



Uso y producción de Virus de la Poliedrosis Nuclear en Nicaragua¹

Carmen Marina Rizo Z.²
Cony Narváez S.²

Introducción

Los estudios sobre virus que atacan a los artrópodos son muy importantes porque existen más de 700 virus que tienen la capacidad para infectar especies de insectos de varios órdenes (Lecuona 1995). Muchas de estas enfermedades ocurren naturalmente en insectos de importancia agrícola. Por tanto, los virus son agentes promisorios para ser utilizados como insecticidas biológicos en programas de control (Evans y Entwistle 1987).

Los virus entomopatógenos utilizados para el control de plagas pertenecen a la familia Baculoviridae. Esta familia es la más estudiada hasta el momento, por reunir excelentes características, seguridad para la salud humana y por su especificidad para invertebrados.

El primer insecticida viral comercializado en los EEUU se desarrolló en 1961, con el virus de *Heliothis* spp., siendo utilizado principalmente en algodón, y en otros cultivos como soya, maíz, sorgo y tomate (Ignoffo y Couch 1981, Lecuona 1995). En Guatemala, se ha utilizado el virus aislado de *Autografa californica* y *Spodoptera sunia*, para el control de *Spodoptera exigua* y *S. sunia*, respectivamente. En Brasil, EMBRAPA produce desde 1979 el virus aislado de *Anticarsia gemmatalis*, para el control de *A. gemmatalis* en soya. También se produce el virus aislado de *SfVPN* para el control del cogollero, *Spodoptera frugiperda* en maíz. (Moscardi 1989, Alves 1986, Lecuona 1995, Valicente y Cruz 1991). Uno de los virus más utilizados para el control de plagas es el *Virus de la poliedrosis nuclear* (VPN).

Virus entomopatógenos

Los virus entomopatógenos son microorganismos que producen enfermedades infecciosas que se multiplican en los tejidos de los insectos hasta, eventualmente, ocasionar su muerte. Son parásitos intracelulares obligados, pues no pueden reproducirse fuera de la célula huésped, ya que necesitan un organismo vivo para su multiplicación y diseminación (Alves 1986, Evans y Entwistle 1987).

En el ambiente pueden estar presentes naturalmente, enfermando a pocos insectos (en forma enzootica). Utilizándolos como insecticidas virales pueden ocasionar la muerte de grandes poblaciones de plagas de importancia económica.

Estructura de un virus entomopatógeno

Estos microorganismos están compuestos internamente por una capa de proteína llamada **cápside**, que rodea o protege el ácido nucleico, que representa la porción biológica del virus, pudiendo presentar ADN o ARN. A este conjunto se le denomina **nucleocápside**.

Estas nucleocápsides pueden estar solas o en grupos de una envoltura lipo-proteica, construida a partir del material celular del insecto parasitado.

Al conjunto de nucleocápside más la envoltura se le denomina **virión o partícula viral**. Esta constituye la unidad infectiva del virus (Fig. 1). Los viriones están envueltos por una matriz proteica formando el cuerpo de inclusión poliedral (CIP) (Evans y Entwistle 1987, Payne y Kelly 1981).

¹ Presentado en el Curso sobre Formulación y Control de Calidad de Productos No-Sintéticos, auspiciado por el Proyecto Fomento de Productos Fitosanitarios No Sintéticos de CATIE/GTZ, Nicaragua 2001.

² Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua. cip@unaleon-edu.ni

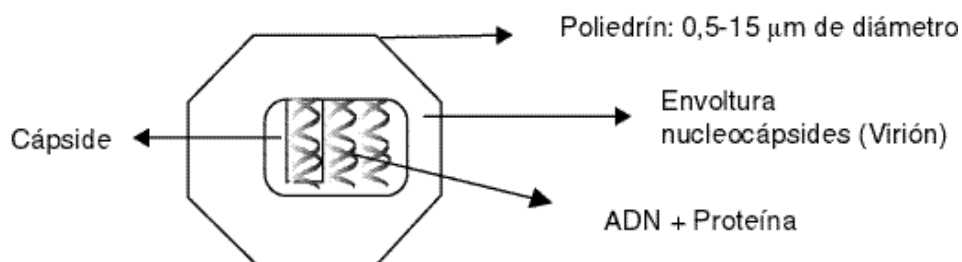


Figura. 1. Cuerpo de inclusión poliedral. Adaptado de Payne y Kelly (1981).

Clasificación de los virus

Basados en estudios morfológicos, bioquímicos y biofísicos los virus de insectos han sido agrupados en diversas familias. Evans y Entwistle (1987) y Alves (1986) han informado sobre 14 familias de virus de invertebrados, cinco de ellas de virus ADN y las nueve restantes de ARN (Cuadro 1).

Modo de acción

Los virus contaminan a los insectos por vía oral. Normalmente, éstos son ingeridos con los alimentos presentes en los tallos y hojas. La contaminación a través de los huevos de los insectos es posible vía interna y externa por contaminación del corium, la cual es más frecuente. La contaminación de larvas recién nacidas es facilitada por el hábito de comer el corium de los huevos (Alves 1986).

Leucona (1995) y Evans y Entwistle (1987) indican que la ruta primaria de ingreso del virus al hospedante es la vía del tracto alimenticio, durante el curso de la alimentación, especialmente para las larvas y los adultos. Después de la ingestión el alimento se mueve directamente al intestino externo, dándose los siguientes pasos:

- En el intestino se disuelve la proteína (poliedro en el medio alcalino ($\text{pH} < 7,5$))
- Se libera la partícula viral o virión
- La partícula viral se fusiona con la membrana de la célula del intestino
- Penetran los nucleocápsides a las células
- En las células se transporta al núcleo
- Se desprende la cápside y se libera el ADN
- El ADN, es la plantilla para replicar el ADN (genoma viral)
- El virus toma el control de los mecanismos para la producción de macromoléculas celulares (polipéptidos y ácidos nucleicos) y los utiliza para producción de nuevas partículas virales.

- Progenie se libera en el hemocelo y pasa de una célula a otra.
- El insecto se convierte en un saco de virus
- Muerte del insecto con la consiguiente rotura del integumento
- Liberación y dispersión.

Estos mismos autores señalan que los principales tejidos atacados son tejido adiposo, epidérmico, matriz traqueal, glándulas salivares, tubos de Malpighy y células sanguíneas.

Sintomatología

Los síntomas aparecen después del tercer o cuarto día de infección de las larvas. Primero se observan manchas en el integumento y la piel, con un tono amarillento y apariencia oleosa, luego la larva reduce su movilidad, dejan de alimentarse y suben a la parte alta de la planta, después se cuelgan de las hojas de las patas traseras y posteriormente se vuelven oscuras debido a la desintegración de los tejidos internos hasta la rotura del integumento.

Dispersión

Los cadáveres de las larvas muertas representan una fuente de inóculo para otras larvas susceptibles presentes en un cultivo. También al avanzar el ciclo de cultivo, tanto el agua de lluvia, como las larvas caídas al suelo, transportan las partículas virales hasta el suelo, donde permanecen y serán el inóculo inicial para futuras infecciones.

La dispersión del inóculo ocurre por medio de factores abióticos y bióticos. Los factores abióticos más importantes son el viento, lluvia riego, laboreo, entre otros y los factores bióticos como parásitos, depredadores, adultos del hospedante, detritívoros y aves (Alves 1986).

Cuadro1. Clasificación y características de los virus entomopatógenos.

Familia	Género	Característica	Hospedante
Baculoviridae	A. Poliedrosis Nuclear (VPN)	ADN (d)	Solo afectan a invertebrados
	Gen. Baculovirus		Más segura para control biológico
Reoviridae	B. Granulosis (VG)	ARN (d)	Ocurre en L, D, Hymenopteros, Coleopteros
	Gen. Baculovirus		
	C. Virus Oryctes		
Poxviridae	Cipovirus	ADN (d)	Muchos miembros, poco impacto en población de insectos. Géneros que afectan vertebrados (incluye humanos)
	Gen. Virus Poliedrosis Citoplasmática		
Iridoviridae	Gen. Entomopoxivirus Sub gen. A, B, y C	ADN (d)	Géneros que afectan vertebrados
	Gen. Irodovirus		
Parvoviridae	Gen. Chlorividovirus	ADN (s)	Hay parvovirus en ratones, gansos, etc.
	Gen. Densovirus		
Picornaviridae	Virus Densonucleosus	ARN (s)	Presentan semejanzas con los virus de animales y plantas
	Gen enterovirus		
Rhabdoviridae	Aún no clasificados	ARN	Parecido al virus de la rabia, y al del mosaico de la papa
	Vesiculovirus		
Polydnviridae	Lisavirus	ARN (d)	Encontrados exclusivamente en Hymenopteras parasíticas.
	Ichnovirus		
Birnnaviridae	Bracovirus	ARN	Solo algunos miembros afectan a invertebrados
	Birnavirus		
Togaviridae	Alphavirus	ARN	Virus del dengue (mosquito solo es usado como hospedante intermedio.
Flaviviridae	Flavivirus	ARN	
Buyanviridae	Buniavirus	ARN	Varios artrópodos y vertebrados de sangre caliente
	Phlebovirus		
	Nairovirus		
Tetraviridae	Nudaurelia beta	ARN (s)	Patógeno en mamíferos
Nodaviridae	Nodavirus	ARN (s)	

d: doble

s: sencillo

Persistencia

La radiación solar y el fotoperíodo son muy importantes para preservar la actividad biológica de los virus, porque la luz ultravioleta mata las partículas virales (ADN).

En algunos casos, la temperatura del suelo es importante para la sobrevivencia del virus. La persistencia del virus en el ambiente se da por medio del follaje de las plantas y del suelo. También pueden persistir en el mismo hospedante (Enwistle y Evans 1985).

Aplicación de virus en el campo

Dosis recomendadas. La dosis varía de acuerdo al aislamiento viral utilizado. Por ejemplo, para el control

de *Spodoptera frugiperda*, se recomienda una dosis de 708 LE³/ha (Narváez 2000). Para el control de *Spodoptera sunia* y *S. exigua* la dosis recomendada es de 212 LE/ha (UNAM-León, datos sin publicar).

Alves (1986) recomienda que cuando las infestaciones de larvas son muy altas o hay larvas de diferentes instares es recomendable aplicar una dosis alta al inicio y después aplicar dosis más bajas según la densidad de la población, para mantener el inóculo en el campo.

El virus es más eficiente en larvas de los primeros instares, por tanto, si el programa de aplicaciones de virus inicia tarde es recomendable aplicar un insecticida sintético a una dosis más baja que la utilizada nor-

³ LE=larva equivalente que corresponde a 10⁹ cuerpos poliedrales de inclusión

malmente, para controlar las larvas más grandes (Moscardi 1989). Algunas investigaciones sugieren que puede actuar como un sinérgico (Enwistle y Evans 1985).

Preparación de la dosis. La UNAN ofrece el VPN en formulación líquida, la cual debe almacenarse a 4°C. Se recomienda preparar el virus antes de su aplicación y hacerlo bajo la sombra para evitar su inactivación por la acción de los rayos ultravioleta (Enwistle y Evans 1985).

El virus congelado debe ser mezclado con agua hasta que se disuelva completamente. El volumen de agua debe ser suficiente para realizar una buena cobertura en el cultivo. Se recomienda seguir las mismas recomendaciones para la aplicación de un insecticida sintético. El equipo debe mantenerse limpio y las boquillas funcionando. El éxito de la aplicación dependerá de que las gotas de la solución conteniendo el virus permanezcan sobre la superficie de las hojas, o si se aplica en maíz dentro del cogollo (Poveda y Saravia 1994).

En el caso del maíz, el virus puede también ser utilizado mezclado con aserrín o arena, en forma de cebo.

Método de aplicación. En las evaluaciones del VPN en soya, maíz y arroz se utilizó una microulva, Micron Sprayers Ltd.UK., la cual generaba una gota de aproximadamente 58µ de diámetro promedio de volumen. Poveda y Saravia (1994) en evaluaciones de la eficacia de otros tipos de equipo probaron bombas de motor y de presión, y no encontraron diferencias estadísticas significativas, lo cual demuestra que para la aspersión de este virus se puede utilizar cualquier equipo convencional utilizado para productos sintéticos o biológicos.

Lo más importante es que se garantice una buena cobertura, porque el virus manifiesta su actividad biológica en especímenes que ingieren las hojas contaminadas.

Recomendaciones para una buena aplicación. Cada uno de los virus controla solo una especie y no puede ser usado contra plagas de otros cultivos, o sea son altamente específicos. Se debe aplicar cuando la población de larvas de los primeros instares es mayor que la de los últimos instares.

Debido a que el virus no actúa de inmediato, la decisión de aplicar se debe tomar antes de que se alcance el nivel de daño económico.

Cómo determinar la eficacia de la aplicación. Si la aplicación fue eficaz, dos días después de ésta, las larvas mostrarán mayor lentitud, y tendrán una coloración pálida. Las larvas con las características mencionadas mostrarán una disminución del apetito, hasta dejar de comer.

Producción de VPN

Para producir VPN se necesita establecer la cría de las especies hospedantes, porque como se mencionó, son parásitos obligados. Estos virus también pueden reproducirse mediante cultivo de células, pero el costo de este proceso es mayor (Stockdale y Couch 1981).

1. Cría de los hospedantes

La infraestructura necesaria para la cría de hospedantes incluye:

Sala de producción de larvas. Las larvas del pie de cría son mantenidas en cubículos separados para cada especie, mantenidas a una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ y 14:10 de fotoperíodo.

Sala de oviposición. Los adultos, junto con los huevos, necesitan otra sala, la cual debe tener una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$. En este lugar también se realiza la transferencia de las larvas a las copas individuales para mantener el pie de cría.

Sala de elaboración de dietas. La preparación y esterilización de la dieta es realizada en una sala acondicionada para ello, que puede estar a temperatura ambiente.

Sala de lavado de material. Debe disponerse de un espacio para la limpieza y el lavado del material de reciclaje.

Cuarentena. Es necesario contar con una sala de cuarentena para tener el material traído del campo. Este material debe permanecer en ese lugar hasta completar dos generaciones, con el objetivo de eliminar contaminantes microbianos o parasitoides, antes de iniciar la cría.

Materiales

Entre los materiales más importantes para la cría de los hospedantes están:

Jaulas. Las jaulas utilizadas para los adultos son cilín-

dricas, con base de plástico negro. En ellas se introduce un cilindro de "plexiglass" transparente. Las jaulas tienen un tamaño de 23 cm de diámetro y 36 cm de largo y tienen capacidad para 50 parejas de mariposas. No obstante, Rizo *et al.* (1994) afirman que el diseño de las jaulas puede variar, dependiendo de las necesidades de producción.

Vasos y otros materiales. Se utilizan vasos de diferentes tamaños. Para larvas se recomiendan los de 5 ml y para la eclosión de huevos de 400 ml. Para pupas se utilizan cajas de plástico de 28 x 26 x 10 cm. Además se requieren pinzas para la manipulación de larvas. Otros materiales usados son tela de tul, papel filtro y papel normal.

Proceso general de crianza

Los adultos de los noctuidos son colocados en el interior de las jaulas para el acoplamiento y oviposición. Las hembras ovipositan sobre un papel colocado en el interior de las jaulas. El papel con los huevos es retirado y sustituido diariamente. Los huevos son desprendidos del papel, esterilizados, lavados y luego mediante un pincel son colocados en discos de papel filtro o en el papel que, se use en la jaula, ligeramente humedecido. Cuando éstos se secan, se transfieren a la parte interior de la tapa del vaso plástico, el cual contiene dieta artificial para las larvas, donde se desarrollan hasta el tercer instar (Rizo *et al.* 1994).

El 5% de esta producción se transfiere a vasos individuales para mantener el pie de cría de cada una de las especies. El pie de cría es revisado tres veces por semana para sacar las pupas, las cuales son colocadas en cajas plásticas, donde permanecen hasta la emergencia del adulto. Los adultos nuevos se trasladan cada día a las jaulas de oviposición para repetir el ciclo nuevamente.

Sanidad general y condiciones de cría

En un laboratorio de cría de insectos es necesario mantener condiciones de sanidad estrictas para controlar la contaminación del alimento con microorganismos, así como enfermedades en los insectos, lo cual puede impedir la producción.

La principal fuente de contaminación son los insectos mismos, los alimentos seleccionados o ingredientes de ellos (por ejemplo el germen de trigo viejo puede estar contaminado con bacterias), el edificio y el equipo empleado.

Rizo *et al.* (1994) señalan que la contaminación de los alimentos puede causar problemas de calidad de

los insectos. Las infestaciones por hongos pueden formar una capa superficial impenetrable, mientras que la contaminación por bacterias puede inhibir la alimentación, posiblemente por la producción de sustancias repelentes.

Higiene para eliminar y controlar la contaminación

El control de la contaminación es una actividad que debe ser parte de la rutina diaria del personal que conduce el insectario. Para la esterilización de insectos y superficies del laboratorio, se utilizan a menudo formalina e hipoclorito de sodio.

Rutinariamente se deben lavar los pisos, paredes, recodos y techos con las sustancias señaladas anteriormente, o bien es recomendable utilizar una luz UV bactericida (257 nm de radiación), la cual debe ser activada solamente en ausencia del personal.

Se debe tener mucho cuidado con los materiales que son utilizados, tales como pinzas, pinceles y agujas de disección, las cuales deben ser lavadas y esterilizadas, o bien desinfectadas con alcohol cada vez que se van a utilizar y deben mantenerse en una solución de cloro al 5%.

Los vasos utilizados pueden ser reciclados, pero después del lavado con agua y jabón se recomienda dejarlos 24 h en una solución de cloro al 5%. Después éstos deben enjuagarse con agua para quitar el excedente de cloro y cada vez que se utilizan deben desinfectarse con alcohol. Rizo *et al.* (1994) recomiendan que si se presentan problemas de contaminación es recomendable colocar los vasos en una cámara de luz ultravioleta por 20 min.

Para eliminar la contaminación general y transovarial en los insectos, se puede esterilizar con seguridad la superficie de algunos estadios, como se describió anteriormente para los huevos y pupas. Para el caso de infecciones internas se hace uso de productos que se incluyen en la dieta.

2. Producción de VPN

Infraestructura

Para la producción del VPN se requiere la siguiente infraestructura:

Sala de inoculación. En esta sala se preparan los recipientes utilizados con la dieta, para posteriormente aplicar la solución viral. También se colocan las larvas del instar adecuado para que ingieran el alimento al cual se agregó el virus.

Sala de incubación y cosecha. En esta área se colocan todos los recipientes que contienen larvas con alimen-

to combinado con VPN. También se procede a la cosecha del virus entre 3 y 5 días después de la inoculación.

Sala de almacenamiento. Esta sala contiene principalmente los congeladores necesarios para mantener el virus a -4 °C.

Sala de formulación. En ella se lleva a cabo la formulación del VPN, descrita a continuación:

Método de producción

La metodología de producción que se utiliza actualmente en el laboratorio de la UNAM, está basado en los resultados de evaluaciones sobre concentración de virus y sobre el instar larval más adecuado para obtener una larva equivalente con una producción de seis unidades virales (10^9 cuerpos poliedrales de inclusión (CIP) /LE).

Se coloca la dieta semilíquida sobre el recipiente utilizado para la producción, donde permanece hasta su solidificación; cuando está completamente fría se procede a inocular con una solución viral, luego se colocan las larvas. De tres a seis días después se procede a examinar las larvas que mueren por efecto del virus y se almacenan en recipientes de plástico, los cuales se le coloca la información necesaria (nombre del virus, número de LE, fecha de inoculación y de cosecha).

Cada larva equivalente producida en el laboratorio debe contener una concentración adecuada de CIP por ml de solución viral.

Formulación

Actualmente, el VPN es utilizado de forma cruda. Para obtener una solución viral las larvas equivalentes son maceradas en agua y filtradas con una tela de muselina, para evitar que las cápsulas cefálicas obstaculicen las boquillas de las bombas de aplicación. La solución filtrada está lista para mezclar en un volumen de agua suficiente para asperjar en el cultivo. Actualmente, se está trabajando en la formulación en polvo, la cual está en su etapa de evaluación.

Control de calidad

Dos de los criterios para determinar la calidad de un producto, son su seguridad, o sea su pureza (libre de agentes contaminantes) y la eficacia biológica del ingrediente activo. El control de calidad de la producción se realiza con el objetivo de efectuar correcciones de los problemas de pérdida de la actividad biológica del virus, originados por el proceso de formulación.

Este control involucra dos etapas, la primera en la producción de los hospedantes del virus y la segunda durante el proceso de multiplicación del virus en sus hospedantes.

Control de calidad en las crías de insectos

Existen diversas formas de evaluar la calidad de los insectos producidos en el laboratorio. Los aspectos más importantes para evaluar la calidad son: adaptabilidad, movilidad, acoplamiento, reproducción y colonización (Boller y Chambers 1977, citado por Parra 1986). La importancia de éstos es relativa y depende del objetivo de la cría; por ejemplo, cuando la cría se tiene para la producción de virus el componente más importante es la reproducción.

Sin embargo, para la cría, los aspectos de calidad se deben evaluar en las generaciones sucesivas y los parámetros son: características biológicas como la capacidad de oviposición, eclosión, peso de pupas y porcentaje de deformación de pupas y adultos. Es recomendable mantener altas poblaciones (más de 100 individuos) en el laboratorio, así como realizar cruces con material genético nuevo para evitar la endogamia (Joslyn 1984).

Determinación de la calidad del insecticida viral

Este proceso incluye varias etapas. La primera es contar con un patrón de referencia almacenada en condiciones óptimas. El segundo es determinar el número de cuerpos poliedrales de inclusión (CIP) de la formulación, a través de bioensayos. Como último paso se compara este con el patrón de referencia y, si es necesario, se hacen las correcciones requeridas (Sosa-Gómez y Moscardi 1996). Este proceso debe realizarse para cada lote de producción, el cual está determinado por la capacidad de producción de la empresa.

Literatura citada

- Alves, SB. 1986. Controle microbiano de insetos. Sao Paulo, Brasil, Editora Monole. 407 p.
- Evans, HF; Enwistle, P. 1987. Viral diseases. *In* Epizootiology of insect diseases. p. 257-315.
- Enwistle, PF; Evans, HF. 1985. Viral Control. *In* Comprehensive Insect Fisiology. Biochemistry and farmacology. Gilbert, LI; Kerkut Ed. Oxford, Pergamon Press. vol 12. p. 347.
- Ignoffo, CM; Couch, TL. 1981. The nucleopolyhedrosis virus of *Heliothis* species as a microbial insecticides. *In* Burges, HD. Ed. Microbial control of pests and plant diseases. London, Academic Press. p. 329-362.

- Joslyn, DJ. 1984. Maintenance of genetic variability in reared insects. *In* Advances and challenges in insect rearing. King, EG; Leppla, NC. Ed. USDA, Agricultural Research Service. p. 20-29.
- Lecuona, RE. 1995. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. 338 p.
- Moscardi, F. 1989. Use of viruses for pest control in Brasil: the case of the nuclear polyhedrosis virus of the Soybean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, vol. 84. Suppl. III. p. 51-56.
- Narvaez, C. 2000. Evaluación de la patogenicidad e infectividad del virus de la poliedrosis Nuclear (VPN) en *Spodoptera frugiperda* J. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis MSc. Nicaragua, UNAN-León.
- Parra, JRP. 1986. Criação de insectos para estudos com patógenos. *In* Controle microbiano de insetos. Alves, S. Ed. p. 348-373.
- Payne, CC; Kelly, DC. 1981 Identification of insect and mite viruses. *In* Burges, HD. Microbial control of pests and plant diseases. London, Academic Press. p. 61-91.
- Poveda, JY; Saravia, J. 1994. Prueba comparativa de métodos de aplicación de SfVVPV para el control de *Spodoptera frugiperda* en maíz. Tesis Lic. Nicaragua, UNAN-LEON.
- Rizo, C; Narváez, C; Castillo, P. 1994. Procedimiento para la crianza masiva de insectos noctuidos. Nicaragua, OEA-UNAN-LEON.
- Sosa Gómez, D; Moscardi, F. 1996. Producción de virus patógenos de ácaros e insecto. *In* Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Lecuona, R. Ed. p. 223-236.
- Stockdale, H; Couch, TL. 1981. Production of insects viruses in cell culture. *In* Burges, HD. Ed. Microbial control of pests and plant diseases. London, Academic Press. p. 313-328.
- Valicente, FH; Cruz, I. 1991. Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculoviridae. EMBRAPA. Circular técnica no. 15. 21 p.

SITIO WEB SOBRE PRODUCTOS FITOSANITARIOS NO SINTETICOS

El CATIE y la GTZ a través del proyecto **Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos** ha desarrollado un sitio Web con el propósito de ofrecer información actualizada sobre plaguicidas biológicos disponibles en América Central. Con esta información se pretende fomentar el uso de estos plaguicidas entre los productores agrícolas.

Este sitio incluye información sobre insecticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas y rodenticidas, producidos a partir de microorganismos o de extractos de plantas, disponibles en Costa Rica, Honduras y Nicaragua. También se puede obtener información sobre las empresas que producen y comercializan estos productos en los tres países citados. Además se ofrece información sobre los cursos de capacitación que ofrece el Proyecto.

Próximamente estará disponible una base de datos sobre legislación referente al uso de este tipo de productos así como de cultivos y plagas para los cuales estos cultivos han demostrado su eficacia.

Visite este sitio y obtenga información actualizada sobre el tema

<http://www.catie.ac.cr>

<http://www.biopesticidas.org>