

## Los baculovirus como modificadores del comportamiento depredador de las larvas de *Chrysoperla carnea*.

Baculoviruses as modifiers of the predatory behavior of *Chrysoperla carnea* larvae.

Morel-Monges, Ariel<sup>1</sup> , Rojas, Marisa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Investigador independiente

Autor corresponsal –correo-e: arimorel1995@gmail.com

### Resumen

En este estudio realizado en el ETSIAAB de la Universidad Politécnica de Madrid en 2019, se evaluó la capacidad del depredador *Chrysoperla carnea* Stephens para discriminar entre larvas de *Spodoptera exigua* Hübner infectadas y no infectadas con el baculovirus SeMNPV, así como su preferencia alimentaria en presencia de una presa alternativa, el pulgón *Macrosiphum euphorbiae* Thomas. Las larvas de *S. exigua* fueron infectadas con la cepa CL95 de SeMNPV mediante una técnica de alimentación, y *C. carnea* tuvo la opción de elegir entre larvas infectadas y no infectadas de *S. exigua* en placas de Petri. En un ensayo separado, también se le ofreció la opción de elegir entre una larva infectada de *S. exigua* y el pulgón *M. euphorbiae*, así como entre una larva no infectada de *S. exigua* y el pulgón. Los ensayos incluyeron 48 repeticiones para la elección entre larvas infectadas y no infectadas de *S. exigua*, 40 repeticiones para las larvas de *C. carnea* eligiendo entre *S. exigua* infectada y pulgones, y 46 repeticiones para las larvas no infectadas de *S. exigua* y pulgones. Las variables evaluadas fueron la elección del depredador, el tiempo hasta el primer ataque y el tiempo total de alimentación. Los resultados mostraron que *C. carnea* se alimentó indistintamente de larvas infectadas o no infectadas de *S. exigua*, sin diferencias significativas en el tiempo de ataque ni en el tiempo total de alimentación. Sin embargo, en los ensayos con presa alternativa, *C. carnea* prefirió las larvas de *S. exigua* sobre el pulgón, aunque no se observaron diferencias en el tiempo de ataque. Estos hallazgos son relevantes para evaluar la sinergia entre enemigos naturales y agentes de control microbiológico en programas de Gestión Integrada de Plagas.

**Palabras clave:** Baculovirus, *Chrysoperla carnea*, *Spodoptera exigua*, *Macrosiphum euphorbiae*, noctuidos, SeMNPV.

### Abstract

In this study conducted at the ETSIAAB of the Polytechnic University of Madrid in 2019, the predator *Chrysoperla carnea* Stephens was evaluated for its ability to discriminate between infected and non-infected larvae of *Spodoptera exigua* Hübner with the baculovirus SeMNPV, as well as its feeding preference in the presence of an alternative prey, the aphid *Macrosiphum euphorbiae* Thomas. *S. exigua* larvae were infected with the CL95 strain of SeMNPV using a feeding technique, and *C. carnea* had the option to choose between infected and non-infected *S. exigua* larvae in Petri dishes. In a separate trial, *C. carnea* was also offered the choice between an infected *S. exigua* larva and the aphid *M. euphorbiae*, as well as between a non-infected *S. exigua* larva and the aphid. The trials included 48 repetitions for the choice between infected and non-infected *S. exigua* larvae, 40 repetitions for *C. carnea* larvae choosing between infected *S. exigua* and aphids, and 46 repetitions for non-infected *S. exigua* larvae and aphids. The variables assessed were predator choice, time to first attack, and total feeding time. The results showed that *C. carnea* fed indiscriminately on both infected and non-infected *S. exigua* larvae, with no significant differences in attack time or total feeding time. However, in trials with alternative prey, *C. carnea* preferred *S. exigua* larvae over the aphid, although no differences were observed in the attack time. These findings are relevant for evaluating the synergy between natural enemies and microbial control agents in Integrated Pest Management programs.

**Key words:** Baculovirus, *Chrysoperla carnea*, *Spodoptera exigua*, *Macrosiphum euphorbiae*, noctuids, SeMNPV

## 1. Introducción

Los baculovirus son virus específicos de artrópodos, particularmente de insectos de las órdenes Lepidóptera, Himenóptera y Díptera. Son importantes en agricultura por su potencial en el control biológico de plagas. Estos virus tienen un genoma de ADN de doble cadena, y su ciclo de infección incluye dos tipos de viriones: ODV (virus derivados de oclusión) y BV (viriones brotados). Los ODV se liberan en el intestino medio del insecto y comienzan la infección, mientras que los BV son responsables de la propagación secundaria. Los baculovirus se dispersan tanto por factores bióticos (huéspedes, depredadores, parasitoides) como abióticos (viento, lluvia) y son una herramienta útil en el control de plagas resistentes a insecticidas químicos (Moscardi et al., 2011; Beas-Catena et al., 2014; Williams et al., 2017; Boogaard et al., 2018; Rohrmann, 2019).

*Spodoptera exigua*, conocida como polilla del gusano gris, es una plaga global que afecta a cultivos agrícolas y ornamentales. Sus larvas son las responsables de los daños a los cultivos, ya que son voraces herbívoras. Esta plaga tiene una alta tasa de reproducción y su ciclo de vida puede completarse en 24 días. Aunque existen métodos de control, como los insecticidas y los entomopatógenos, *S. exigua* ha desarrollado resistencia a varios insecticidas. El control biológico con *Bacillus thuringiensis* y el baculovirus específico SeMNPV son opciones efectivas (Belda, 1994; Capinera, 2008; Cuadrado, 2023; Martín-Gil y Alcázar-Albar, 2021).

*Chrysoperla carnea* es un depredador generalista utilizado en programas de control biológico. Es voraz, especialmente en su estadio larval, y se alimenta de una amplia variedad de insectos, como pulgones, ácaros y larvas de lepidópteros. Este insecto se utiliza para controlar plagas agrícolas debido a su alta tasa de depredación, resistencia a pesticidas y capacidad de ser criado en condiciones comerciales. Además, se ha demostrado que puede contribuir a la dispersión de baculovirus, ya que, al consumir insectos infectados, puede excretar OBs viables o dispersar el virus físicamente en las plantas (Tauber et al, 2000; McEwen et al, 2001; Medina et al., 2003; CABI, 2019).

*Macrosiphum euphorbiae* es un áfido conocido por ser un parásito de diversas plantas, causando daños al alimentarse de la savia y transmitiendo virus de plantas. Su manejo es importante en agricultura debido a los daños que puede causar en cultivos, y la intervención de depredadores y enemigos naturales, como *C. carnea*, puede ayudar a su control (Cañedo et al., 2011; Andorno et al., 2014).

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Localización de la investigación y materiales biológicos utilizados

La investigación se realizó en los laboratorios de entomología y de baculovirus de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas (ETSIAAB) de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM) en España durante el año 2019. Los materiales biológicos utilizados, los virus fueron proporcionados por el Departamento de Producción Agraria de la Universidad Pública de Navarra (UPNA) correspondiente al Multinucleopoliedrovirus específico de *Spodoptera exigua* (SeMNPV) a una concentración madre de  $1.64 \times 10^{10}$  OBs/mL. Mientras que los insectos, *S. exigua* fueron criados de ejemplares proporcionados por la UPNA,

dichos insectos se mantenían en condiciones controladas de  $25 \pm 2^\circ \text{C}$ ,  $65\% \pm 10\%$  de humedad relativa y fotoperiodo de 16:8 h luz: oscuridad. Se colocaron 50 larvas en cajas de plástico de 29 x 19 x 6 cm con rejilla metálica en la tapa para permitir la aireación, dentro de las cajas se le proveía de dieta artificial y se alimentaron *ad libitum*. La cría de *C. carnea* se obtuvo de una colonia de Agrobío® (Almería, España) bajo las condiciones mencionadas anteriormente y los bioensayos se realizaron a partir de la primera generación de adultos. Las larvas de *C. carnea* se alimentaron *ad libitum* con dieta basada en huevos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) y *Artemia* spp. en proporción de 10 y 50 g respectivamente. La dieta se obtuvo de Koppert® (Berkel en Rodenrijs, Países Bajos). Una vez que fueron llevadas las larvas de *C. carnea* al Laboratorio de Baculovirus, se mantenía a los insectos en cámaras climáticas y de temperatura Sanyo® a una temperatura de  $25^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$  y con una humedad relativa promedio de  $60\% \pm 5\%$  y un fotoperiodo de 16:8 h luz:oscuridad. Los pulgones de *M. euphorbiae* utilizados en el experimento fueron suministrados por el laboratorio del Departamento de Protección Vegetal del Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC)

## 2.2 Bioensayo de elección entre larvas no infectadas e infectadas de *S. exigua* con SeMNPV 3 d.p.i.

El bioensayo de elección se realizó con 48 repeticiones, cada una con una larva no infectada e infectada de *S. exigua* con el baculovirus SeMNPV y una larva de *C. carnea*. Las larvas L2 infectadas (<24 h desde la muda) se inocularon con la  $CL_{95}$  de SeMNPV. La inoculación se realizó mediante la técnica de ingestión utilizada por Hughes y Wood (Fig. 1), dichas larvas fueron privadas de alimentación las 24 h previas a la inoculación. Para el bioensayo, grupos de 45 larvas se alimentaron *ad libitum* durante 10 minutos con una gota basada en una solución de sacarosa al 15% (peso/volumen) a la que se agregaron 250  $\mu\text{l}$  de colorante azul alimenticio ProGel® como indicador, con la  $CL_{95}$  de SeMNPV a  $1,9 \times 10^5$  OBs/mL (Gutiérrez et al., 2020). Antes del bioensayo, las larvas de *S. exigua* se mantuvieron en ayuno durante 24 h. La evolución de la enfermedad se llevó a cabo en larvas de *S. exigua* y de 3 d.p.i. (días post-inoculación). Las larvas no infectadas de *S. exigua* nunca estuvieron en contacto con el virus. En este estudio experimental, se utilizó una placa de Petri de 100 x 15 mm como unidad de ensayo para evaluar la respuesta de *Chrysoperla carnea* (larva L3) frente a *Spodoptera exigua* (larvas no infectadas y larvas infectadas con baculovirus). El diseño experimental consistió en la impresión de hojas con cuatro formas circulares de tamaño similar a las placas de Petri, cada una dividida por una línea central, donde se asignaron las leyendas "LS" (Larvas "Sanas" no infectadas) y "LI" (Larvas Infectadas). Sobre cada área correspondiente se colocó una larva no infectada de *S. exigua* y una larva infectada con baculovirus (3 días post infección, d.p.i.). Posteriormente, se colocó una larva L3 de *C. carnea* en el centro de la placa, que había sido previamente mantenida en ayuno durante 24 horas para facilitar su elección. El experimento fue monitoreado por tres observadores, quienes verificaron simultáneamente cuatro placas de Petri. Las observaciones se realizaron en intervalos de 30 minutos para evaluar la respuesta de las larvas de *C. carnea*. Si no se obtenía una respuesta durante el tiempo estipulado, se registraba como "sin respuesta". Este enfoque experimental permitió estudiar las preferencias de *C. carnea* en la elección entre larvas no infectadas e infectadas de *S. exigua*. Las variables evaluadas fueron la elección de *C. carnea*, el tiempo del primer ataque y el tiempo total de alimentación, el cual se contabilizó hasta que la larva de *C. carnea* liberó el

tegumento de la larva de *S. exigua* de sus mandíbulas o cuando se observó que la larva de *S. exigua* quedaba totalmente consumida excepto el tegumento.

### Figura 1

Larva de *Spodoptera exigua* con coloración azul debido a la técnica de ingestión utilizada por Hughes y Wood (1981).



### 2.3. Bioensayo de elección con presa alternativa

Se realizaron 40 repeticiones para la elección de *C. carnea* entre larvas de *S. exigua* infectadas con el baculovirus SeMNPV 3 d.p.i. que fueron inoculadas con la CL<sub>95</sub> y el adulto del pulgón *M. euphorbiae*. Paralelamente a ese ensayo se realizaron 46 repeticiones de elección de cada larva de *C. carnea* entre larvas de *S. exigua* no infectadas y un adulto de *M. euphorbiae*. En ambos casos, las larvas fueron inoculadas con la técnica de ingestión de gota descrita y también se mantuvieron sin alimentos durante 24 horas previas a la inoculación. En este caso, las variables que se tomaron en cuenta fueron la elección por parte del depredador y el tiempo del primer ataque sin tenerse en cuenta el tiempo de alimentación debido a que se considera no tener importancia por ser diferentes en tamaño la larva de *S. exigua* y el adulto de *M. euphorbiae*.

### 2.4. Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos de la elección se analizaron mediante una prueba de  $\chi^2$  y los resultados del tiempo de primer ataque y tiempo de alimentación se analizaron mediante un ANOVA con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVIII versión 18.1.06 (Statpoint Technologies Inc. Warrenton, Virginia, US).

## 3. Resultados y Discusión

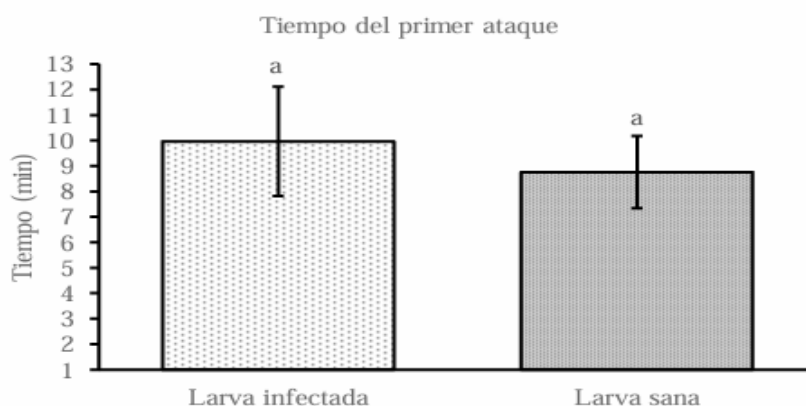
### 3.1. Bioensayo de elección entre larvas no infectadas e infectadas de *S. exigua* por parte de larvas L3 de *C. carnea*

Los resultados obtenidos indican que las larvas de *C. carnea* son capaces de atacar larvas no infectadas e infectadas de *S. exigua*. De acuerdo con las observaciones de 30 min, del bioensayo de elección realizado con *C. carnea* y larvas de *S. exigua* no infectadas e infectadas con la CL<sub>95</sub> de SeMNPV con 3 d.p.i. como presa, no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos para la elección ( $\chi^2 = 0,758$ ;  $df = 1$ ;  $P = 0,95$ ). Así, 22 ataques fueron contra larvas no infectadas,

mientras que, para las larvas infectadas, se registraron 20 ataques respectivamente. Para el tiempo del primer ataque no se registraron diferencias significativas ( $F = 0,23$ ;  $df = 1$ ;  $40$ ,  $P = 0,6358$ ), entre el tiempo del primer ataque hacia larvas no infectadas que fue de 8,75 min y las larvas infectadas con 9,96 min, respectivamente (Fig. 2). Los histogramas se basan en observaciones (repeticiones) de 30 minutos de 42 ataques de *C. carnea*, que fueron las que tuvieron respuestas favorables en ataques a las larvas disponibles en el ensayo. Para el caso del tiempo de alimentación, no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $F = 3,15$ ;  $df = 1$ ;  $40$ ,  $P = 0,0834$ ), con un tiempo de alimentación de 13,76 min para larvas no infectadas y 9,91 min para larvas infectadas, respectivamente.

### Figura 2

Tiempo de primer ataque para larvas infectadas con  $CL_{95}$  de SeMNPV 3 dpi y no infectadas de *S. exigua* a partir del bioensayo de elección realizado con *C. carnea*.



Lo que nos indican los resultados obtenidos es que la larva de *C. carnea* no es capaz de discriminar una larva infectada de una no infectada por el baculovirus, sino que ataca a la presa que atrapa de casualidad y sin oponer demasiada resistencia, aunque en algunos casos no atacó a ninguna larva independientemente a fueran las infectadas o no infectadas.

El depredador generalista *C. carnea* presenta una gran variedad de presas y se puede encontrar en sistemas agrícolas contribuyendo a la regulación de la población de algunas plagas (Tauber et al., 2000; McEwen et al., 2001), motivo por el cual fue seleccionado como organismo no objetivo en esta investigación. Es también un depredador muy utilizado debido a su fácil reproducción en condiciones de laboratorio además de su disponibilidad comercial muy amplia (Wang y Nordlund, 1994; Daane et al., 1998). Otra razón de suma importancia es debido a que la utilización de baculovirus para control biológico de plagas representa una alternativa sostenible utilizada en gran parte del mundo (Slavicek, 2012; Clem y Passarelli, 2013; Song et al., 2016). Las larvas de *S. exigua* infectadas que se ofrecieron a las larvas L3 de *C. carnea* presentaban un alto nivel de infección, debido a que se intentó simular un escenario de condiciones a campo, en el cual, *C. carnea* podría atacar y alimentarse exclusivamente de larvas infectadas, una vez que se hubiera llevado a cabo la aplicación inundativa de estos baculovirus, y por su parte, las larvas no infectadas que se ofrecieron a las larvas de *C. carnea* no tuvieron contacto alguno con los baculovirus hasta el



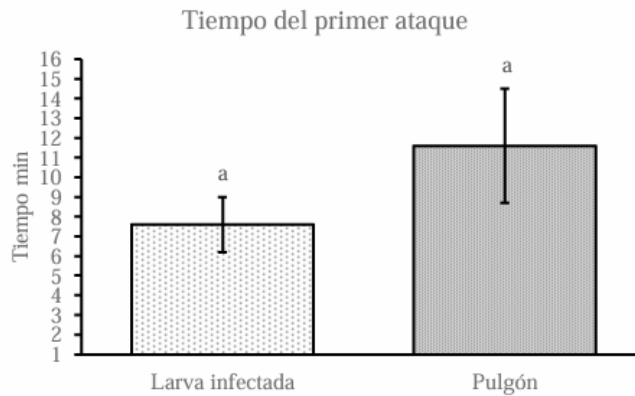
momento de la realización del ensayo. Las larvas que fueron previamente alimentadas con CL<sub>95</sub> de SeMNPV y 3 d.p.i, permanecieron con vida hasta la realización del ensayo, aunque era posible detectar efectos propios de la infección por baculovirus, como son la inhibición del desarrollo larvario (Han et al., 2015) palidez, movimientos deambulatorios y pérdida del apetito, siendo estos síntomas típicos derivados de la infección por baculovirus (van Houte et al., 2012; Han et al., 2015). En las pruebas de elección, se demostró que las larvas de *C. carnea* no mostraron preferencia alguna por larvas no infectadas o infectadas de *S. exigua*, que coinciden con los resultados obtenidos por Boughton et al. (2003), quienes determinaron la elección de *C. carnea* en presas no infectadas o infectadas con dos cepas de baculovirus, una de las cuales fue obtenida de campo y la otra fue genéticamente modificada (AcMLF9 y AcMNPV C6), 29 respectivamente, sin tener preferencia por ninguna de las presas. Esto es debido al comportamiento depredador de las larvas de *C. carnea*, que consiste en la constante búsqueda de presas cuando están hambrientas. En estas condiciones, la búsqueda va en aumento a medida que aumenta la inanición (Sengonca et al., 1995), y el descubrimiento de estas posibles presas ocurre al azar, indistintamente de si la presa está sana o infectada, aunque puede estar ligeramente estimulada por compuestos dulces de insectos chupadores, savia o escamas de lepidópteros, siempre y cuando estemos hablando de una distancia reducida. Todas esas razones condicionan la identificación de la presa por contacto o la antena, seguido por la exploración de las mandíbulas hasta lograr un reconocimiento químico positivo (Canard, 2001). Estos resultados en cambio no coinciden con los resultados obtenidos por Clemente-Pérez et al., 2018, en donde encontraron que las larvas de *C. carnea* tuvieron una cierta preferencia hacia las larvas infectadas con el baculovirus de *Anticarsia gemmatalis*. Sus bioensayos fueron realizados con el Nucleopoliedrovirus de *A. gemmatalis* con 24 horas post-inoculación (p.i.), 48 horas p.i. y 72 horas p.i., sin preferencia en el ensayo de 24 horas p.i., y en los dos restantes con una cierta preferencia por las larvas infectadas. Los autores no dan ninguna explicación razonable de los resultados de su experimento. Estos resultados difieren también de los obtenidos por Castillejos et al. (2001), los cuales mencionan que las larvas de *Chrysoperla rufilabris* Burmeister (Neuroptera: Chrysopidae) tuvieron preferencia por atacar a larvas no infectadas de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) probablemente porque las larvas no infectadas eran más vigorosas, por tanto, más evidentes para el depredador en comparación con las infectadas con el baculovirus.

### 3.2. Bioensayo de elección entre larvas infectadas de *S. exigua* y *M. euphorbiae*

Los resultados indican que las larvas de *C. carnea* son capaces de atacar larvas infectadas de *S. exigua* y adultos ápteros de pulgón. En base a las observaciones realizadas de 30 minutos en el bioensayo de elección, realizado de la misma manera con larvas L3 de *C. carnea* y con larvas de *S. exigua* infectadas con la CL<sub>95</sub> de SeMNPV con 3 d.p.i. y adultos ápteros *M. euphorbiae*, mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, registrándose 33 ataques hacia *S. exigua* infectada y 7 hacia el pulgón ( $\chi^2 = 9,448$ ;  $df = 1$ ;  $P = 0,0021$ ). En el caso del tiempo de primer ataque, no se reportaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados ( $F = 1,44$ ;  $df = 1$ ;  $38$ ,  $P = 0,2381$ ), con un tiempo de primer ataque de 7,6 min para larvas infectadas, mientras que, para el caso de *M. euphorbiae*, el tiempo de primer ataque fue de 11,6 min (Fig. 3).

**Figura 3**

Tiempo del primer ataque entre larvas L3 de *C. carnea* hacia larvas de *S. exigua* infectadas con la CL<sub>95</sub> de SeMNNPV 3 d.p.i. y adultos de *M. euphorbiae*

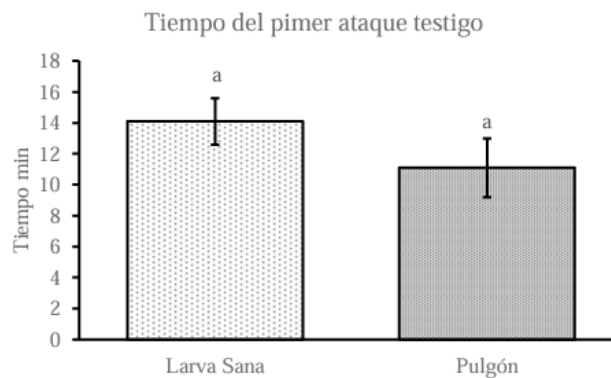


### 3.3. Bioensayo de Elección entre larvas no infectadas de *S. exigua* y *M. euphorbiae*

Los resultados indican que las larvas de *C. carnea* son capaces de atacar larvas no infectadas de *S. exigua* y adultos ápteros de pulgón. Según las observaciones realizadas de 30 minutos en el bioensayo de elección, realizado con larvas L3 de *C. carnea* y larvas de *S. exigua* no infectadas y adultos ápteros *M. euphorbiae*, mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, dando como registro de ataques 34 para *S. exigua* no infectada y 12 para el pulgón ( $\chi^2 = 5,580$ ;  $df = 1$ ;  $P = 0,0182$ ). En el caso del tiempo de primer ataque, no se reportaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados ( $F = 1,02$ ;  $df = 1$ ;  $45$ ,  $P = 0,3171$ ), con un tiempo de primer ataque de 14,1 min para larvas no infectadas, mientras que, para el caso de *M. euphorbiae*, el tiempo de primer ataque fue de 11,1 min (Fig. 4).

**Figura 4**

Tiempo del primer ataque de larvas L3 de *C. carnea* hacia larvas de *S. exigua* no infectadas y adultos de *M. euphorbiae*



En este bioensayo de elección de las larvas L3 de *C. carnea* entre larvas de *S. exigua* infectada con SeMNPV 3 d.p.i. y no infectadas con pulgones, los resultados de este trabajo indican que hay diferencias significativas en la preferencia de presa, en este caso, a favor de las larvas de *S. exigua*. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Huang y Enkegaard (2010), donde las larvas L3 de *C. carnea* mostraron preferencia de ataque 30 hacia las larvas no infectadas de *Pieris brassicae* Linnaeus (Lepidoptera: Pieridae) sobre el pulgón *Brevicoryne brassicae* Linnaeus (Hemiptera: Aphididae). Aunque estudios anteriores parecen mostrar que las larvas de lepidópteros no tienen tan buenas características nutricionales para las crisopas como los pulgones, el trabajo de Huang y Enkegaard (2010), como el de otros autores, demuestra que las larvas de *P. brassicae* y sus huevos son ambos de buena calidad para el desarrollo larvario. En nuestro trabajo, los resultados obtenidos se explican por una mayor movilidad del pulgón en relación a la otra presa, ya estuviera ésta infectada o no.

#### 4. Conclusiones

Las larvas L3 de *C. carnea* no son capaces de discriminar entre el consumo de larvas no infectadas o infectadas de *S. exigua* con el baculovirus SeMNPV con 3 d.p.i. En nuestro estudio se demostró que *C. carnea* presentó preferencia clara hacia larvas de *S. exigua* en comparación con adultos de *M. euphorbiae*, debido a las características biológicas del pulgón que dificultan su captura. Finalmente, estos resultados son importantes en la evaluación de las posibles sinergias del uso de enemigos naturales de plagas (depredadores) y agentes de control microbiológico dentro de un programa de Gestión Integrada de Plagas.

#### 5. Agradecimientos

Agradecemos a todos los profesores, técnicos y compañeros del laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad Politécnica de Madrid durante la realización de toda la investigación.

#### 6. Financiamiento

Esta investigación se realizó durante la realización del Trabajo Fin de Máster de Fernando Ariel Morel Monges durante la beca otorgada por el Ministerio de Hacienda mediante el programa de Becas de Postgrado en el Exterior Don Carlos Antonio López.

#### 7. Aspectos éticos

Los autores declaran que, debido a la naturaleza de este estudio, el cual se basa en análisis de gabinete y no involucra la participación directa de sujetos humanos, animales u otros aspectos éticamente sensibles, no aplican aspectos éticos en el proceso de investigación.

#### 8. Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés que pueda influir en la objetividad o imparcialidad de los resultados presentados en este artículo.

#### 9. Referencias

Andorno, A.V., Botto, E.N., La Rossa, F.R. y Möhle, R. 2014. Control biológico de áfidos por métodos conservativos en cultivos hortícolas y aromáticas. Ediciones INTA. Argentina. 48 pp.



- Beas-Catena, A., Sánchez-Mirón, A., García-Camacho, F., Contreras-Gómez, A., Molina-Grima, E. 2014. Baculovirus biopesticides: an overview. JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences, 24(2).
- Belda, J.E. 1994. Biología, ecología y control de *Spodoptera exigua* en cultivo de pimiento en invernadero. PhD Thesis. Universidad de Almería, Almería, España.
- Boogaard, B., Van Oers, M.M., Van Lent, J.W. 2018. An advanced view on baculovirus per os infectivity factors. *Insects*, 9(3): 84.
- Boughton, A.J., Obrycki, J.J., Bonning, B.C. 2003. Effects of a protease-expressing recombinant baculovirus on nontarget insect predators of *Heliothis virescens*. *Biological Control*, 28(1): 101-110.
- Canard, M. 2001. Natural food and feeding habits of lacewings pp. 116-130. In: McEwen, P., New, T., Whittington, A. (Eds.). *Lacewings in the crop environment*. Cambridge University Press. Cambridge, U.K. 564 pp.
- Cañedo, V., Alfaro, A., Kroschel, J. 2011. Manejo integrado de plagas de insectos en hortalizas. Principios y referencias técnicas para la Sierra Central de Perú. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. 48 pp.
- Capinera, J.L. 2008. Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). In: Capinera, J.L. (Ed.), *Encyclopedia of Entomology*. Springer Netherlands, Dordrecht, Netherlands, pp. 434-437.
- Castillejos, V., García, L., Ciseneros, J., Goulson, D., Cave, R., Caballero, P., Williams, T. 2001. The potential of *Chrysoperla rufilabris* and *Doru taeniatum* as agents for dispersal of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus in maize. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 98: 353–359.
- Centre for Agricultural Bioscience International (CABI). 2019. *Invasive Species Compendium*. *Chrysoperla carnea* (Aphid Lion). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/13194>.
- Clem, R.J., Passarelli, A.L. 2013. Baculoviruses: Sophisticated pathogens of insects. *PLoS Pathogens*, 9: e1003729.
- Clemente-Perez, G., Arcos-Cavazos, G., González-Gaona, O.J., Pérez-Arriaga, E., Flores-Gracia, J., Azuara-Domínguez, A. 2018. Preferencia de *Chrysoperla carnea* Stephens por larvas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner sanas e infectadas con el nucleopoliedrovirus de *A. gemmatalis* (AgNPV). *Southwestern Entomologist*, 43(4): 1021-1028.
- Cuadrado, C.R. 2023. Guía de gestión integrada de plagas. Curcubitáceas. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General Técnica. Centro de Publicaciones. <https://cpage.mpr.gob.es/>. 98-102 pp.
- Daane, K.M., Hagen, K.S., Mills, N.J. 1998. Predaceous insects for insect and mite control, pp. 61-115. In: Ridgway, R.L., Hoffmann, M.P., Inscoc, M.N., Glenister, C.S. (Eds.), *Mass-reared natural enemies: application, regulation, and needs*. Thomas Say Publications in Entomology. Entomological Society of America, Lanham, MD.

- Gutiérrez-Cárdenas, O.G., Adán, Á., Beperet, I., Medina, P., Caballero, P., Garzón, A. 2020. The role of *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neuroptera: Chrysopidae) as a potential dispersive agent of noctuid baculoviruses. *Insects*, 11, 760.
- Han, Y., van Houte, S., Drees, G.F., van Oers, M.M., Ros, V.I. 2015. Parasitic manipulation of host behaviour: Baculovirus SeMNPV EGT facilitates tree-top disease in *Spodoptera exigua* larvae by extending the time to death. *Insects*, 6: 716-731.
- Huang, N., Enkegaard, A. 2010. Capacidad de depredación y preferencia de presa de *Chrysoperla carnea* en *Pieris brassicae*. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9254-5>.
- Hughes, P.R., Wood, H.A. 1981. A synchronous peroral technique for the bioassay of insect viruses. *Journal of Invertebrate Pathology*, 37: 154-159.
- Martín-Gil, A., Alcázar-Alba, M.D. 2021. Guía de gestión integrada de plagas. Solanáceas Berenjena, Pimiento y Tomate. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General Técnica. Centro de Publicaciones. <https://cpage.mpr.gob.es/>. 242 pp.
- McEwen, P.K., New, T.R.R., Whittington, A. 2001. Lacewing in the crop management. Cambridge University Press.
- Medina, P., Smagghe, G., Budia, F., Tirry, L., Viñuela, E. 2003. Toxicity and absorption of azadirachtin, diflubenzuron, pyriproxyfen, and tebufenozide after direct spray in predatory larvae of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ Entomol*, 32: 196–203.
- Moscardi, F., Souza, M.L., Castro, M.E.B., Moscardi, M., Szewczyk, B. 2011. Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. In: Ahmad, I., Ahmad, F., Pichtel, J. (Eds.), *Microbes and Microbial Technology*. Springer, New York, USA, pp. 415-445.
- Rohrmann, G.F. 2019. Baculovirus molecular biology.
- Sengonca, C., Kotikal, Y.K., Schade, M. 1995. Olfactory reactions of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Col.: Coccinellidae) and *Chrysopa perla* (Stephens) (Neur.: Chrysopidae) in relation to period of starvation. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 68(1): 9-12.
- Slavicek, J.M. 2012. Baculovirus enhancers and their role in viral pathogenicity. *Molecular Virology*, 147-168.
- Song, J., Wang, X., Hou, D., Huang, H., Liu, X., Deng, F., Wang, H., Arif, B.M., Hu, Z., Wang, M. 2016. The host specificities of baculovirus per os infectivity factors. *PLoS One*, 11: e0159862.
- Statgraphics Centurion XVIII, 2018. Statgraphics Centurion XVI User's Manual. Statpoint Technologies Inc., Warrenton, Virginia, USA.
- Tauber, M.J., Tauber, C.A., Daane, K.M., Hagen, K.S. 2000. Commercialization of predators: recent lessons from green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae: *Chrysoperla*). *American Entomologist*, 46: 26-38.
- van Houte, S., Ros, V.I., Mastenbroek, T.G., Vendrig, N.J., Hoover, K., Spitzen, J., van Oers, M.M. 2012. Protein tyrosine phosphatase-induced hyperactivity is a conserved strategy of a subset of baculoviruses to manipulate lepidopteran host behavior. *PLoS Pathog*, 8: e1002669.

Williams, T., Joffe, D. 2009. Viruses as biological control agents for insect pests in tropical environments: A review. *Biological Control*, 49: 194-199.

Winkler, M., Streitenberger, S., Balzer, T., Wilke, D., Miller, T. 2010. Integrated pest management with *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) in vineyards in Germany. *Journal of Pest Science*, 83(2): 153-161.