos emergidos de huéspedes infectados pueden transmitir virosis (CABALLERO *et al.*, 1990b). Los ichneumonídeos y braconídeos endoparasitoides (Hymenoptera) probablemente tienen mayores posibilidades de actuar

como vectores, por introducir sus huevos directamente en el hemocele de la larva. En cambio, los parasitoides taquínidos (Diptera) ponen sus huevos en la superficie del cuerpo del huésped o en su alimento, para que puedan ser ingeridos por el huésped.

El papel del parasitoide en la transmisión del virus depende del estadio de la infección del huésped, ya que el virus sólo es infectivo si se inyecta como virión, nucleocapsideos desnudos o DNA. Huéspedes en la fase final de la infección tienen sus tejidos ocupados por los OBs, que cuando son inoculados en la hemolinfa de un huésped sano exhiben un poder de infección más limitado.

7.3. Transmisión vertical

La transferencia de virus del adulto a la progenie, mediante la contaminación o infección del huevo o embrión, es una importante ruta de transmisión para muchos virus y protozoos. La transmisión vertical de baculovirus ya fue reportada en diferentes especies, como *H. virescens* (JACKSON *et al.*, 1992), *M. separata* (NEELGUND Y MATHAD, 1978), *P. interpunctella* (VAIL *et al.*, 1993); *S. exigua* (SMITS Y VLAK, 1988a) y *S. frugiperda* (FUXA Y RICHTER, 1991). Este mecanismo depende de la especie, estadio, hábito del huésped y tipo de virus. Por ejemplo, la progenie de *S. frugiperda* infectada con NPV presentó 14% de mortalidad, mientras que en las mismas condiciones, no se obtuvo evidencia de la transmisión madre-progenie del NPV de *A. gemmatilis* (FUXA Y RICHTER, 1993). Fuxa y Richter (1991) aumentaron la prevalencia de transmisión vertical de un NPV de *S. frugiperda* a través de un proceso de selección artificial, sugiriendo que en esta especie, tal capacidad es determinada genéticamente.

En la mayoría de los insectos, la transmisión vertical de baculovirus ha ocurrido por vía maternal, aunque también existen datos publicados de transmisión macho-progenie (JACKSON *et al.*, 1992; VAIL *et al.*, 1993). Es común que la hembra contamine superficialmente los huevos o el follaje alrededor de ellos, en el acto de la puesta. La transmisión vertical del baculovirus se da por la contaminación externa del huevo y se clasifica como transovarial; faltan evidencias concluyentes de que el virus realmente penetre en el huevo (transmisión intraovarial).

Desde el punto de vista ecológico, la transmisión vertical es una ruta de transmisión importante por no requerir una densidad umbral de huéspedes (ANDERSON Y MAY, 1981). De esta forma, el virus se mantiene en la población de los huéspedes durante periodos de baja densidad poblacional. Por lo tanto, en algunos sistemas como en *G. hercyniae*, la transmisión vertical sólo fue detectada en condiciones de alta densidad del huésped, durante epizootias severas (EVANS, 1986). Según Cory *et al.* (1997), la transmisión vertical aumenta también la capacidad de dispersión del virus por acompañar al huésped durante su migración, siendo una estrategia bastante útil en especies altamente móviles como *S. frugiperda*, cuyas sucesivas generaciones tienden a ocupar diferentes áreas. Sin embargo, los baculovirus como cualquier patógeno no pueden mantenerse solamente por transmisión vertical y deben efectuar transmisión horizontal hasta cierto grado (ANDERSON Y MAY, 1981).

8. Dispersión

Los baculovirus, como la mayoría de los entomopatógenos, dependen de factores bióticos y abióticos para lograr su dispersión. La dispersión se define como la redistribución espacial, o sea diseminación del virus, al contrario de lo que señalan algunos autores, que consideran dispersión como sinónimo de transmisión horizontal. La dispersión abiótica de los baculovirus ocurre principalmente a través del viento y lluvia, mientras que la diseminación biótica es promovida por el propio huésped, parasitoides, depredadores, saprófagos y el hombre.

8.1. Dispersión por factores abióticos

La dispersión de virus con el viento puede incluir el movimiento de los cuerpos de inclusión del suelo al follaje y viceversa, donde pueden ser adquiridos por el huésped, estableciendo nuevos focos de infección (HOSTETTER Y BELL, 1985; OLOFSSON, 1988) y por lo tanto es difícil cuantificarla en campo. Se cree que el viento también pueda transportar los restos de cadáveres infectados entre plantas y a lo largo de las mismas (HOSTETTER Y BELL, 1985). Fuertes corrientes de viento pueden llevar huéspedes infectados, enemigos naturales contaminados u hojas conteniendo cadáveres a distancias considerables. Larvas jóvenes de *L. dispar* dependen del viento para migrar entre plantas y en caso de que estén infectadas el transporte aéreo disemina el virus (DWYER Y ELKINTON, 1995).

La lluvia contribuye a la dispersión de virus al humedecer y ablandar los cadáveres infectados, llevándolos hacia las hojas inferiores de la planta, contaminando una mayor área de follaje y el suelo (DOANE, 1970; D'AMICO Y ELKINTON, 1995). Gotas de lluvia también son capaces de transferir OBs desde el suelo a las partes inferiores de la planta. Las tasas más elevadas de infección en larvas de *L. dispar* ocurren después de días lluviosos lo cual se atribuye este fenómeno de la dispersión del inóculo por la acción de la lluvia (HOSTETTER Y BELL, 1985).

8.2. Dispersión por factores bióticos

8.2.1. El huésped

Insectos adultos contaminados superficialmente o con una infección subletal pueden diseminar baculovirus a distancias considerables con la subsecuente transmisión a la progenie de éstos (transmisión vertical) (JACKSON *et al.*, 1992; VAIL *et al.*, 1993). Ignoffo (1978) y Zelazny (1982) sugirieron el uso de insectos contaminados como agentes de diseminación de inóculo en la población del huésped, especialmente cuando el virus posee un corto periodo de supervivencia fuera del huésped o en el caso de insectos difíciles de controlar por métodos convencionales. Jackson *et al.* (1992) utilizaron trampas para la contaminación superficial de adultos de *H. virescens* y posterior diseminación del virus, y observaron índices razonables de transmisión en el campo, aunque insuficientes para compensar económicamente el uso del método a escala comercial.

Los baculovirus pueden ser excretados antes de la muerte del huésped y el inóculo liberado ayuda a la expansión del ciclo de la enfermedad (EVANS Y ALLAWAY, 1983; VASCONCELOS, 1996a). Larvas de himenópteros infectadas con NPV fueron descritas por Tanada (1976) como "fábricas móviles de virus" porque una cantidad grande de OBs es producida en su intestino medio y liberado en las heces y vómitos a medida que la larva se desplaza en el campo. Adultos alados también pueden diseminar los baculovirus si bien que la distancia recorrida a partir del foco de infección dependerá de la capacidad de vuelo, del tipo de transmisión y de la resistencia de los OBs. Así, aislados de virus que adoptan estrategias de transmisión vertical tienen mayores posibilidades de diseminación a largas distancias si el adulto portador posee una gran capacidad de vuelo. La autodiseminación a través del transporte aéreo de larvas, es uno de los principales mecanismos de dispersión del virus en insectos cuyas hembras vuelan poco o son ápteras, como *L. dispar* y *Operophtera brumata* (DWYER Y ELKINTON, 1995).

8.2.2. Parasitoides y depredadores

El papel de los parasitoides en la dispersión de baculovirus está directamente relacionado a su capacidad de transmisión previamente mencionada (Sección 7.2). Muchos depredadores tienen una característica clave que hace posible su papel como agente dispersor de baculovirus: un intestino ácido. La acidez no afecta a la viabilidad de los cuerpos de inclusión del virus, los cuales mantienen su estado infeccioso después de haber sido excretado en las heces del depredador.

Entre los depredadores vertebrados, las aves son los más eficientes diseminadores de baculovirus debido a su capacidad de vuelo y alta tasa metabólica, que les permite excretar virus viables en las heces después de 30 minutos de haber ingerido la presa infectada (ENTWISTLE *et al.*, 1977ab, 1993). Entwistle *et al.* (1993), estudiando la dispersión del NPV de *G. hercyniae*, atribuyeron la diseminación de virus por más de 6 km del punto inicial de infección a la acción de pájaros silvestres. Tras epizootias de un NPV de *Panolis flammea* (Lep.; Noctuidae), Entwistle *et al.* (1977a,b) registraron la presencia de OBs en más del 70% de la población de aves de la región y observaron la liberación de inóculo viable en las heces de aves, hasta 10 meses después del pico de la epizootia. Se cree que la probabilidad de depredación por aves aumenta por la mayor visibilidad de las larvas infectadas que, en general, asumen coloración blanquizca y migran para las partes altas y externas de la planta.

En 1919, Allen sugirió que el coleóptero depredador *Calosoma sycophanta* estaba involucrado en la dispersión del NPV de *L. dispar*. Desde entonces, cargamentos pasivos de baculovirus resultantes de la ingestión de insectos infectados ya fue documentado en arácnidos (arañas y opiliónidos) e insectos de los órdenes Coleoptera, Orthoptera, Hemiptera, Diptera, Hymenoptera, Neuroptera y Dermaptera (CAPINERA Y BARBOSA, 1975; ENTWISTLE, 1982; BOUCIAS *et al.*, 1987; YOUNG E YEARIAN, 1987; FUXA *et al.*, 1993; VASCONCELOS *et al.*, 1996b). Los datos sobre la preferencia de presas sanas o infectadas por parte de los depredadores son variables. La depredación por hemípteros varía, de acuerdo con la especie, entre la no discriminación (ABBAS Y BOUCIAS, 1984) y la preferencia por larvas infectadas (YOUNG E YEARIAN, 1987; YOUNG

Y KRING, 1991). Los coleópteros aparentemente no discriminan entre larvas de lepidópteros sanas e infectadas como alimento (VASCONCELOS *et al.*, 1996b). Curiosamente, la excreción de baculovirus por artrópodos depredadores tiende a durar más tiempo (hasta 30 días) que por pájaros (< 10 días), después de ingerir el alimento contaminado con virus (VASCONCELOS *et al.*, 1996b; HUNTER-FUJITA *et al.*, 1998).

Independientemente de la especie depredadora, su importancia en la dispersión de baculovirus depende de tres factores: i) el grado de aceptación de presas infectadas como alimento; ii) el efecto del paso del virus a través del sistema digestivo del depredador; y iii) el comportamiento interactivo, o sea el grado de contacto entre el depredador y la presa infectada, y entre el inóculo liberado por el depredador y el huésped susceptible, para que la transmisión ocurra (VASCONCELOS *et al.*, 1996b).

El NPV de *M. brassicae* mantuvo su infectividad por un mes después del paso por el tracto digestivo de coleópteros; el virus liberado en las heces fue rápidamente adquirido por la larva huésped en laboratorio (VASCONCELOS *et al.*, 1996b). Sin embargo, en estudios posteriores de campo, el bajo grado de interacción entre el inóculo liberado por el depredador en el suelo y la larva huésped sobre plantas de col no fue suficiente para proporcionar altos índices de transmisión. Por otro lado, Fuxa *et al.* (1993) detectaron virus en más de 60% de los artrópodos depredadores recolectados después de la aplicación de un NPV de *A. gemmatilis* en un campo de soja. A los depredadores se les atribuyó la dispersión del virus a campos adyacentes libres del patógeno (FUXA Y RICHTER, 1994). Aún teniendo menor capacidad de dispersión que las aves, los artrópodos depredadores pueden actuar como reservorios vivos y móviles en una escala intermedia, ayudando en la diseminación del inóculo.

8.2.3. El hombre y otros mamíferos

El hombre puede diseminar virus a través de prácticas agronómicas como el cultivo, cosechas, irrigación y comercialización de alimentos de campos previamente contaminados con baculovirus (HOSTETTER Y BELL, 1985). Evidentemente, la aplicación orientada de los baculovirus como bioinsecticidas resulta en la diseminación del inóculo, especialmente con la creciente expansión del área cultivada. Movimientos de ganado y otros animales domésticos en los campos y pastizales también puede dispersar el virus en la superficie del suelo. El movimiento de ovejas en pastizales en Nueva Zelanda amplía la dispersión de NPV de *Wiseana* spp. (MOORE *et al.*, 1973). Animales silvestres, como mamíferos, pueden transportar partículas del virus en sus patas y pelos o en sus tractos digestivos tras la ingestión de insectos o follaje contaminado, especialmente en sistemas forestales (LAUTENSCHLAGER *et al.*, 1980; HOSTETTER Y BELL, 1985).

9. Persistencia

La interrupción en la disponibilidad de huéspedes es una presión evolutiva que llevó a los patógenos a desarrollar mecanismos de persistencia. Una de las características más importantes de los baculovirus, que parece haber evolucionado en

respuesta a tales exigencias, es la presencia del cuerpo de inclusión proteico (OB) que envuelve los viriones. Los OBs permiten la supervivencia del virus fuera del huésped por periodos relativamente largos en diversos ambientes, especialmente en el suelo. Por lo tanto, existen otros mecanismos por los cuales el virus puede mantenerse en la población, como infecciones latentes o subletales; la importancia ecológica de éstas se cree inmensa aunque permanece sin cuantificar.

9.1. Persistencia extra-huésped

9.1.1. Suelo

El suelo representa el principal reservorio de los baculovirus, lo que se explica por la licuefacción y caída de cadáveres, por la acción de la lluvia lavando los OBs verticalmente y por las hojas caídas contaminadas con restos de insectos infectados. Las primeras evidencias experimentales de la capacidad de persistencia de baculovirus en el suelo datan de los finales de los años 40 y, desde entonces, hay registros de persistencia de baculovirus en el suelo que varían de pocas horas a varios años (JAQUES, 1967; THOMPSON *et al.*, 1981; EVANS Y HARRAP, 1982; EVANS, 1986). Por ejemplo, persistencia por más de 5 años en el campo fue observada para los GV de *P. brassicae* y *P. rapae* (DAVID Y GARDINER, 1966; HARCOURT Y CASS, 1968) y un NPV de *T. ni* (THOMAS *et al.*, 1973). El periodo máximo de retención de actividad de un baculovirus fue registrado para el NPV de *O. pseudotsugata* en suelos de bosques donde fueron detectados inóculos viables después de 41 años (THOMPSON *et al.*, 1981). En este caso, gran parte del virus fue inactivado a lo largo de este periodo, con cerca de 50 al 70% de pérdida de la actividad del virus en los primeros 10 años (THOMPSON Y SCOTT, 1979).

Las principales propiedades físico-químicas del suelo que determinan la retención de los OBs son el pH, la capacidad de intercambio catiónico y el contenido de arcilla (ENTWISTLE Y EVANS, 1985). El efecto del pH es controvertido ya que Thomas *et al.* (1973) observaron una rápida inactivación de un NPV de *T. ni* en suelos de pH de ácido a neutro (pH 4,8 a 7,2), mientras que Jaques y Harcourt (1971) registraron una mayor estabilidad de un GV de *P. rapae* en suelos con pH entre 5,0 y 6,0. Jaques (1985) a su vez señaló que los pH entre 5,5 y 9,0 tuvieron efecto limitado en la estabilidad del NPV de *T. ni*.

La proporción de arena, aluvión y arcilla determina la capacidad de retención de los OBs por el suelo ya que partículas muy pequeñas ($<2 \mu\text{m}$), como arcilla, tienen una área de superficie muy grande en relación a su volumen. Según Entwistle y Evans (1985), la adsorción de los OBs del NPV de *M. brassicae* parece ser mayor en suelos con alrededor del 20% de arcilla. El efecto de la composición del suelo ha sido poco cuantificado para baculovirus y se supone que es similar al observado para la retención de células y toxinas bacterianas (TAPP Y STOTZKY, 1995). Se sabe que la humedad del suelo afecta la supervivencia y eficiencia de ciertos entomopatógenos, como hongos, y parecen afectar también la persistencia de virus, como se demostrado para el NPV de *A. gemmatilis* (PENG *et al.*, 1999). Por último, la influencia de la biota del suelo empieza a ser investigada; recientemente dife-

rencias en la persistencia de baculovirus entre suelos naturales y cultivados se han atribuido parcialmente a la presencia de microorganismos (*ibid*).

La dinámica del NPV en el suelo puede determinar el éxito del bioinsecticida. Por ejemplo, para los virus utilizados en el control de más de una generación de la plaga en un programa de control biológico clásico, la persistencia y distribución del inóculo afectarán la disponibilidad del virus y la prevalencia de la infección en generaciones posteriores. Por otro lado, informaciones sobre la lixiviación de virus en el suelo y su transporte hasta el agua subterránea son pertinentes para el análisis de riesgo ambiental de baculovirus genéticamente modificados.

La estabilidad del habitat es el factor más crítico en la persistencia del virus en el suelo, ya que ésta depende del grado de perturbación del ambiente. La persistencia tiende a ser mayor en suelos poco perturbados como en bosques y pastizales permanentes, que ofrecen mayor protección contra los rayos UV. El papel de las prácticas agrícolas no es totalmente conocido. Buena persistencia del NPV de *A. gemmatilis* fue observada en campos de soja en los cuales se detectó virus viable hasta profundidades de 50 cm de suelo en áreas conteniendo material vegetal contaminado con el virus (FUXA Y RICHTER, 1996). Las operaciones agrícolas, como el arado y rastreo del suelo aparentemente no interfieren en la distribución vertical del baculovirus en el suelo o su disponibilidad. Por otro lado, según Harcourt y Cass (1968), el arado del suelo resultó en pérdida del virus a través de la dilución del inóculo en las capas más profundas del suelo.

A pesar de la menor persistencia de virus en los agroecosistemas, la mayor proximidad entre el suelo y la planta puede favorecer el reciclaje del inóculo (McLEOD *et al.*, 1977). Entre tanto, el papel del suelo en la iniciación y desarrollo de epizootias es difícil de demostrar en campo, pues la relación entre la presencia de OBs en el suelo e infecciones en la parte aérea de la planta no es siempre evidente u ocurre a baja prevalencia (R. S. HAILS Y T. WILLIAMS, datos sin publicar). Jaques (1985) demostró que los NPV de *T. ni* y *P. rapae* en el suelo eran una fuente relevante de infección, por ser transportado al follaje no contaminado, mientras que Evans y Allaway (1983) observaron que apenas una pequeña fracción del virus liberado por los cadáveres de *M. brassicae* era reciclado de vuelta a las plantas al año siguiente cuando el área fue resembrada.

9.1.2. Plantas

Las plantas son ambientes extremadamente complejos para la supervivencia de entomopatógenos. Así, las características morfológicas y químicas, asociadas al grado de protección contra la luz UV determinan la supervivencia de los OBs que pueden permanecer en la superficie de hojas, frutos y troncos. Los cadáveres de insectos infectados frecuentemente se adhieren a la superficie de las plantas y son un importante modo de supervivencia del inóculo en plantaciones de coníferas durante el invierno, como es el caso de los NPV de *Malacosoma fragile* (Lep.; Lasiocampidae) (CLARK, 1955), *L. dispar* (DOANE, 1970) y *G. hercyniae* (EVANS Y ENTWISTLE, 1982). El virus puede ser protegido aún más por la flora epífita, los desechos resultantes de la alimentación del insecto o en los nidos de seda con-

tiendo larvas vivas o cadáveres (EVANS Y HARRAP, 1982). En cambio, la persistencia del virus aplicado en pulverización parece ser considerablemente menor. Por ejemplo, un NPV puede persistir en cadáveres de *L. dispar* durante 1 año, mientras que dicha persistencia es de sólo 15 días en forma de suspensión de OBs purificados en las mismas condiciones (PODGWAITE *et al.*, 1979).

Generalmente se admite que la capacidad de supervivencia de los baculovirus en plantas es bastante inferior que en el suelo; el NPV de *T. ni* es capaz de persistir en el suelo durante casi 100 semanas, con baja inactivación, pero la persistencia es de apenas 4 semanas sobre hojas de col (JAQUES, 1964, 1967). Asimismo, un NPV de *A. gemmatilis* puede persistir cerca de 7 semanas sobre hojas de soja comparado con mas de 3 años en el suelo (FUXA Y RICHTER, 1994). La persistencia de virus es mayor en la superficie inferior de la hoja, debido a menor exposición a la radiación solar (PENG *et al.*, 1999). La mayor protección ofrecida por la cobertura vegetal asociada a una mayor estabilidad del hábitat favorece la acumulación y retención de actividad del virus durante largos periodos y posiblemente ayuda a explicar el fenómeno de las epizootias cíclicas observadas en ambientes forestales (EVANS Y HARRAP, 1982).

Debido a que la hoja es el medio sobre el cual el virus es generalmente ingerido, y justamente el medio más expuesto a la UV, la lluvia y los exudados de la planta, la cuantificación de la persistencia del virus en este sitio es fundamental. Entwistle y Evans (1985) destacan la falta de técnicas uniformizadas y la artificialidad de las metodologías de cuantificación de baculovirus en plantas, ya que la mayoría de los datos resultan de bioensayos de laboratorio, que dificultan la extrapolación de los resultados para las condiciones de campo. Además, la presencia de los OBs no significa necesariamente actividad biológica y pocos estudios diferencian entre estos parámetros. La persistencia de los OBs en el interior de la hoja, por ejemplo en los estomatos, fue sugerida por Reed (1971), pero son necesarios estudios más detallados.

9.2. Persistencia en el huésped

Debido a su alta virulencia y los síntomas característicos de enfermedad, la presencia de baculovirus en insectos recolectados en campo se relaciona habitualmente a la muerte del huésped. Sin duda alguna, esto es una simplificación que tiende a subestimar el impacto de estos patógenos. El virus puede persistir en el huésped sin causar efecto tangible (latencia) o puede causar algún efecto perjudicial al individuo o su progenie, en el caso de infecciones subletales.

La latencia se define como una infección en la cual el huésped no demuestra síntomas de la enfermedad; el virus puede o no integrarse en el genoma del huésped y generalmente se produce un bajo nivel de transcripción de genes víricos. La infección latente representa la asociación más íntima y benigna que puede existir entre el virus y la célula huésped. No obstante el virus latente puede ser activado a su forma virulenta por varios tipos de estrés: la superpoblación o baja temperatura, como ocurrió con un NPV de *B. mori* (HIMENO *et al.*, 1973), por inoculación de

un virus heterólogo, como los NPV de *Spodoptera littoralis* (Lep.; Noctuidae) (McKINLEY *et al.*, 1981) y *Adoxophyes orana* (Lep.; Noctuidae) (JURKOVICOVA, 1979) o por el tipo de alimento suministrado al insecto, como fue demostrado para un GV de *P. rapae* (BIEVER Y WILKINSON, 1978).

Por mucho tiempo considerado como un enigma en la patología de insectos, el fenómeno de la latencia empieza a ser elucidado, gracias al desarrollo de poderosas técnicas moleculares. La amplificación de un fragmento del gen de la poliedrina a través del PCR demostró que un virus semejante al NPV de *M. brassicae* estaba latente en todos los estadios del ciclo de vida de *M. brassicae* provenientes de una cría de laboratorio. La activación de este virus latente tuvo lugar después de la inoculación de las larvas con virus heterólogos (HUGHES *et al.*, 1993).

Infección subletal es un término utilizado para describir una infección no mortal y, al mismo tiempo, no aparente. Los efectos subletales atribuidos a la infección por baculovirus incluyen alteraciones en el tiempo de desarrollo del insecto, reducción en la fecundidad y viabilidad de huevos, reducción de peso y longevidad de adultos y cambios en la proporción sexual (ROTHMAN Y MYERS, 1996). Los mecanismos que determinan la permanencia de una infección a niveles subletales son desconocidos y no hay un patrón definido en las alteraciones observadas. Por ejemplo, la infección subletal puede causar un aumento en el tiempo de desarrollo del insecto (PATIL *et al.*, 1989), una reducción (SAIT *et al.*, 1994a) o ningún efecto en esto sentido (VARGAS-OSUNA Y SANTIAGO-ALVAREZ, 1988). Diferencias en la patología del virus y el sistema inmunológico del huésped ayudan a explicar la diversidad de respuestas observadas. Además, la gran variabilidad entre las metodologías utilizadas promueven resultados contradictorios hasta en el mismo sistema insecto-virus. Murray *et al.* (1991) no observaron efectos subletales o transmisión vertical de un NPV en *L. dispar*, mientras que Shapiro y Robertson (1987) apreciaron una reducción en la fecundidad y un incremento en la mortalidad de la progenie. Tomando en cuenta todos los estudios de efectos debilitantes por infecciones víricas publicados hasta 1994, Rothman y Myers (1996) estimaron que los NPVs típicamente provocaron entre 40 y 60% de disminución en la tasa reproductiva neta (R_0) de insectos afectados.

Hay que resaltar que muchos de los estudios sobre "efectos subletales" de los baculovirus atribuyen las diferencias observadas al virus; sin embargo, relativamente pocos estudios llegan a demostrar la presencia de una infección en el insecto. Así que en la mayoría de los estudios disponibles, no se sabe si el virus aún se encuentra en el huésped o si los efectos observados resultan simplemente de los costos asociados a luchar contra una infección inicial, de la cual el insecto puede recuperarse (CORY *et al.*, 1997). Otra posibilidad es que los supervivientes a una dosis de virus son más robustos que los que sucumben a la infección y los efectos observados son en realidad el resultado de un proceso de selección experimental, como se ha sugerido en un estudio con la exotoxina de la bacteria *Bacillus thuringiensis* (TOLEDO *et al.*, 1999).

No obstante, las infecciones subletales y latentes representan condiciones de baja virulencia del patógeno y están asociadas a supervivencia del huésped después de la exposición al virus. La principal consecuencia ecológica de este fenó-

meno es que abre el paso a la transmisión vertical. De esta manera el virus transmitido entre generaciones puede volverse virulento cuando es activado por algún factor de estrés y teóricamente iniciar nuevos focos de infección. Solo si se cuantifican estos efectos en el campo, por medio de las técnicas de la biología molecular, será posible determinar el papel de las infecciones subletales en la dinámica de la enfermedad a nivel poblacional.

10. Modelos matemáticos aplicados a la ecología de los baculovirus

10.1. Fundamentos teóricos

La complejidad de las interacciones entre insectos y los mecanismos que regulan su población (depredación, parasitismo, enfermedades, factores ambientales y limitación de recursos) ha sido descrita con creciente frecuencia mediante modelos matemáticos. Un modelo matemático es, en principio, la reducción conceptual de un proceso complejo en una secuencia de eventos simples, idealizados y fácilmente entendibles. No obstante, siendo una simplificación que aparentemente pierde detalles del fenómeno biológico, los modelos ayudan a definir los principales procesos que determinan el fenómeno y se mantienen abiertos a la posibilidad de incorporar parámetros adicionales de creciente complejidad.

Los primeros modelos creados para describir los aspectos dinámicos de las enfermedades de insectos fueron desarrollados por Anderson y May al final de los años 70. Hasta entonces, la mayoría de los modelos epidemiológicos asumían que la población huésped se mantenía constante, siendo la mortalidad causada por la infección compensada exactamente por la tasa de natalidad (BAILEY, 1975). Aunque tal suposición sea razonablemente correcta para la descripción de enfermedades humanas a largo plazo, la idea de que los patógenos podrían en verdad regular poblaciones de insectos fue una importante innovación de los modelos de Anderson y May. Al permitir que la densidad total de la población sea variable de acuerdo con la interacción del patógeno y huésped, ellos usaron ecuaciones diferenciales relativamente sencillas para describir los cambios en las densidades de los huéspedes sanos e infectados. En lugar de las tres categorías típicamente encontradas en modelos de infección en vertebrados (susceptible, infectado e inmune), se supone, con cierta precisión, que no hay inmunidad adquirida entre insectos; así que los insectos que adquieren el virus, pero no mueren, retornan a la categoría de los susceptibles.

Anderson y May (1981) inicialmente desarrollaron siete modelos para describir la interacción insecto-patógeno, los cuales incorporaron los efectos de la recuperación, transmisión vertical, reducción de la tasa reproductiva del huésped infectado, latencia, efectos causados por estrés y la presencia de partículas infectadas de "vida libre" en el ambiente. El modelo adecuado para describir la transmisión de los baculovirus incluye la existencia de tales partículas que, en este caso, se corres-

ponderían con el cuerpo de inclusión proteico. El modelo busca medir las tasas de cambios en la población del huésped sano, del huésped infectado y de los cuerpos de inclusión.

Una vez que la transmisión de los baculovirus es esencialmente directa, se supone que la tasa de transmisión es proporcional al número de contactos entre la población sana y la infectada, siendo por tanto proporcional al producto de la densidad de ambos. Esto corresponde a una idea central de la epizootiología, el "principio de acción de masas", el cual supone que la tasa líquida de adquisición de la infección es proporcional al producto de las densidades del huésped y del inóculo. Sin embargo, no todos los contactos huésped-inóculo resultan en infección; los modelos suponen que una proporción constante de estos encuentros resulta en la transmisión, y se define este valor como el *coeficiente de transmisión*. En el caso de los baculovirus el inóculo consiste principalmente en los OBs depositados en las plantas o el suelo y la tasa de transmisión sería proporcional al número de encuentros entre huéspedes sanos y los OBs en el ambiente.

Una representación del modelo se muestra en la Figura 3. Las variaciones en las poblaciones de los huéspedes sanos, infectados, y del patógeno son definidas por una serie de ecuaciones simples:

$$dS/dt = a(S + I) - bS - vWS + \gamma I$$

$$dI/dt = vWS - (\alpha + b + \gamma)I$$

$$dW/dt = \lambda I - [\mu + v(S + I)]W$$

Donde:

dS/dt: describe el cambio en la población susceptible (S) con el tiempo. El incremento en los huéspedes susceptibles ocurre mediante la tasa de nacimiento (a) proveniente tanto de individuos sanos (S) como infectados (I), menos la tasa de mortalidad natural (b) (no causada por el virus). La constante (v) representa la tasa de contacto entre susceptibles e infectados que resultan en transmisión, siendo vWS la tasa por la cual nuevos insectos infectados aparecen. Los insectos que adquieren el virus, pero no mueren se recuperan a una tasa γ y retornan a la categoría susceptible.

dI/dt: describe la tasa de cambio en la densidad de huéspedes infectados (I). Esto corresponde al número de infecciones exitosas (vWS) menos la tasa global de pérdida de individuos infectados debido al virus (α), a la muerte natural (b) o a la recuperación (γ).

dW/dt: describe la tasa de cambio en la densidad del inóculo en el sistema. El virus es producido principalmente durante la licuefacción del cadáver infectado a una tasa λ , formando un reservorio de partículas infectivas de "vida libre" W. Estas partículas son pérdidas por inactivación por ejemplo mediante la radicación solar, a una tasa μ y a través la adquisición (v) por los huéspedes. Basándonos en este modelo, los principales procesos epizootiológicos son cla-

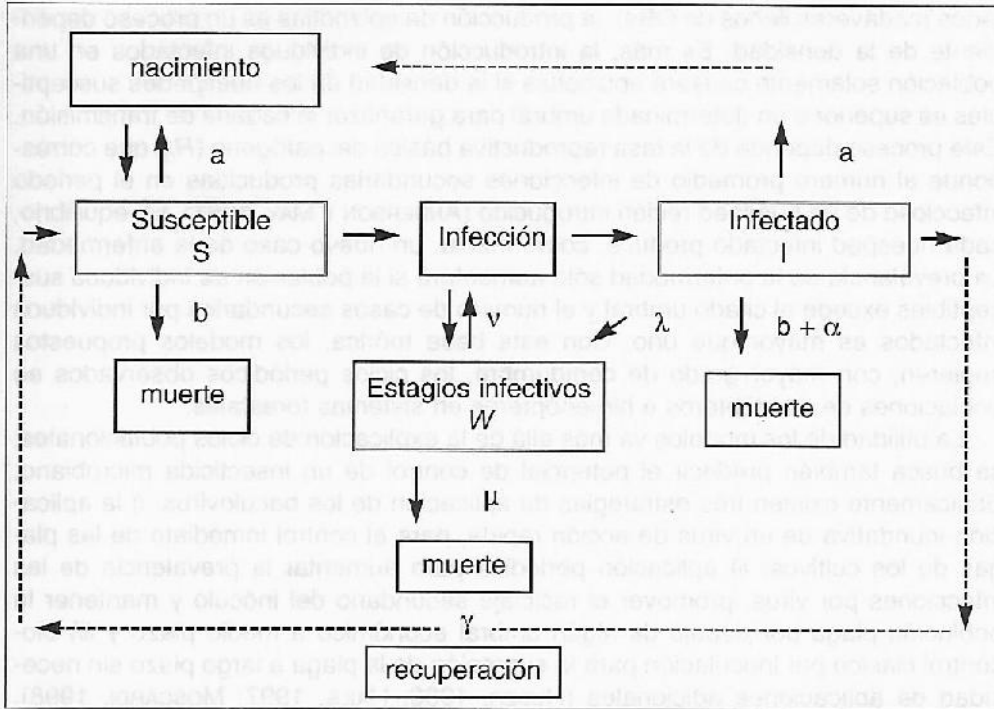


Figura 3. Representación del modelo "G" de Anderson y May (1981) para describir la transmisión de baculovirus en poblaciones de insectos.

Variables: S = densidad de huéspedes susceptibles; I = densidad de huéspedes infectados; W = densidad de poliedros (partículas infectivas "de vida libre").

Tasas: a = nacimiento *per capita*; b = mortalidad no-viral; α = mortalidad viral; γ = recuperación de huéspedes; v = coeficiente de transmisión (contactos huésped-inóculo que resultan en infección); μ = inactivación ("mortalidad") del inóculo; λ = producción de poliedros por huésped infectado.

ramente definidos: el coeficiente de *transmisión* (v) mediante cual los insectos susceptibles (S) encuentran los cuerpos de inclusión (W) en el ambiente y son infectados (I); la *virulencia* (la eficiencia y rapidez en matar el huésped) (α); la *productividad* de cada infección (OB progenie por cadáver) (λ) y la *persistencia* del virus medida por la tasa de inactivación de los OBs en el medio ambiente (μ). De todos los parámetros, el coeficiente de transmisión es, sin duda, el más difícil de cuantificar.

10.2. Aplicaciones ecológicas

A partir del abordaje matemático de los modelos, se pueden extraer importantes principios ecológicos. Una vez que la tasa por la cual los individuos adquieren infecciones depende de la cantidad de encuentros entre huéspedes sanos e infec-

tados (cadáveres llenos de OBs), la producción de epizootias es un proceso dependiente de la densidad. Es más, la introducción de individuos infectados en una población solamente causará epizootias si la densidad de los huéspedes susceptibles es superior a un determinado umbral para garantizar la cadena de transmisión. Este proceso depende de la tasa reproductiva básica del patógeno (R_0) que corresponde al número promedio de infecciones secundarias producidas en el periodo infeccioso de un huésped recién introducido (ANDERSON Y MAY, 1981). En equilibrio, cada huésped infectado produce, como media, un nuevo caso de la enfermedad. La prevalencia de la enfermedad sólo aumentará si la población de individuos susceptibles excede el citado umbral y el número de casos secundarios por individuos infectados es mayor que uno. Con esta base teórica, los modelos propuestos sugieren, con mayor grado de certidumbre, los ciclos periódicos observados en poblaciones de lepidópteros e himenópteros en sistemas forestales.

La utilidad de los modelos va más allá de la explicación de ciclos poblacionales; se busca también predecir el potencial de control de un insecticida microbiano. Básicamente existen tres estrategias de aplicación de los baculovirus: i) la aplicación inundativa de un virus de acción rápida, para el control inmediato de las plagas de los cultivos; ii) aplicación periódica para aumentar la prevalencia de las infecciones por virus, promover el reciclaje secundario del inóculo y mantener la población plaga por debajo de algún umbral económico a medio plazo y iii) biocontrol clásico por inoculación para la supresión de la plaga a largo plazo sin necesidad de aplicaciones adicionales (HUBER, 1986; HAILS, 1997; MOSCARDI, 1998). Basándose en los parámetros biológicos obtenidos en estudios de laboratorio, los modelos matemáticos ayudan a cuestionar la posibilidad que un virus ofrezca control a largo plazo.

Existen cuatro posibles situaciones:

- i) El patógeno no puede establecerse en la población huésped. Esto es más probable de que ocurra cuando la productividad (λ) es baja y la virulencia (α) es demasiado alta. Estos factores son interdependientes, porque un virus que mata su huésped muy rápido no logra optimizar la producción de la progenie en cada insecto infectado.
- ii) El patógeno puede establecerse en la población huésped pero no consigue reducirla. Esto ocurre cuando la virulencia del virus es menor que la tasa de reproducción del huésped (a), de manera que la población del insecto crezca más rápidamente que la reducción poblacional mediante la mortalidad inducida por el patógeno.
- iii) El patógeno regula la población del huésped, reduciéndola a un nivel estable. Esto ocurre con aislados de virulencia moderada, especialmente si los cuerpos de inclusión son de persistencia baja o moderada (μ alta).
- iv) El patógeno regula la población huésped, pero en lugar de un equilibrio estable, las densidades del insecto y del virus oscilan en ciclos de amplitud fija. La utilidad de este fenómeno como control dependerá de la duración de estas fluctuaciones y de si los niveles poblacionales del insecto exceden frecuente-

mente el umbral económico. Esta situación tiene mayores probabilidades de ocurrencia con baculovirus de alta virulencia y persistencia.

10.3. Verificación e incorporación de parámetros

Aunque de enorme valor didáctico y en la definición de los procesos ecológicos fundamentales, los modelos propuestos poseían algunas idealizaciones notadamente poco realistas. Por ejemplo, se asume que todos los estados de desarrollo del huésped (de huevo a adulto) son igualmente susceptibles al virus y que éste se distribuye uniformemente en el ambiente. Al considerar el proceso de transmisión en un espacio de tiempo continuo, las diferencias relativas a las estaciones y a la sincronización con la planta alimenticia, así como el intervalo de tiempo entre la infección y la liberación del inóculo, son ignorados. Diversos factores, no previstos en los modelos originales, pueden alterar la dinámica de la infección. Por ejemplo, la susceptibilidad del insecto es afectada por la edad (EVANS *et al.*, 1981; TEAKLE *et al.*, 1986; SALT *et al.*, 1994b) o por los constituyentes químicos de la planta consumida con el virus (KEATING E YENDOL, 1987; DUFFEY *et al.*, 1995; ALI *et al.*, 1998). Factores abióticos, como la temperatura, también pueden influenciar el intervalo entre la infección a la muerte del huésped y a la subsecuente producción, liberación y disponibilidad de los OBs (WATANABE, 1987; TANADA Y KAYA, 1993; RIBEIRO Y PAVAN, 1994).

La idea de que la tasa de transmisión es directamente proporcional a la densidad poblacional del huésped y del patógeno fue recientemente cuestionada. El coeficiente de transmisión fue calculado a través de una serie de simplificaciones, observándose la transmisión horizontal en sólo una generación del huésped, antes de que un ciclo secundario del inóculo ocurriera (DWYER Y ELKINTON, 1993). Con esto, se estimó el coeficiente de transmisión para algunos patógenos de insectos. Curiosamente se observó que el "principio de acción de masas" no se aplicaba para la transmisión de *B. thuringiensis* en poblaciones de *P. interpunctella* (KNELL *et al.*, 1996), el NPV de *L. dispar* (D'AMICO *et al.*, 1996) y el NPV de *M. brassicae* (VASCONCELOS, 1996b), sugiriendo que la eficiencia de la transmisión no variaba linealmente con las densidades del huésped y/o del patógeno.

Otros estudios han intentado incorporar parámetros más realistas a los modelos básicos de Anderson y May. Por ejemplo, el concepto de que el virus es homogéneamente distribuido en el ambiente y se mezcla constantemente con la población del huésped fue alterado por Hochberg (1989), que dividió la población de los OBs en el ambiente en dos partes: i) *W* – el patógeno expuesto en la superficie foliar, disponible para la infección pero que sufre una tasa de inactivación rápida y ii) *Q* – un reservorio de OBs protegido contra UV (generalmente en el suelo) no disponible para infecciones inmediatas pero con una tasa de inactivación lenta. La tasa *v* de translocación de los OBs del hábitat *Q* hacia *W* determinaría, entonces, el papel del reservorio en la dinámica de la infección. Si *v* es muy alto, entonces el tiempo que los OBs pasan en el reservorio es muy pequeño y el papel de éste es insignificante. Por otro lado, si el transporte de *Q* hacia *W* es demasiado bajo, el reservorio puede actuar como un "drenaje", retirando inóculo del sistema. Valores intermedios de *v* implican una acción

amortiguadora de los refugios del virus en el suelo, los cuales reintroducen el inóculo en el ciclo de transmisión en bajas densidades del patógeno y almacenan el virus cuando sus densidades en las áreas de transmisión sean altas (HOCHBERG, 1989; HAILS, 1997). La población del huésped es regulada a densidades relativamente constantes cuando cantidades moderadas de inóculo pasan del reservorio al ambiente foliar donde ocurre la transmisión y al mismo tiempo el virus persiste por largos periodos en el reservorio. Este modelo parece relevante a la regulación de poblaciones de insectos en ambientes semipermanentes, como la interacción de *Wiseana* spp. y un NPV en pastizales. En este sistema el virus se acumula en las capas superiores del suelo, formando un reservorio y las tasas de transporte son determinadas en parte por prácticas agronómicas, como el pastoreo, el rastreo y la siembra (CRAWFORD Y KALMAKOFF, 1977).

En los últimos años, una multitud de diferentes enfoques han contribuido a incrementar el realismo de los modelos de transmisión. Dwyer y Elkington (1995) y White *et al.* (1999) intentaron introducir la dispersión del huésped en los modelos, para explicar la diseminación del virus. Briggs y Goodfray (1995) incluyeron en sus modelos la demora temporal entre la infección y la muerte y diferencias en la susceptibilidad de los diferentes estadios de la población del huésped. Goulson *et al.* (1995) evaluaron en campo la transmisión de un NPV de *M. brassicae* en diferentes estadios larvarios aunque no se observaron diferencias en los parámetros de transmisión. Cabe mencionar que se estudiaron el efecto de la distribución espacial del patógeno (DWYER, 1991; 1994) y la heterogeneidad de la población del huésped en términos de susceptibilidad y la transmisión del baculovirus de *L. dispar* (DWYER *et al.*, 1997).

Pocos estudios se arriesgan a ampliar el enfoque de la investigación de la ecología de la infección de manera que incluya la complejidad de las interacciones multitróficas (HOCHBERG *et al.*, 1990; BEGON Y BOWERS, 1994; BEGON *et al.*, 1996; KNELL *et al.*, 1998; MALAKAR *et al.*, 1999). En el laboratorio, Knell *et al.* (1998) evaluaron el efecto de la presencia de dos patógenos en una población de lepidópteros y las diferencias en las densidades umbrales para cada patógeno.

Basándonos en el progreso de los modelos, se puede concluir que los principales parámetros ausentes de los modelos actuales de transmisión de patógenos de insectos se refieren al comportamiento del insecto y a la interacción planta-insecto-patógeno. Por ejemplo, cambios de comportamiento asociadas a altas densidades de infección o el estadio de desarrollo, pueden afectar la dinámica de la adquisición del inóculo. Los efectos de la planta huésped sobre la ingestión y actividad del virus, tampoco son considerados en los modelos matemáticos actuales. Además, los datos de laboratorio tienden a subestimar el efecto de la variabilidad genética de huéspedes y patógenos en la dinámica de la infección.

11. Interacciones multitróficas

La mayoría de los estudios sobre ecología de baculovirus se concentra en la asociación insecto-virus. Sin embargo, los baculovirus participan de un espectro

mucho más amplio de interacciones, no siempre evidentes, con la planta, otros organismos y otros patógenos. El conocimiento del grado de contacto y el efecto del virus en otros organismos y con el ambiente es fundamental para evaluar el impacto ambiental de la liberación de insecticidas a base de baculovirus a gran escala.

11.1. Interacciones con otros animales

Una de las primeras preocupaciones en el uso a gran escala de baculovirus se refiere a su efecto sobre los enemigos naturales (parasitoides y depredadores) del insecto plaga. La interacción entre los baculovirus y los parasitoides es compleja porque ambos compiten directamente por el mismo recurso - el huésped. El resultado de esta lucha depende de qué enemigo natural ataca primero, de la rapidez de su desarrollo (su virulencia), de la existencia de mecanismos inhibidores y del intervalo de tiempo entre la coinvasión y la muerte del huésped (CORY *et al.*, 1997). Cuando el parasitismo ocurre antes de la infección, la susceptibilidad al virus puede disminuir (SANTIAGO-ALVAREZ Y CABALLERO, 1990; MURRAY *et al.*, 1995) o permanecer inalterada (SANTIAGO-ALVAREZ Y CABALLERO, 1990; HOCHBERG, 1991). Además, el porcentaje de emergencia de parasitoides de huéspedes infectados aumenta con el intervalo entre el parasitismo inicial y la inoculación con virus (CABALLERO *et al.*, 1990b; HOCHBERG, 1991; MURRAY *et al.*, 1995). Por otro lado, hay casos en que el parasitismo aumenta la susceptibilidad del huésped al virus, como es el caso de larvas de *L. dispar* que parecen ser más susceptibles a un NPV cuando parasitadas por *Blepharipa pratensis* (Dip.; Tachinidae) (GODWIN Y SHIELDS, 1984).

Los parasitoides no parecen ser susceptibles a la infección por baculovirus, como demuestran estudios de disección de tejidos de parasitoides expuestos al virus (GRÖNER, 1990; MAGALHÃES *et al.*, 1998). Por otro lado, se han observado los OBs en el fluido del intestino medio (BEEGLE Y OATMAN, 1975) y en células del tejido adiposo de larvas de parasitoides en huéspedes infectados pero sin efecto aparente para el parasitoide (RAIMO *et al.*, 1977). Algunos virus pueden producir toxinas letales para el parasitoide durante la infección, como el caso de *Apanteles militaris* (Hym.; Braconidae), cuyo embrión no completa el desarrollo en larvas de *P. unipuncta* infectadas con un granulovirus (KAYA, 1970). La muerte prematura del huésped es la consecuencia más común de la interacción huésped-parasitoide-virus, lo que frecuentemente también resulta en la muerte del parasitoide y una disminución en la producción de progenie del virus (BROOKS, 1993).

Algunas especies de parasitoides consiguen discriminar entre huéspedes sanos e infectados, evitando estos últimos (VERSOI E YENDOL, 1982; CABALLERO *et al.*, 1991b), aunque esto no sea una regla general (LEVIN *et al.*, 1983; SAIT *et al.*, 1996; ESCRIBANO *et al.*, 2000). Este comportamiento varía con la especie huésped, parasitoide y con el intervalo entre el parasitismo y la infección. En ausencia de alguna ventaja para el parasitoide (menor reacción de defensa, o un sistema inmunológico deprimido por ejemplo), sería natural que los parasitoides evitaran las larvas infectadas. La infección del insecto por el virus es un evento que depende del "acaso",

mientras que el éxito del parasitoide se basa en un eficiente mecanismo de búsqueda de huéspedes adecuados para garantizar que su progenie llegue a la fase adulta. Según Sait *et al.* (1996), los parasitoides han desarrollado mecanismos sofisticados de rechazo de huéspedes inadecuados y el hecho de que ciertas especies no exhiban la habilidad para discriminar las larvas infectadas con baculovirus sugiere que este fenómeno es relativamente raro en la naturaleza.

Estudios de laboratorio con decenas de artrópodos depredadores de larvas de lepidópteros han permitido determinar que los baculovirus no causan efectos adversos cuando los depredadores ingieren larvas infectadas, o si se alimentan de una suspensión de OBs purificados (GRÖNER, 1990). Tampoco hay evidencias de que los baculovirus causen efectos indeseables en depredadores vertebrados, aunque los estudios de esta naturaleza son escasos (LAUTENSCHLAGER *et al.*, 1980). Aparentemente, la infectividad del virus no es alterada después de pasar por el intestino del depredador, ya sea este un mamífero, ave o artrópodo. Así, el principal resultado de la interacción huésped-depredador-virus es la diseminación del inóculo en los excrementos del depredador. El efecto de la infección en la calidad nutritiva de la presa todavía es discutible aunque no hubo diferencias en el desarrollo de especies de Coleoptera, Hemiptera, Neuroptera y Dermaptera alimentadas con larvas infectadas (YOUNG Y HAMM, 1985). Sin embargo, Ruberson *et al.*, (1991) señalaron que la alimentación a base de presas infectadas con NPV redujo la longevidad y la fecundidad de adultos de *Nabis roseipennis* (Hem.; Nabidae).

11.2. Interacciones con otros patógenos

Los insectos se encuentran expuestos a una enorme cantidad de patógenos, de manera que los baculovirus han sido registrados en infecciones conjuntas con prácticamente todos los demás grupos de entomopatógenos (HARPER, 1986). Infecciones mixtas pueden ocurrir en un huésped y hasta en la misma célula. En un cultivo de células de un lepidóptero, Hess *et al.* (1978) registraron cuatro tipos de virus de los cuales uno era un baculovirus. El resultado de la interacción insecto-patógeno varía desde aditividad o sinergismo (cuando los efectos en los huéspedes son mayores que la suma de las acciones de los patógenos solos) a la interferencia y antagonismo (RITTER Y TANADA, 1978). En general, la acción antagónica de un entomopatógeno sobre otro(s) se debe a la modificación del ambiente del huésped por un patógeno de acción más rápida, inhibiendo la replicación del otro patógeno en el mismo insecto. Otra forma de interacción consiste en la proliferación independiente, en donde no se observan efectos aparentes de un patógeno sobre otro (LOWE Y PASCHKE, 1968).

Patógenos diferentes pueden competir por los mismos sitios de replicación y la secuencia de inoculación puede definir el éxito de cada uno de ellos. Por ejemplo, la inoculación de un granulovirus uno o dos días antes de la inoculación de un NPV en larvas de *Choristoneura fumiferana* (Lep.; Tortricidae) resulta en la replicación de dos virus (BIRD, 1959). Sin embargo, cuando los virus son administrados simultáneamente, en dosis equivalentes, sólo el NPV logra replicarse (*ibid.*). La tem-

peratura, dosis inicial, modo de acción, dieta, edad y finalmente la especie del huésped influyen la interacción insecto-patógeno-patógeno (HARPER, 1986).

En un estudio de competencia entre baculovirus y otros microorganismos en un mismo huésped se observó que la interacción entre *P. interpunctella*, un granulovirus y *B. thuringiensis* tuvo diferentes efectos sobre cada patógeno. El virus persistió en la población huésped mientras que la bacteria fue gradualmente excluida, probablemente debido a las diferencias en el umbral de la población huésped para la transmisión de cada patógeno. Como este umbral es menor para el baculovirus, su persistencia a bajas densidades del insecto fue posible (KNELL *et al.*, 1998). Estudios empíricos y teóricos recientes empiezan a elucidar el efecto de un patógeno sobre otro(s) y sus consecuencias en la dinámica poblacional del insecto (MALAKAR *et al.*, 1999).

11.3. Interacciones con la planta

La complejidad de la interacción planta-patógeno-huésped es una de las áreas menos conocidas de la ecología de los baculovirus. El efecto más obvio de las plantas en la ecología de baculovirus es la modificación de la persistencia del virus causada por la estructura física de la planta y sus componentes químicos (Sección 9). La influencia de los compuestos químicos es extremadamente compleja ya que ellos interactúan entre sí y muchas veces el efecto de cada sustancia separada se enmascara. Estudios de laboratorio indican que la cantidad de caseína, sales (KEATING *et al.*, 1988) y taninos (KEATING *et al.*, 1989; HUNTER & SCHULTZ, 1993) pueden reducir la infectividad de los baculovirus. Por ejemplo, exudados en la superficie foliar del algodón son responsables del elevado pH y alta concentración de sales y causan la inactivación del virus (ELLEMAN Y ENTWISTLE, 1985). Se sabe también que la DL_{50} de los baculovirus varía de acuerdo con la planta con que el virus es ingerido (SANTIAGO-ÁLVAREZ Y ORTIZ-GARCÍA, 1992).

Duffey *et al.* (1995) señalaron que las plantas no son componentes pasivos de la interacción insecto-baculovirus, sino que exhiben respuestas bioquímicas y fisiológicas al ataque del insecto herbívoro que pueden afectar la infección por virus. Estos autores dividen la influencia de la planta en 3 etapas: pre-infectiva, infectiva y post-infectiva. En la fase pre-infectiva, la planta afecta el virus en el momento de la ingestión, a través de reacciones enzimáticas de oxidación y la alteración del pH durante la masticación e ingestión de las hojas (siendo probablemente la fase más crítica de la interacción). En la fase infectiva, el efecto de la planta se refiere a la calidad nutritiva o estrés del huésped, los cuales modulan la tasa de replicación del virus, el crecimiento del insecto y el rendimiento de los OBs de cada cadáver. Por último, la fase post-infectiva se refiere a la acción de la planta en la lisis de los cadáveres y en la persistencia de los OBs en la superficie foliar.

En un estudio sobre el efecto de la defoliación causada por el insecto en la actividad y transmisión de baculovirus, se reportó que en campo el ataque de *L. dispar* no provocó un aumento en los niveles de tanino en árboles de roble, y consecuentemente no hubo efecto sobre la mortalidad virica en la población del defolia-

dor (D'Amico *et al.*, 1998). Como se ve, el conocimiento de los efectos de la planta, en términos de su arquitectura o química, aún necesita de estudios de mayor detalle para poder contribuir al desarrollo de estrategias de aplicación y formulación de bioinsecticidas.

12. Impacto ambiental de los baculovirus

El conocimiento de la ecología de los baculovirus constituye la base para la evaluación del impacto ambiental del uso de cepas naturales o genéticamente modificadas como bioinsecticidas. A pesar de que los baculovirus son considerados patógenos seguros para el hombre y otros organismos, es importante considerar que cualquier uso de un patógeno para el control de plagas involucra una serie de riesgos, no siempre aparentes. Estos incluyen la posibilidad de infección letal de organismos que no son objeto del tratamiento, la extinción localizada del insecto por controlar, la reducción en las poblaciones de enemigos naturales que explotan el insecto plaga y hasta mutaciones o transferencia de material genético a organismos silvestres (Tabla 1).

La aplicación del virus en campo debe ser precedida por una serie de pruebas cuidadosas exigidas en la mayoría de los países que aprueban bioinsecticidas a base de baculovirus. Los estudios de replicación en organismos que no son objeto del tratamiento son inicialmente realizados en insectos beneficiosos (por ejemplo, el gusano de la seda, polinizadores y parasitoides) y estas pruebas son diseñadas para maximizar el grado de contacto o dosis ingerida por el insecto experimental. Se realizan pruebas de creciente complejidad hasta la utilización de vertebrados, a través de la ingestión/inoculación de los OBs, viriones y DNA, así como también las sustancias utilizadas en la formulación del bioinsecticida.

A pesar de la precisión en los resultados obtenidos en laboratorio, el análisis de riesgo ambiental en la introducción de enemigos naturales antes de la aplicación a gran escala es todavía especulativa. Aunque experimentos de laboratorio describan los posibles resultados de la interacción del virus con organismos beneficiosos, el "riesgo ecológico" o la probabilidad de contacto entre el virus liberado en el campo y tales organismos es mucho más difícil de cuantificar.

Sin duda alguna, el mayor enigma en la evaluación del impacto ambiental de insecticidas virales se refiere a los baculovirus genéticamente modificados (BVGM). Los principales interrogantes respecto a la liberación de un BVGM, que también se aplican a las cepas naturales, son *i)* su eficiencia de control; *ii)* su supervivencia fuera del huésped; *iii)* su potencial de dispersión y los factores que afectan este proceso; *iv)* su grado de interacción con organismos beneficiosos o indiferentes; *v)* su capacidad de transferir material genético a otro ser vivo y *vi)* si el patógeno, sus genes o productos son de alguna manera tóxicos para el ambiente (BISHOP *et al.*, 1995; BONNING Y HAMMOCK, 1996; SOSA-GOMEZ *et al.*, 1998; THOMAS Y WILLIS, 1998).

Estudios de laboratorio indican que los BVGM actuales presentan un limitado

Tabla 1. Posibles efectos ecológicos del baculovirus sobre el huésped y organismos que no son objeto del tratamiento (adaptado de Sosa-Gomes *et al.*, 1998).

Interacción del baculovirus con...	Posibles efectos directos	Posibles consecuencias indirectas
Insecto huésped (plaga)	Disminución de la población = mortalidad, reducción en parámetros biológicos (fecundidad, viabilidad de huevos, etc.)	Aumento del volumen de la producción agrícola, forestal, etc.
	Aumento de la movilidad	Diseminación del patógeno = mayor control de la plaga
	Extinción localizada de la población*	Quiebra de la cadena alimentaria
	Desarrollo de resistencia	Efectos en las poblaciones de depredadores y parasitoides Reducción de la población de plantas polinizadas por el insecto Menor control de plagas Selección de poblaciones
Depredadores y parasitoides	Ausencia del efecto deletéreo	Diseminación del patógeno = reducción de la población de la plaga
	Reducción del vigor/población (ex.: menor calidad nutricional del huésped infectado)	Aumento de la población de la plaga
	Sinergismo	Mayor control de plagas
	Infección = reducción de la población*	Aumento de la población de la plaga
Polinizadores	Infección = reducción de la población*	Menor producción agrícola, forestal, etc.
	Sinergismo	Reducción de la población de plagas
	Aditividad	
Otros entomopatógenos	Antagonismo	Reducción en la población del patógeno(s) Interferencia en el control de la plaga
	Infección = reducción de la población*	Pérdida localizada de biodiversidad
	Ausencia del efecto deletéreo	Diseminación del patógeno = reducción de la población de la plaga
Animales silvestres (ej.: artrópodos, vertebrados)	Aumento de la actividad del virus (ex.: debido a compuestos químicos)	Reducción de la población de plagas
Plantas	Reducción de la actividad del virus (ex.: debido a compuestos químicos)	Interferencia en el control de la plaga

* evento considerado muy improbable

riesgo para organismos beneficiosos o indiferentes (HEINZ *et al.*, 1995; McNITT *et al.*, 1995). No obstante, la inserción de una nueva propiedad, por ejemplo, la capacidad de producir una sustancia exótica en el virus aumenta su riesgo potencial, como en el caso de la toxina del escorpión *Androctonus australis* expresada por el nucleopoliedrovirus de *A. californica*. La infección por este baculovirus provoca parálisis y consecuente reducción de la alimentación y del daño, matando al insecto en menos tiempo (CORY *et al.*, 1994). La gama de huéspedes de este virus es relativamente amplia y a pesar de que la toxina sea producida sólo en la larva infectada, vale tomar en cuenta el riesgo de los efectos indeseables para la fauna silvestre. Aparentemente, los BVGM modificados mediante la eliminación o inactivación de genes virales específicos presentan menos riesgo, ya que no hay introducción de DNA ajeno. Este es el caso del BVGM que no expresa el gen *egt*, responsable del mantenimiento de la fase juvenil del insecto (O'REILLY Y MILLER, 1992).

Además de la replicación en organismos silvestres, el riesgo que un BVGM invada, desplace o extinga otros entomopatógenos naturales existe y como tal debe ser evaluado. Sin embargo, no es posible cuantificar en términos absolutos el "potencial de invasión" de un virus nuevo, sino se asume que, debido a la naturaleza de sus modificaciones, los BVGM parecen ser menos invasivos que los virus naturales (HAILS, 1997). Al matar al huésped con mayor rapidez, una menor cantidad de OBs será producida y consecuentemente el virus tendrá menor potencial epizootico. De esta forma, la estrategia de aplicación de un BVGM consiste en su utilización en escala inundativa, semejante a un insecticida químico. Tales prácticas serían fácilmente adoptadas por productores en países tecnificados pero representarían una desventaja cuando se utiliza una estrategia que contemple el reciclaje de inóculo como ocurre en el control de *A. gemmatilis* en Brasil.

Además, es preferible utilizar cepas de BVGM de limitada capacidad de persistencia en el ambiente, o sea, una cepa ligeramente menos "vigorosa" que las que ocurren naturalmente para que no haya riesgo de una persistencia excesivamente larga, compitiendo con otros patógenos (HAILS, 1997).

Hasta el momento, los BVGM no han sido liberados a gran escala, y los experimentos de los años 90 en condiciones semirestringidas en los Estados Unidos, Alemania y el Reino Unido sirvieron principalmente para plantear preguntas sobre la eficiencia y el impacto ambiental (CORY *et al.*, 1994). A favor de los BVGM se argumenta el hecho de que los genes introducidos ya fueron caracterizados y sus efectos son conocidos en laboratorio (VLAK, 1993). Por otro lado, dado que los virus naturales ya poseen su nicho ecológico y están sujetos a regulación por factores naturales, los virus recombinantes se encuentran fuera del contexto normal en términos de regulación y su propio control de expresión, así como sus efectos en la regulación de otros genes (SOSA-GOMEZ *et al.*, 1998).

Estudios recientes empiezan a investigar la interacción de un BVGM con huéspedes que tienen diferente susceptibilidad (HERNÁNDEZ-CRESPO *et al.*, 1999). La interacción entre un patógeno y su huésped es el resultado de un largo proceso de coevolución en el cual los virus recombinantes no han participado. Hoy en día, la aplicación de los baculovirus a gran escala no parece presentar serios riesgos para

el ambiente o a otros organismos silvestres. El posible comportamiento de los BVGM en el medio ambiente, por el momento, es incierto, pero gracias al avance teórico y un nuevo enfoque cuantitativo en la ecología de los entomopatógenos se espera avanzar en este conocimiento en un futuro próximo.

13. Consideraciones finales

La literatura ecológica es rica en estudios sobre los mecanismos por los cuales las poblaciones de insectos pueden ser reguladas por depredadores y parasitoides. En cambio, la influencia de los patógenos ha sido generalmente ignorada. La atención de los virólogos y patólogos de insectos se ha centrado en la biología de individuos infectados en detrimento de estudios sobre el comportamiento de poblaciones infectadas y los procesos involucrados en el mantenimiento y transmisión de la enfermedad.

En los últimos años, impulsado por la utilización de los baculovirus en programas de control biológico, se ha construido un poderoso acervo teórico para explicar los fundamentos de la dinámica de la interacción insecto-patógeno. Se sabe que sólo con una base del conocimiento ecológico será posible determinar cómo y cuándo el patógeno debe ser empleado y los riesgos asociados al proceso, conceptos que ganan aún más relevancia con el irreversible avance de las técnicas de mejora genética de microorganismos.

El enfoque exageradamente aplicado sobre los conocimientos de ecología de baculovirus impide que ciertas sutilezas sean percibidas. La comprensión de fenómenos ecológicos que ocurren independientemente de la presencia humana, como la regulación de poblaciones de insectos en la naturaleza, ya es razón suficiente para estimular estudios ecológicos teóricos y empíricos. Los insectos son los seres vivos de mayor abundancia y diversidad del planeta y el conocimiento de su papel ecológico y de los organismos con cuales interactúan, como los baculovirus, contribuirá a un mayor entendimiento de la delicada naturaleza de lo que llamamos biodiversidad y a un aprovechamiento más racional de los recursos naturales.

14. Agradecimiento

Agradezco a Abdiel Juárez C. la traducción del original en portugués.

15. Bibliografía

- ABBAS, M.S.T. Y D.G. BOUCIAS. 1984. INTERACTION BETWEEN NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS-INFECTED *Anticarsia gemmatilis* (Lep.: Noctuidae) larvae and a predator *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae). Environ. Entomol. 13:599-602.

- ABOT, A.R., F. MOSCARDI, J.R. FUXA, D.R. SOSA-GOMEZ Y A.R. RICHTER. 1995. *Susceptibility of populations of Anticarsia gemmatilis from Brazil and the United States to a nuclear polyhedrosis virus*. J. Entomol. Sci. **30**:62-69.
- ABOT, A.R., F. MOSCARDI, J.R. FUXA, D.R. SOSA-GOMEZ Y A.R. RICHTER. 1996. *Development of resistance by Anticarsia gemmatilis from Brazil and the United States to a nuclear polyhedrosis virus under laboratory selection pressure*. Biol. Contr. **7**:126-130.
- ALI, M.I., G.W. FELTON, T. MEADE Y S.Y. YOUNG. 1998. *Influence of interspecific and intraspecific host plant variation on the susceptibility of Heliothines to a baculovirus*. Biol. Contr. **12**:42-49.
- ALLEN, H.W. 1916. *Notes on the relation of insects to the spread of the wilt disease*. J. Econ. Entomol. **9**:233-235.
- ALVES, S.B. 1998. *Controle microbiano de insetos*. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, vol. 4, FEALQ, Piracicaba, Brasil.
- ALVES, S.B. Y R.E. LECUONA. 1998. *Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos*, p. 97-169. En: S.B. Alves (ed.), *Controle microbiano de insetos*. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, vol. 4, FEALQ, Piracicaba, Brasil.
- ANDERSON, R.M. Y R.M. MAY. 1979. *Population biology of infectious diseases I*. Nature **280**:361-367.
- ANDERSON, R.M. Y R.M. MAY. 1980. *Infectious diseases and population cycles of forest insects*. Science **210**:658-661.
- ANDERSON, R.M. Y R.M. MAY. 1981. *The population dynamics of microparasites and their invertebrate hosts*. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B **291**:451-524.
- ANDERSON, R.M. Y R.M. MAY. 1982. *Population biology of infectious diseases*. Springer-Verlag, Berlin.
- ANDREADIS, T.G. 1987. *Transmission*, p.159-176. En: J.R. Fuxa y Y. Tanada (ed.), *Epizootiology of infectious diseases*. John Wiley & Sons, NY.
- BAILEY, N.T.J. 1975. *The mathematical theory of infectious disease and its applications*. Griffin, London.
- BALCH, R.E. Y F.T. BIRD. 1944. *A disease of the European spruce sawfly, Gilpinia hercyniae(Htg.) and its place in natural control*. Sci. Agric. **25**:65-73.
- BALTENSWELER, W. 1964. *Zeiraphera griseana Hubner (Lepidoptera: Tortricidae) in the European Alps: a contribution to the problem of cycles*. Canad. Ent. **96**:792-800.
- BEEGLE, C.C. Y E.R. OATMAN. 1975. *Effect of a nuclear polyhedrosis virus on the relationship between Trichoplusia ni (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasite Hyposoter exiguae (Hymenoptera: Ichneumonidae)*. J. Invertebr. Pathol. **25**:59-71.
- BEGON, M. Y R.G. BOWERS. 1994. *Host-host-pathogen models and microbial pest control: the effect of host self regulation*. J. Theor. Biol. **169**:275-287.
- BEGON, M., S.M. SALT Y D.J. THOMPSON. 1996. *Predator-prey cycles with period shifts between two and three species systems*. Nature **381**:311-315.
- BENZ, G. 1987. *Environment*, p. 177-214. En: J.R. Fuxa y Y. Tanada (ed.), *Epizootiology of infectious diseases*. John Wiley & Sons, NY.

- BIEVER, K.D. Y J.F. WILKINSON. 1978. *A stress-induced granulosis virus of Pieris rapae*. Environ. Entomol. **7**:572-576.
- BIRD, F.T. 1959. *Polyhedrosis and granulosis viruses causing single and double infections in the spruce budworm Choristoneura fumiferana Clemens*. J. Insect Pathol. **1**:406-430.
- BIRD, F.T. 1961. *Transmission of some insect viruses with particular reference to ovarial transmission and its importance in the development of epizootics*. J. Insect Pathol. **3**:352-380.
- BISHOP, D.H. L., M.L. HIRST, R.D. POSSEE Y J.S. CORY. 1995. *Genetic engineering of microbes: virus insecticides – a case study*, p. 249-277. En: G. K. Darby, P.A. Hunter y A.D. Russell (ed.), 50 years of microbials. Cambridge University Press, Cambridge.
- BONNING, B. Y B.D. HAMMOCK. 1986. *Development of recombinant baculoviruses for insect control*. Ann. Rev. Entomol. **41**:191-210.
- BOOTS, M. Y M. BEGON. 1993. *Trade-offs with resistance to a granulosis virus in the Indian meal moth, examined by a laboratory evolution experiment*. Func. Ecol. **7**:528-534.
- BOUCIAS, D.G., M.S.T. ABBAS, L. RATHBONE Y N. HOSTETTER. 1987. *Predators as potential dispersal agents of the nuclear polyhedrosis virus of Anticarsia gemmatilis (Lep.: Noctuidae) in soybean*. Entomoph. **32**:97-108.
- BRIESE, D. T. 1981. *The incidence of parasitism and disease in field populations of the potato moth Phthorimaea operculella (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Australia*. J. Aust. Entomol. Soc. **20**:319-323.
- BRIESE, D.T. Y H.A. MENDE. 1983. *Selection for increased resistance to a granulosis virus in the potato moth Phthorimaea operculella (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae)*. Bull. Entomol. Res. **73**:19.
- BRIGGS, C.J. Y H.C. GODFRAY. 1995. *The dynamics of insect-pathogen interactions in stage structured populations*. Amer. Nat. **145**:855-887.
- BROOKS, W. M. 1993. *Host-parasite-pathogen interactions*, p. 231-272. En: N.E. Beckage, S.N. Thompson y B.A. Federici (ed.), Parasites and pathogens of insects, vol. 2. Academic Press Inc., San Diego.
- BROWN, S.E., J.E. MARUNIAK Y D.L. KNUDSON. 1985. *Baculovirus (MNPV) genomic variants: characterization of Spodoptera exempta MNPV DNAs and comparison with other Autographa californica MNPV DNAs*. J. Gen. Virol. **66**:2431-2440.
- CABALLERO, P., E. VARGAS-OSUNA Y C. SANTIAGO-ÁLVAREZ. 1990a. *Aplicación en campo del virus del granulosis de Agrotis segetum Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae)*. Bol. San. Veg. Plag. **16**:333-337.
- CABALLERO, P., E. VARGAS-OSUNA Y C. SANTIAGO-ÁLVAREZ. 1990b. *Development of Apanteles telengai (Hym: Braconidae) and Campoletis annulata (Hym: Ichneumonidae) in granulosis-virus infected Agrotis segetum (Lep: Noctuidae) larvae*. J. Appl. Entomol. **10**:358-364.
- CABALLERO, P., E. VARGAS-OSUNA Y C. SANTIAGO-ÁLVAREZ. 1991. *Parasitization of granulosis-virus infected and noninfected Agrotis segetum larvae and the virus transmission by three hymenopteran parasitoids*. Entomol. Exp. Appl. **58**:55-60.

- CAPINERA, J.L. y P. BARBOSA. 1975. *Transmission of a nuclear polyhedrosis virus to gypsy moth larvae by Calosoma sycophanta*. Ann. Entomol. Soc. Am. **68**:593-594.
- CASTRO, M.E.B., M.L. SOUZA, W. SIHLER, J.C.M. RODRIGUES y B.M. RIBEIRO. 1999. *Biologia molecular de baculovirus e seu uso no controle biológico de pragas no Brasil*. Pesq. Agropec. Brasil. **34**:1733-1761.
- CHAPMAN, J.W., T. WILLIAMS, A. ESCRIBANO, P. CABALLERO, R.D. CAVE y D. GOULSON. 1999. *Age-related cannibalism and horizontal transmission of a nuclear polyhedrosis virus in larval Spodoptera frugiperda*. Ecol. Entomol. **24**:268-275.
- CHERRY, A.J., M.A. PARNELL, D. GRZYWACZ y K.A. JONES. 1997. *The optimization of in vivo nuclear polyhedrosis virus production in Spodoptera exempta (Walker) and Spodoptera exigua (Hubner)*. J. Invertebr. Pathol. **70**:50-58.
- CHERRY, C.L. y M.D. SUMMERS. 1985. *Genotypic variation among wild isolates of two nuclear polyhedrosis viruses isolated from Spodoptera littoralis*. J. Invertebr. Pathol. **46**:289-295.
- CLARK, E.C. 1955. *Observations on the ecology of a polyhedrosis of the Great Basin tent caterpillar Malacosoma fragilis*. Ecology **36**:373-376.
- CORY, J.S., R.S. HAILS y S.R. SALT. 1997. *Baculovirus ecology*, p. 301-339. En: L.K. Miller (ed.), The baculoviruses. Plenum Press, NY.
- CORY, J.S., M.L. HIRST, T. WILLIAMS, R.S. HAILS, D. GOULSON, B.M. GREEN, T.M. CARTY, R.D. POSSEE, P.J. CAYLEY y D.H.L. BISHOP. 1994. *Field trial of a genetically improved baculovirus insecticide*. Nature **370**:138-140.
- CRAWFORD, A.M. y J. KALMAKOFF. 1977. *A host virus interaction in a pasture habitat: Wiseana spp. (Lepidoptera: Hepialidae) and its baculovirus*. J. Invertebr. Pathol. **29**:81-87.
- CROIZIER, G. y H.C.T. RIBEIRO. 1992. *Recombination as a possible major cause of genetic heterogeneity in Anticarsia gemmatilis nuclear polyhedrosis virus wild populations*. Virus Res. **26**:183-191.
- D'AMICO, V. y J.S. ELKINTON. 1995. *Rainfall effects on the transmission of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nuclear polyhedrosis virus*. Environ. Entomol. **24**:1144-1149.
- D'AMICO, V., J.S. ELKINTON, G. DWYER, J.P. BURAND y J.P. BUONACCORSI. 1996. *Virus transmission in gypsy moth is not a simple mass action process*. Ecology **77**:201-206.
- D'AMICO, V., J.S. ELKINTON, G. DWYER, R.B. WILLIS y M.E. MONTGOMERY. 1998. *Foliage consumption does not affect within-season transmission of an insect virus*. Ecology **79**:1104-1110.
- DAVID, W.A.L. y B.O.C. GARDINER. 1966. *Persistence of a granulosis virus of Pieris brassicae on cabbage leaves*. J. Invertebr. Pathol. **8**:180-183.
- DHANDAPANI, N., S. JAYARAJ y R.J. RABINDRA. 1993. *Cannibalism on nuclear polyhedrosis virus infected larvae by Heliothis armigera (Hubn.) larvae and its effect on viral infection*. Insect Sci. Applic. **14**:427-430.
- DOANE, C.C. 1970. *Primary pathogens and their role in the development of an epizootic in the gypsy moth*. J. Invertebr. Pathol. **15**:21-23.

- DUFFEY, S.S., K. HOOVER, B. BONNING Y B.D. HAMMOCK. 1995. *The impact of host plant on the efficacy of baculoviruses*. Rev. Pest. Toxicol. **3**:137-275.
- DWYER, G. 1991. *The roles of density, stage and patchiness in the transmission of an insect virus*. Ecology **72**:559-574.
- DWYER, G. 1992. *On the spatial spread of insect pathogens: theory and experiment*. Ecology **73**:479-494.
- DWYER, G. 1994. *Density dependence and spatial structure in the dynamics of insect pathogens*. Am. Nat. **143**:533-562.
- DWYER, G. Y J.S. ELKINTON. 1993. *Using simple models to predict virus epizootics in gypsy moth populations*. J. Animal Ecol. **62**:1-11.
- DWYER, G. Y J.S. ELKINTON. 1995. *Host dispersal and the spatial spread of insect pathogens*. Ecology **76**:1262-1275.
- DWYER, G.; J.S. ELKINTON Y J. P. BUONACCORSI. 1997. *Host heterogeneity in susceptibility and disease dynamics: tests of a mathematical model*. Am. Nat. **150**:685-707.
- EBLING, P.M. Y W.J. KAUPP. 1999. *Yield of occlusion bodies from forest test caterpillar (Lepidoptera: Lasiocampidae) larvae infected with a nuclear polyhedrosis virus*. Can. Entomol. **131**:93-95.
- ELLEMAN, C.J. Y P.F. ENTWISTLE. 1985. *Inactivation of a nuclear polyhedrosis virus on cotton by the substances produced by the cotton leaf surface gland*. Ann. Appl. Biol. **106**:83-92.
- ENTWISTLE, P.F. 1982. *Passive carriage of baculoviruses in forests*. Proc. III Intern. Coll. Invert. Pathol., Brighton, p. 344-351.
- ENTWISTLE, P.F., P.H. W. ADAMS Y H.F. EVANS. 1977a. *Epizootiology of a nuclear polyhedrosis virus in European spruce sawfly (Gilpinia hercyniae): birds as dispersal agents of the virus during winter*. J. Invert. Pathol. **29**:354-360.
- ENTWISTLE, P.F., P.H.W. ADAMS Y H.F. EVANS. 1977b. *Epizootiology of a nuclear polyhedrosis virus in European spruce sawfly (Gilpinia hercyniae): the status of birds as dispersal agents of the virus during larval season*. J. Invert. Pathol. **30**:15-19.
- ENTWISTLE, P.F., P.H.W. ADAMS Y H.F. EVANS. 1983. *Epizootiology of a nuclear polyhedrosis virus (Baculoviridae) in European spruce sawfly (Gilpinia hercyniae): spread of disease from small epicentres in comparison with spread of baculovirus disease in other hosts*. J. Appl. Ecol. **20**:473-487.
- ENTWISTLE, P.F. Y H.F. EVANS. 1985. *Viral control*, p. 347-412. En: L.I. Gilbert y G.A. Kerkut (ed.), *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*, vol. 12. Pergamon Press, Oxford.
- ENTWISTLE, P.F., A.C. FORKNER, B.M. GREEN Y J.S. CORY. 1993. *Avian dispersal of nuclear polyhedrosis viruses after induced epizootics in the pine beauty moth Panolis flammea (Lepidoptera: Noctuidae)*. Biol. Contr. **3**:61-69.
- ESCRIBANO, A., T. WILLIAMS, D. GOULSON, R.D. CAVE, J.W. CHAPMAN Y P. CABALLERO. 2000. *Effect of parasitism on a nucleopolyhedrovirus amplified in Spodoptera frugiperda larvae parasitized by Campoletis sonorensis*. Entomol. Exp. Appl. **97**:257-264.
- EVANS, H.F. 1981. *Quantitative assessment of the relationship between dosage and*

- response of the nuclear polyhedrosis virus of Mamestra brassicae*. J. Invertebr. Pathol. **37**:101-109.
- EVANS, H.F. 1983. *The influence of larval maturation on responses of Mamestra brassicae L. (Lepidoptera: Noctuidae) to nuclear polyhedrosis virus infection*. Arch. Virol. **75**:163-170.
- EVANS, H.F. 1986. *Ecology and epizootiology of baculoviruses*, p. 89-132. En: R.R. Granados y B.A. Federici (ed.), *The biology of baculoviruses vol. II*. CRC Press Inc., Boca Raton.
- EVANS, H.F. Y G.P. ALLAWAY. 1983. *Dynamics of baculovirus growth and dispersal in Mamestra brassicae L. (Lepidoptera: Noctuidae) larval populations introduced into small cabbage plots*. Appl. Environ. Microbiol. **45**:493-501.
- EVANS, H.F. Y P.F. ENTWISTLE. 1982. *Epizootiology of a nuclear polyhedrosis virus in European spruce sawfly with emphasis on persistence of virus outside the host*, p.449-461. En: E. Kurstak (ed.), *Microbial and viral pesticides*. Marcel Dekker, NY.
- EVANS, H. F. Y K. A. HARRAP. 1982. *Persistence of insect viruses*, p. 57-98. En: B.W.J. Mahy, A.C. Minson y G. Darby (ed.), *Virus persistence*. 33rd Symp. Soc. Gen. Microbiol., Cambridge University Press, London.
- EVANS, H.F., C.J. LOMER Y D.C. KELLY. 1981. *Growth of nuclear polyhedrosis virus in larvae of the cabbage moth, Mamestra brassicae L.* Arch. Virol. **70**:207-214.
- FEDERICI, B.A. Y V.M. STERN. 1990. *Replication and occlusion of a granulosis virus in larval and adult midgut epithelium of the western grapeleaf skeletonizer, Harrisina brillians*. J. Invertebr. Pathol. **56**:401-414.
- FUXA, J.R. 1982. *Prevalence of viral infections in populations of fall armyworm Spodoptera frugiperda, in southeastern Louisiana*. Environ. Entomol. **11**:239-242.
- FUXA, J.R. 1987. *Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM*. Ann. Rev. Entomol. **32**:225-251.
- FUXA, J.R. 1995. *Ecological factors critical to the exploitation of entomopathogens in pest control*, p. 42-67. En: F.R. Hall y J.W. Barry (ed.), *Biorational pest control agents: formulation and delivery*. Amer. Chem. Soc. Symp. Series 595, Washington.
- FUXA, J.R., F.L. MITCHELL Y A.R. RICHTER. 1988. *Resistance of Spodoptera frugiperda (Lep.: Noctuidae) to a nuclear polyhedrosis virus in the field and laboratory*. Entomoph. **33**:55-63.
- FUXA, J.R. Y A.R. RICHTER. 1989. *Reversion of resistance by Spodoptera frugiperda to nuclear polyhedrosis virus*. J. Invertebr. Pathol. **53**:52-56.
- FUXA, J.R. Y A.R. RICHTER. 1991. *Selection for an increased rate of Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus*. Environ. Entomol. **20**:603-609.
- FUXA, J.R. Y A.R. RICHTER. 1993. *Lack of vertical transmission in Anticarsia gemmatalis (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus*. Environ. Entomol. **22**:425-431.
- FUXA, J.R. Y A.R. RICHTER. 1994. *Distance and rate of spread of Anticarsia gemma-*

- talís (*Lepidoptera: Noctuidae*) nuclear polyhedrosis virus released into soybean. *Environ. Entomol.* **23**:1308-1316.
- FUXA, J.R. Y A.R. RICHTER. 1996. *Effect of agricultural operations and precipitation on vertical distribution of a nuclear polyhedrosis virus in soil.* *Biol. Contr.* **6**:324-329.
- FUXA, J.R., A.R. RICHTER Y M.S. STROTHER. 1993. *Detection of Anticarsia gemmatilis nuclear polyhedrosis virus in predatory arthropods and parasitoids after viral release in Louisiana soybean.* *J. Entomol. Sci.* **28**:51-60.
- FUXA, J.R. Y Y. TANADA. 1987. *Epidemiological concepts applied to insect epizootiology*, p. 3-22. *En*: J.R. Fuxa y Y. Tanada (ed.), *Epizootiology of insect diseases*. John Wiley & Sons, NY.
- GAUMANN, E. 1950. *Principles of plant infection*. Corsby Lock y Son Ltd., London.
- GODWIN, P.A. Y K.S. SHIELDS. 1984. *Effects of Blepharipa pratensis (Dip.: Tachinidae) on the pathogenicity of nucleopolyhedrosis virus in stage V of Lymantria dispar (Lepidoptera: Lymantriidae).* *Entomoph.* **29**:381-386.
- GOULSON, D. Y J.S. CORY. 1995. *Responses of Mamestra brassicae (Lepidoptera: Noctuidae) to crowding: interactions with disease resistance, colour phase and growth.* *Oecologia* **104**:416-423.
- GOULSON, D., R.S. HAILS, T. WILLIAMS, M.L. HIRST, S.D. VASCONCELOS, B.M. GREEN, T. M. CARTY Y J.S. CORY. 1995. *Transmission dynamics of a virus in a stage-structured insect population.* *Ecology* **76**:392-401.
- GRANADOS, R.R. Y K.A. WILLIAMS. 1986. *In vivo infection and replication of baculoviruses*, p. 89-108. *En*: R.R. Granados y B.A. Federici (ed.), *The biology of baculoviruses vol. I*. CRC Press Inc., Boca Raton.
- GRÖNER, A. 1990. *Safety to nontarget invertebrates of baculoviruses*, p. 135-147. *En*: M. Laird, L.A. Lacey y E.W. Davidson (ed.), *Safety of microbial insecticides*. CRC Press Inc., Boca Raton.
- HAILS, R.S. 1997. *The ecology of baculoviruses: towards the design of viral pest control strategies.* *Proc. British Crop Prot. Symp.* **68**:53-62.
- HARCOURT, D.G. Y L.M. CASS. 1968. *Persistence of a granulosis virus of Pieris rapae in soil.* *J. Invertebr. Pathol.* **11**:142-143.
- HARM, W. 1980. *Biological effects of ultraviolet radiation*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- HARPER, J.D. 1986. *Interactions between baculoviruses and other entomopathogens, chemical pesticides and parasitoids*, p. 133-155. *En*: R.R. Granados y B.A. Federici (ed.), *The biology of baculoviruses vol. I*. CRC Press Inc., Boca Raton.
- HATFIELD, P.R. Y P.F. ENTWISTLE. 1988. *Biological and biochemical comparison of nuclear polyhedrosis virus isolates pathogenic for the oriental armyworm, Mythimna separata (Lepidoptera: Noctuidae).* *J. Invertebr. Pathol.* **52**:168-176.
- HEINZ, K.M., B.F. MCCUTCHEN, R. HERRMANN, M.P. PARRELLA Y B.D. HAMMOCK. 1995. *Direct effects of recombinant nuclear polyhedrosis viruses on selected nontarget organisms.* *J. Econ. Entomol.* **88**:259-264.
- HERNÁNDEZ-CRESPO, P., R.S. HAILS, S.M. SAIT, B.M. GREEN, T.M. CARTY Y J.S. CORY. 1999. *Response of hosts of varying susceptibility to a recombinant baculovirus insecticide in the field.* *Biol. Contr.* **16**:119-127.

- HESS, R.T., M.D. SUMMERS Y L.A. FALCON. 1978. *A mixed virus infection in midgut cells of Autographa californica and Trichoplusia ni larvae*. J. Ultrastruct. Res. **65**:253-258.
- HIMENO, M., F. MATSUBARA Y K. HAYASHIYA. 1973. *The occult virus of nuclear polyhedrosis of the silkworm larvae*. J. Invertebr. Pathol. **22**:292-294.
- HOCHBERG, M.E. 1989. *The potential role of pathogens in biological control*. Nature **337**:262-265.
- HOCHBERG, M.E. 1991. *Extra-host interactions between a braconid endoparasitoid, Apanteles glomeratus, and a baculovirus for larvae of Pieris brassicae*. J. Animal Ecol. **60**:65-77.
- HOCHBERG, M.E., M.P. HASSELL Y R.M. MAY. 1990. *The dynamics of host-parasitoid-pathogen interactions*. Am. Nat. **135**:74-94.
- HOFMASTER, R. N. 1961. *Seasonal abundance of the cabbage looper as related to light trap collections, precipitation, temperature and the incidence of a nuclear polyhedrosis virus*. J. Econ. Entomol. **54**:796-799.
- HOOVER, K., S.A. ALANIZ, J.L. LEE, D.M. ROCKE, B.D. HAMMOCK Y S.S. DUFFEY. 1998a. *Dietary protein and chlorogenic acid effect on baculoviral disease of noctuid (Lepidoptera: Noctuidae) larvae*. Environ. Entomol. **27**:1264-1272.
- HOOVER, K., J.L. YEE, C.M. SCHULTZ, D.M. ROCKE, B D. HAMMOCK Y S.S. DUFFEY. 1998b. *Effects of plant identity and chemical constituents on the efficacy of a baculovirus against Heliothis virescens*. J. Chem. Ecol. **24**:221-252.
- HOOVER, K., M.J. STOUT, S.A. ALANIZ, B.D. HAMMOCK Y S.S. DUFFEY. 1998c. *Influence of induced plant defenses in cotton and tomato on the efficacy of baculoviruses on noctuid larvae*. J. Chem. Ecol. **24**:253-271.
- HORTON, D.R. Y J. MOORE. 1993. *Behavioural effects of parasites and pathogens in insect hosts*, p. 107-124. En: N.E. Beckage, S.N. Thompson y B.A. Federici (ed.), Parasites and pathogens of insects, vol. 1. Academic Press Inc., San Diego.
- HOSTETTER, D.L. Y M.R. BELL. 1985. *Natural dispersal of baculoviruses in the environment*, p. 249-284. En: K. Maramorosch y K. E. Sherman (ed.), Viral insecticides for biological control. Academic Press Inc., Orlando.
- HUBER, J. 1986. *Use of baculoviruses in pest management programs*, p. 181-202. En: R.R. Granados y B.A. Federici (ed.), The biology of baculoviruses vol. II. CRC Press Inc., Boca Raton.
- HUGHES, D.S., R.D. POSSEE Y L.A. KING. 1993. *Activation and detection of a latent baculovirus resembling Mamestra brassicae nuclear polyhedrosis virus in M. brassicae insects*. Virology **19**:608-615.
- HUNTER, M.D. Y J.C. SCHULTZ. 1993. *Induced plant defenses breached? Phytochemical induction protects an herbivore from disease*. Oecologia **94**:195-203.
- HUNTER-FUJITA, F.R., P.F. ENTWISTLE Y N.E. CROOK. 1998. *Insect viruses and pest management*. John Wiley & Sons, NY.
- IGNOFFO, C.M. 1978. *Strategies to increase the use of entomopathogens*. J. Invertebr. Pathol. **31**:1-3.

- IGNOFFO, C.M., D.L. HOSTETTER, P.P. SIKOROWSKI, G. SUTTER Y W.M. BROOKS. 1977. *Inactivation of representative species of entomopathogenic viruses, a bacterium, fungus and protozoan by an ultra-violet light source*. Environ. Entomol. **6**:411-415.
- JACKSON, D.M., G.C. BROWN Y D.W. JOHNSON. 1992. *Autodissemination of a baculovirus for management of tobacco budworms (Lepidoptera: Noctuidae) on tobacco*. J. Econ. Entomol. **85**:710-719.
- JAKUES, R.P. 1962. *The transmission of nuclear polyhedrosis virus in laboratory populations of Trichoplusia ni (Hubner)*. J. Insect Pathol. **4**:433-445.
- JAKUES, R.P. 1964. *The persistence of a nuclear polyhedrosis virus in the soil*. J. Insect Pathol. **6**:251-254.
- JAKUES, R.P. 1967. *The persistence of a nuclear polyhedrosis virus in the habitat of the host insect, Trichoplusia ni, II - Polyhedra in the soil*. Can. Entomol. **99**:820-829.
- JAKUES, R.P. 1985. *Stability of insect viruses in the environment*, p. 285-359. En: K. Maramorosch y K.E. Sherman (ed.), *Viral insecticides for biological control*. Academic Press Inc., Orlando.
- JAKUES, R.P. Y D.G. HARCOURT. 1971. *Viruses of Trichoplusia ni and Pieris rapae in soil in fields of crucifers in Southern Ontario*. Can. Entomol. **103**:1285-1290.
- JERVIS, M. Y N. KIDD. 1996. *Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation*. Chapman & Hall, London.
- JURKOVICOVA, M. 1979. *Activation of latent virus infections in larvae of Adoxophyes orana (Lepidoptera: Noctuidae) by foreign polyhedra*. J. Invertebr. Pathol. **34**:213-215.
- KAUPP, W. J. Y S. S. SOHI. 1985. *The role of viruses in the ecosystem*, p. 441-465. En: K. Maramorosch y K.E. Sherman (ed.), *Viral insecticides for biological control*. Academic Press Inc., Orlando.
- KAYA, H.K. 1970. *Toxic factor produced by a granulosis virus in armyworm larva: effect on Apanteles militaris*. Science **168**:251-253.
- KEATING, S.T., M.D. HUNTER Y J.C. SCHULTZ. 1990. *Leaf phenolic inhibition of gypsy moth nuclear polyhedrosis virus*. J. Chem. Ecol. **16**:1445-1457.
- KEATING, S.T., W.J. MCCARTHY Y E.G. YENDOL. 1989. *Gypsy moth (Lymantria dispar) larval susceptibility to a baculovirus affected by selected nutrients, hydrogen ions (pH), and plant allelochemicals in artificial diets*. J. Invert. Pathol. **54**:165-174.
- KEATING, S.T. Y W. YENDOL. 1987. *Influence of selected host plants on gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) larval mortality caused by a baculovirus*. Environ. Entomol. **16**:459-462.
- KEATING, S.T., W. YENDOL Y J.C. SCHULTZ. 1988. *Relationship between susceptibility of gypsy moth larvae (Lepidoptera: Noctuidae) to a baculovirus and host plant foliage conditions*. Environ. Entomol. **17**:952-958.
- KILLICK, H.J. 1990. *Influence of droplet size, solar ultraviolet light and protectants, and other factors on the efficacy of baculovirus sprays against Panolis flammea (Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae)*. Crop Prot. **9**:21-28.

- KILLICK, H.J. Y S.J. WARDEN. 1991. *Ultraviolet penetration of pine trees and insect virus survival*. Entomoph. **36**:87-94.
- KNELL, R.J., M. BEGON Y D.J. THOMPSON. 1996. *Transmission dynamics of Bacillus thuringiensis infecting Plodia interpunctella: a test of the mass action assumption with an insect pathogen*. Proc. Roy. Soc. London B **263**:75-81.
- KNELL, R.J., M. BEGON Y D.J. THOMPSON. 1998. *Host-pathogen population dynamics, basic reproductive rates and threshold densities*. Oikos **81**:299-308.
- KUNIMI, Y. Y B. YAMADA. 1990. *Relationship between larval phase and susceptibility of the armyworm Pseudaletia separata Walker (Lepidoptera: Noctuidae) to a nuclear polyhedrosis virus and a granulosis virus*. Appl. Entomol. Zool. **25**:289-297.
- LAUTENSCHLAGER, R.A., J.D. PODGWAITE Y D.E. WATSON. 1980. *Natural occurrence of the nucleopolyhedrosis virus of the gypsy moth, Lymantria dispar (Lepidoptera: Lymantriidae) in wild mammals and birds*. Entomoph. **25**:261-267.
- LEVIN, D.B., J.E. LAING Y R.P. JAUQUES. 1979. *Transmission of a granulosis virus by Apanteles glomeratus to its host, Pieris rapae*. J. Invertebr. Pathol. **34**:317-318.
- LEVIN, D.B., J.E. LAING, R.P. JAUQUES Y J.E. CORRIGAN. 1983. *Transmission of the granulosis virus of Pieris rapae (Lepidoptera: Pieridae) by the parasitoid Apanteles glomeratus (Hymenoptera: Braconidae)*. Environ. Entomol. **12**:166-170.
- LOWE, R.E. Y J.D. PASCHKE. 1968. *Pathology of a double viral infection of Trichoplusia ni*. J. Invertebr. Pathol. **12**:438-442.
- MAGALHÃES, B.P., R. MONNERAT Y S.B. ALVES. 1998. *Interações entre entomopatógenos, parasitóides e predadores*, p. 195-216. En: S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, vol. 4, FEALQ, Piracicaba, Brasil.
- MALAKAR, R., J.S. ELKINTON, S.D. CARROLL Y V. D'AMICO. 1999. *Interactions between two gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) pathogens: nucleopolyhedrovirus and Entomophaga maimaiga (Zygomycetes: Entomophthorales): field studies and a simulation model*. Biol. Contr. **16**:189-198.
- MARAMOROSCH, K. Y K.E. SHERMAN. 1985. *Viral insecticides for biological control*. Academic Press Inc., Orlando.
- MCKINLEY, D.J., J.A. BROWN, C.C. PAYNE Y K.A. HARRAP. 1981. *Cross-infectivity and activation studies with four baculoviruses*. Entomoph. **26**:79-82.
- MCLEOD, P.J., W.C. YOUNG Y S.Y. YEARIAN. 1977. *Inactivation of Baculovirus heliothis by ultraviolet irradiation, dew and temperature*. J. Invertebr. Pathol. **30**:237-241.
- MCNITT, L., K.E. ESPELIE Y L.K. MILLER. 1995. *Assessing the safety of toxin-producing baculovirus biopesticides to a nontarget predator, the social wasp Polistes metricus Say*. Biol. Contr. **5**:267-271.
- MOORE, S.G., J. KALMAKOFF Y J.A.R. MILES. 1973. *Virus diseases of Porina (Wiseana spp. Lepidoptera: Hepialidae) II - Transmission trials*. New Zealand J. Zool. **1**:85-95.
- MOSCARDI, F. 1998. *Utilização de vírus entomopatogênicos em campo*, p. 509-539. En: S. B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, vol. 4, FEALQ, Piracicaba, Brasil.

- MOSCARDI, F. 1999. *Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera*. Annu. Rev. Entomol. **44**:257-289.
- MURRAY, K.D. Y J.S. ELKINTON. 1992. *Vertical distribution of nuclear polyhedrosis virus infected gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae and effects on sampling for estimation of disease prevalence*. J. Econ. Entomol. **85**:1865-1872.
- MURRAY, D.A.H., C.J. MONSOUR, R.E. TEAKLE, K.P. RYNNE Y J.A. BEAN. 1995. *Interactions between nuclear polyhedrosis virus and three larval parasitoids of Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)*. J. Aust. Entomol. Soc. **34**:319-327.
- MURRAY, K.D., K.S. SHIELDS, J.P. BURAND Y J.S. ELKINTON. 1991. *The effect of gypsy moth metamorphosis on development of nuclear polyhedrosis virus infection*. J. Invertebr. Pathol. **57**:352-361.
- MYERS, J.H. 1988. *Can a general hypothesis explain population cycles of forest Lepidoptera?* Adv. Ecol. Res. **18**:179-242.
- NEELGUND, Y.F. Y S.B. MATHAD. 1978. *Transmission of nuclear polyhedrosis in a laboratory population of the armyworm, Mythimna (Pseudaletia) separata*. J. Invertebr. Pathol. **31**:143-147.
- OLOFSSON, E. 1988. *Dispersal of nuclear polyhedrosis virus of Neodiprion sertifer from soil to pine foliage with dust*. Entomol. Exp. Appl. **46**:81-186.
- O'REILLY, D.R. Y L.K. MILLER. 1992. *Improvement of a baculovirus pesticide by deletion of the egt gene*. Biotechnology **9**:1086-1089.
- PATIL, U.R., C.J. SAVANURMATH, S.B. MATHAD, P.I. ARALAGUPPI Y S.S. INGALHALLI. 1989. *Effects of nuclear polyhedrosis virus on the growth, development and reproduction in surviving generations of the armyworm Mythimna (Pseudaletia) separata (Walker)*. J. Appl. Entomol. **108**:527-532.
- PENG, F., J.R. FUXA, S.J. JOHNSON Y A.R. RICHTER. 1997. *Susceptibility of Anticarsia gemmatilis (Lepidoptera: Noctuidae) reared on four host plants to a nuclear polyhedrosis virus*. Environ. Entomol. **26**:973-977.
- PENG, F., J.R. FUXA, A.R. RICHTER Y S.J. JOHNSON. 1999. *Effects of heat-sensitive agents, soil type, moisture and leaf surface on the persistence of Anticarsia gemmatilis (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus*. Environ. Entomol. **28**:330-338.
- PODGWAITE, J.D., K.S. SHIELDS, R.T. ZERILLO Y R.B. BRUEN. 1979. *Environmental persistence of the nucleopolyhedrosis virus of the gypsy moth, Lymantria dispar*. Environ. Entomol. **8**:528-536.
- RAIMO, B., R.C. REARDON Y J.D. PODGWAITE. 1977. *Vectoring gypsy moth nuclear polyhedrosis virus by Apanteles melanoscelus (Hymenoptera: Braconidae)*. Entomoph. **22**:207-215.
- REED, E.M. 1971. *Factors affecting the status of a virus as a control agent for the potato moth (Phthorimaea operculella (Zell.) (Lep.: Gelechiidae)*. Bull. Entomol. Res. **61**:207-215.
- RIBEIRO, H.C.T. Y O.H.O. PAVAN. 1994. *Effect of temperature on the development of baculoviruses*. J. Appl. Entomol. **118**:316-320.
- RIBEIRO, B.M., P.M.A. ZANOTTO, S. McDOWELL, M.L. SOUZA Y E.W. KITAJIMA. 1997.

- Characterization of a baculovirus infecting the passion fruit caterpillar Dione juno juno*. Biocell. **21**:71-82.
- RICHARDS, A., J. CORY, M. SPEIGHT Y T. WILLIAMS. 1999. *Foraging in a pathogen reservoir can lead to local host population extinction: a case study of a Lepidoptera-virus interaction*. Oecologia **118**:29-38.
- RICHARDS, M.G. Y C.C. PAYNE. 1982. *Persistence of baculoviruses on leaf surfaces*. Proc. III Intern. Coll. Invert. Pathol., Brighton, p. 296-301.
- RICHTER, A.R., J.R. FUXA Y M. ABDEL-FATTAH. 1987. *Effect of host plant susceptibility of Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) to a nuclear polyhedrosis virus*. Environ. Entomol. **16**:1004-1006.
- ITTER, K.S. Y Y. TANADA. 1978. *Interference between two nuclear polyhedrosis viruses of the armyworm, Pseudaletia unipuncta*. Entomoph. **23**:349-354.
- ROTHMAN, L.E. Y J.M. MYERS. 1996. *Debilitating effects of viral diseases on host Lepidoptera*. J. Invert. Pathol. **67**:1-10.
- RUBERSON, J.R., S.Y. YOUNG Y T.J. KRING. 1991. *Suitability of prey infected by nuclear polyhedrosis virus for development, survival and reproduction of the predator Nabis roseipennis (Het.: Nabidae)*. Environ. Entomol. **20**:1475-1479.
- SAIT, S.M., M. BEGON Y D.J. THOMPSON. 1994a. *The effects of a sublethal infection in the Indian meal moth, Plodia interpunctella*. J. Animal Ecol. **63**:541-550.
- SAIT, S.M., M. BEGON Y D.J. THOMPSON. 1994b. *The influence of larval age on the response of Plodia interpunctella to a granulosis virus*. J. Invertebr. Pathol. **63**:107-110.
- SAIT, S.M., M. BEGON, D.J. THOMPSON Y HARVEY, J.A. 1996. *Parasitism of baculovirus-infected Plodia interpunctella by Venturia canescens and subsequent virus transmission*. Func. Ecol. **10**:586-591.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C. Y P. CABALLERO. 1990. *Susceptibility of parasitized Agrotis segetum larvae to a granulosis virus*. J. Invertebr. Pathol. **56**:128-131.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C. Y R. ORTIZ-GARCÍA. 1992. *The influence of host plant on the susceptibility of Spodoptera littoralis (Boisd.) (Lep.: Noctuidae) larvae to S. littoralis NPV (Baculoviridae)*. J. Appl. Entomol. **114**:124-130.
- SCHMID-HEMPPEL, P. 1998. *Parasites in social insects. Monographs in behavior and ecology*, Princeton University Press, USA.
- SCHULTZ, J.C. Y S.T. KEATING. 1991. *Host-plant-mediated interactions between the gypsy moth and a baculovirus*, p. 489-506. En: P. Barbosa, V.A. Krischik y C.G. Jones (ed.), Microbial mediation of plant-herbivore interactions. John Wiley & Sons Inc., NY.
- SHAPIRO, M., R. A. BELL Y C. D. OWENS. 1981. *In vivo mass production of gypsy moth nucleopolyhedrosis virus*, p. 633-655. En: Doune, C.C. y M.L. McManus (ed.), The gypsy moth: toward integrated pest management. USDA Forest Service, Washington DC.
- SHAPIRO, M., J.R. FUXA, H.D. BRAYMER Y D.P. PASHLEY. 1991. *DNA restriction polymorphism in wild isolates of Spodoptera frugiperda nuclear polyhedrosis virus*. J. Invertebr. Pathol. **58**:96-102.
- SHAPIRO, M. Y J.L. ROBERTSON. 1987. *Yield and activity of gypsy moth (Lepidoptera:*

- Lymantriidae*) nucleopolyhedrosis virus recovered from survivors of viral challenge. J. Econ. Entomol. **80**:901-905.
- SHIEH, T. R. 1989. Industrial production of viral insecticides. Adv. Virus Res. **36**:315-343.
- SMIRNOFF, W. A. 1965. Observations on the effect of virus infection on insect behavior. J. Invertebr. Pathol. **7**:387-388.
- SMITS, P.H. Y J.M. VLAK. 1988a. Biological activity of *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus against *S. exigua* larvae. J. Invertebr. Pathol. **51**:107-114.
- SMITS, P.H. Y J.M. VLAK. 1988b. Quantitative and qualitative aspects in the production of a nuclear polyhedrosis virus in *Spodoptera exigua* larvae. Ann. Appl. Biol. **112**:249-257.
- SOSA-GÓMEZ, D.R., R.M. PEREIRA Y S.B. ALVES. 1998. Impacto ambiental de entomopatógenos, p. 1075-1096. En: S. B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, vol. 4, FEALQ, Piracicaba, Brasil.
- STAIRS, G.R. 1965. Quantitative differences in susceptibility to nuclear polyhedrosis virus among larval instars of the forest tent caterpillar *Malacosoma disstria* (Hübner). J. Invertebr. Pathol. **7**:427-429.
- TANADA, Y. 1976. Ecology of insect viruses, p. 265-283. En: J.F. Anderson y H.K. Kaya. (ed.), Perspectives in forest entomology. Academic Press, NY.
- TANADA, Y. Y H.K. KAYA. 1993. Insect pathology. Academic Press Inc., San Diego.
- TANADA, Y. & E.M. OMI. 1974. Epizootiology of virus diseases in three lepidopterous insect species of alfalfa. Res. Pop. Ecol. **16**:59-64.
- TAPP, H. Y G. STOTZKY. 1995. Insecticidal activity of the toxins from *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* and *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays. Appl. Environ. Microbiol. **61**:1786-1790.
- TEAKLE, R.E., J.M. JENSEN Y J.E. GILES. 1986. Age-related susceptibility of *Heliothis punctiger* to a commercial formulation of nuclear polyhedrosis virus. J. Invertebr. Pathol. **47**:82-92.
- THOMAS, E.D., C.F. REICHELDERFER Y A.M. HEIMPEL. 1973. The effect of soil pH on the persistence of cabbage looper nuclear polyhedrosis virus in soil. J. Invertebr. Pathol. **21**:21-25.
- THOMAS, M.B. Y A.J. WILLIS. 1998. Biocontrol – risky but necessary? Trends Ecol. Evol. **13**:325-329.
- THOMPSON, C.G. Y D.W. SCOTT. 1979. Production and persistence of the nuclear polyhedrosis virus of the Douglas-fir tussock moth, *Orgyia pseudotsugata* (Lep.: Lymantriidae) in forest ecosystem. J. Invertebr. Pathol. **33**:57-65.
- THOMPSON, C.G., D.W. SCOTT Y B.E. WICKMAN. 1981. Long term persistence of the nuclear polyhedrosis virus of the Douglas-fir tussock moth, *Orgyia pseudotsugata* (Lep.: Lymantriidae) in forest soil. Environ. Entomol. **10**:254-255.
- TOLEDO, J., P. LIEDO, T. WILLIAMS Y J. IBARRA. 1999. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* (-exotoxin) to three species of fruit flies (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. **92**:1052-1056.
- VAIL, P.V., D.F. HOFFMAN Y S.J. TEBBETS. 1993. Autodissemination of *Plodia* inter-

- punctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) granulosis virus by healthy adults. J. Stor. Prod. Res. **29**:71-74.
- VARGAS-OSUNA, E., P. CARRANZA, H.K. ALDEBIS Y C. SANTIAGO-ALVAREZ. 1995. Production of *Agrotis segetum* granulosis virus in different larval instars of *A. segetum* (Lep.; Noctuidae). J. Appl. Entomol. **119**: 695-697.
- VARGAS-OSUNA, E. Y C. SANTIAGO-ALVAREZ. 1988. Differential response of male and female *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lep.; Noctuidae) individuals to a nuclear polyhedrosis virus. J. Appl. Entomol. **105**:374-378.
- VASCONCELOS, S.D. 1996a. Alternative routes for the transmission of a nucleopolyhedrovirus. J. Invertebr. Pathol. **68**:269-274.
- VASCONCELOS, S.D. 1996b. Studies on the transmission and dispersal of baculoviruses in lepidopteran populations. D. Phil thesis, University of Oxford, Reino Unido.
- VASCONCELOS, S.D., J.S. CORY, K.R. WILSON, S.M. SAIT Y R.S. HAILS. 1996a. Modified behavior in baculovirus-infected lepidopteran larvae and its impact on the spatial distribution of inoculum. Biol. Contr. **7**:299-306.
- VASCONCELOS, S.D., T. WILLIAMS, R.S. HAILS Y J.S. CORY. 1996b. Prey selection and baculovirus dissemination by carabid predators of Lepidoptera. Ecol. Entomol. **21**:98-104.
- VERSOI, P.L. Y W.G. YENDOL. 1982. Discrimination by the parasite, *Apanteles melanoscelus*, between healthy and virus-infected gypsy moth larvae. Environ. Entomol. **11**:42-45.
- VLAK, J.M. 1993. Genetic engineering of baculoviruses for insect control, p. 90-127. En: J. Oakeshott y M.J. Whitten (ed.), Molecular approaches to fundamental and applied entomology. Springer-Verlag, New York.
- WAHL, B. 1909. Über die polyederkrankheit der Nonne (*Lymantria monacha* L.). Centr. f. Gesam. Forstwesen **35**:164-172.
- WATANABE, H. 1987. The host population, p. 71-112. En: J. R. Fuxa y Y. Tanada (ed.), Epizootiology of insect diseases. John Wiley & Sons, NY.
- WEBB, S.E. Y A.M. SHELTON. 1990. Effect of age structure on the outcome of viral epizootics in field populations of imported cabbageworm (Lepidoptera: Pieridae). Environ. Entomol. **19**:111-116.
- WHITE, A., R.G. BOWERS Y M. BEGON. 1999. The spread of infection in seasonal insect-pathogen systems. Oikos **85**:487-498.
- WILSON, K. Y A.F. REESON. 1998. Density-dependence prophylaxis: evidence from *Lepidoptera*-baculovirus interactions? Ecol. Entomol. **23**:100-101.
- YOUNG, O.P. Y J.J. HAMM. 1985. Compatibility of two fall armyworm pathogens with the predaceous beetle, *Calosoma sayi* (Coleoptera: Carabidae). J. Entomol. Sci. **20**:212-218.
- YOUNG, S.Y. Y T.J. KRING. 1991. Selection of healthy and nuclear polyhedrosis virus infected *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) as prey by nymphal *Nabis roseipennis* (Hemiptera: Nabidae) in laboratory and on soybean. Entomoph. **36**:265-273.
- YOUNG, S.Y. Y W.C. YEARIAN. 1987. *Nabis roseipennis* adults, (Hemiptera: Nabidae)

- as disseminators of nuclear polyhedrosis virus to Anticarsia gemmatilis (Lepidoptera: Noctuidae) larvae.* Environ. Entomol. **16**:1330-1333.
- YOUNG, S.Y. Y W.C. YEARIAN. 1988. *Secondary transmission of nuclear polyhedrosis virus by Pseudoplusia includens and Anticarsia gemmatilis larvae on semisynthetic diet.* J. Invertebr. Pathol. **51**:133-138.
- YOUNG, S.Y. Y W.C. YEARIAN. 1990. *Transmission of nuclear polyhedrosis virus by the parasitoid Microplitis croceipes (Hymenoptera: Braconidae) to Heliothis virescens (Lepidoptera: Noctuidae) on soybean.* Environ. Entomol. **19**:251-256.
- ZELAZNY, B. 1982. *Release of diseased or contaminated arthropods as means of dispersal of viruses.* Proc. III Intern. Coll. Invert. Pathol., Brighton, p. 36-38.