



Characterization of a highly mexican virulent strain of baculovirus against fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Caracterización de una cepa mexicana de baculovirus altamente virulenta contra el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Alejandra C. Franco-Ramírez¹, Jonatan C. Rangel-Nuñez¹, Ma. de los Ángeles Bivián-Hernández¹, J. Refugio Lomelí-Flores², Ma. Cristina Del Rincón-Castro^{1*}

¹Departamento de Alimentos, Posgrado en Biociencias, División Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, 36500, Km. 9.0 Carr. Irapuato-León, Irapuato, Guanajuato, Mexico.

²Posgrado en Fitosanidad, Colegio de Posgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Mexico.

*Corresponding author

E-mail address: cdelrincon@ugto.mx (M.C. Del Rincón-Castro)

Article history:

Received: 21 September 2025 / Received in revised form: 22 November 2025 / Accepted: 20 December 2025 / Published online: 1 January 2026.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2026.11.1.1-20>

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda is the most important pest in corn production, causing economic losses. A new strain of baculovirus, isolated from the fall armyworm *S. frugiperda* in the State of Guanajuato, Mexico, called SfNPV-Gto, was characterized at both the biological and molecular levels. Restriction fragment patterns were generated, and a phylogenetic analysis was performed between the SfNPV-Gto strain and other SfNPV strains using the conserved genes *polh*, *lef-8*, and *lef-9*. This strain was located within the group of *Alphabaculoviruses* of *S. frugiperda*, located in the same clade as the Mexican native strains SfNPV-An1, SfNPV-An2, SfNPV-B, and the exotic strains SfNPV-Ho and SfNPV-Ar. No significant differences were observed at the structural proteins of the occlusion bodies (OB's) of the SfNPV strains studied. The lethal media concentration (LC₅₀) was determined at a value of 4.1x10³

OB's/mL, showing it to be highly virulent towards *S. frugiperda*. The SfNPV-Gto strain turned out to be a new strain never reported before, and due to its high level of virulence, it has high potential for controlling fall armyworms at the laboratory and field levels.

Key words: baculovirus, bioassays, corn, phylogeny, restriction fragments, *Spodoptera frugiperda*.

RESUMEN

Spodoptera frugiperda es la plaga de mayor importancia para la producción de maíz generando pérdidas cuantiosas. Se caracterizó a nivel biológico y molecular a una nueva cepa de baculovirus, SfNPV-Gto, aislada del gusano cogollero del maíz *S. frugiperda* en el estado de Guanajuato, México. Se caracterizó por patrones de fragmentos de restricción y se realizó un análisis filogenético con otras cepas similares, mediante el análisis de los genes conservados *polh*, *lef-8* y *lef-9*. Esta cepa se ubicó dentro del grupo de los *Alfabaculovirus* de *S. frugiperda*, en el mismo clado de las cepas nativas mexicanas SfNPV-An1, SfNPV-An2, cepa tipo SfNPV-B, y las cepas exóticas SfNPV-Ho y SfNPV-Ar. No se observaron diferencias significativas a nivel de las proteínas estructurales de los cuerpos de oclusión (CO) entre las cepas estudiadas. Se determinó la concentración letal media (CL_{50}) de la cepa SfNPV-Gto en 4.1×10^3 CO/mL, resultando ser altamente virulenta hacia *S. frugiperda*, hasta 40 veces más virulenta que otras cepas previamente estudiadas. La cepa SfNPV-Gto es una nueva cepa nunca reportada, con un alto nivel de virulencia, y posee un elevado potencial para utilizarse en el control del gusano cogollero del maíz a nivel de laboratorio y campo.

Palabras clave: baculovirus, bioensayos, filogenia, maíz, patrones de restricción, *Spodoptera frugiperda*.

1. Introducción

El maíz *Zea mays* (C.Linneus) (Poales:Poaceae), es una planta gramínea originaria del continente americano, particularmente de México, América Central y América del Sur, y es extensamente cultivada a lo largo de todo el mundo (Russo *et al.*, 2019). Este cultivo se ve afectado por factores que disminuyen su rendimiento, principalmente enfermedades e insectos plaga. Una de las plagas de mayor importancia para este cultivo es el gusano cogollero de maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), el cual ataca a la planta desde sus primeras etapas vegetativas y puede estar presente durante todo el ciclo agrícola (Hernández-Trejo *et al.*, 2018) y su control se basa principalmente en el uso de insecticidas químicos. En la actualidad se conoce que *S. frugiperda* ha desarrollado resistencia al grupo de insecticidas de los carbamatos y piretroides (Viera-Arroyo *et al.*, 2020). Aunado a esto, los insecticidas químicos son altamente tóxicos para los seres humanos, de ahí que es necesario buscar alternativas de control más amigables y menos dañinas tanto para el ser humano como para el medio ambiente, de ahí la importancia del uso de agentes de control biológico.

Dentro las estrategias de control biológico de plagas, se encuentra el control microbiano, basado en el uso de microorganismos patógenos hacia los insectos. Dentro de estos, se encuentra un grupo de virus entomopatógenos altamente virulentos y específicos hacia su insecto huésped, los baculovirus. Estos virus pertenecen a la familia Baculoviridae, poseen ADN de doble cadena, circular, superenrollado, el cual codifica entre 80 y 180 genes (Hussain *et al.*, 2021). Los baculovirus se clasifican en cuatro géneros, los *Alphabaculovirus* (Nucleopolyhedrovirus o NPV) que infectan a especies de insectos Lepidópteros, los *Betabaculovirus* (granulovirus o GV), que infectan también a especies de Lepidópteros, los *Gammabaculovirus*, NPV que infectan a especies de Himenópteros y los *Deltabaculovirus* los cuales son NPV que infectan a especies de Dípteros (Jehle *et al.*, 2006). Los baculovirus presentan sus viriones en forma de bastón (de ahí su nombre), ocluidos en una matriz proteica, formando los cuerpos de oclusión (CO), los cuales están constituidos por proteínas denominadas poliedrina o granulina, respectivamente (Eberle *et al.*, 2012; Hussain *et al.*, 2021). Estos CO protegen a las partículas virales y les confieren estabilidad hacia algunos factores bióticos y abióticos (Gutiérrez *et al.*, 2021). Estos virus causan una infección letal en los insectos hospederos, debido a su ciclo bifásico, en la primera etapa de la infección, los insectos ingieren los CO que están presentes en el alimento inoculado y los viriones derivados de la oclusión (VDO), son liberados de estos, hasta llegar al epitelio intestinal del insecto y tener una primera etapa de replicación viral, dependiente de la maquinaria metabólica de las células columnares del huésped. En la segunda etapa infecciosa, los viriones gemados (VG), producto de la primera infección, viajan vía la hemolinfa hacia los tejidos secundarios del insecto (epidermis, tejido graso, etc.), para en esas células, tener una segunda ronda de replicación viral donde los nuevos viriones se ocluirán *de novo* en CO's recién sintetizados (Lin *et al.*, 2024)

Por otro lado, los baculovirus aislados del gusano cogollero del maíz *S. frugiperda* tanto NPV como GV (SfMNPV y SfGV), se han utilizado exitosamente en el control de este insecto. Debido a ello, en América Latina países como México, Argentina, Brasil, Colombia, Honduras, Perú y Venezuela, ya han probado experimentalmente la utilidad de productos a base de estos baculovirus SfMNPV o SfGV, tanto en pruebas de laboratorio como en pruebas a nivel de campo, con resultados muy variables, reportándose algunos casos controles efectivos, y en otras ocasiones, resultados no muy efectivos. Una posible explicación a esta gran variabilidad podría ser que existe una amplia heterogeneidad en los aislamientos nativos de estos virus (Simón *et al.*, 2004; Barrera *et al.*, 2015) y esto dificulta su estandarización y aplicación a nivel de campo. No obstante, en Colombia ya se está desarrollando un producto comercial a base de un SfNPV por la empresa Agrosavia (antes CORPOICA). Este producto ya se ha evaluado experimentalmente a nivel de campo resultando ser tan efectivo como los insecticidas químicos probados (Gómez-Valderrama y Villamizar, 2013). Asimismo, en Brasil, una cepa nativa de un SfNPV se probó en 20,000 Ha de maíz por un año, pero debido al elevado costo de producción, el producto se descontinuó (Moscandi *et al.*, 2011). En México se han empleado diferentes formulados virales y se han hecho pruebas a nivel de laboratorio y campo (Martínez-Castillo *et al.*, 2021). Se han utilizado tanto cepas exóticas como nativas, resultando ser algunas de estas últimas, altamente virulentas contra la población de *S. frugiperda* (Rangel *et al.*, 2014; Zanella-Sáenz *et al.*, 2022), pero hasta la fecha, no se ha logrado implementar en este país el uso de baculovirus a nivel de campo contra esta plaga, ni existe producción industrial de los mismos.

En el presente trabajo se realizó la caracterización de una nueva cepa de baculovirus denominada SfNPV-Gto, la cual se aisló de larvas infectadas del gusano cogollero del maíz *S. frugiperda* en el estado de Guanajuato. Se obtuvieron patrones de fragmentos de restricción mediante su ADN, se establecieron las relaciones filogenéticas utilizando genes conservados de esta cepa (SfNPV-Gto) y de cepas previamente caracterizadas, se determinó el nivel de virulencia mediante el establecimiento de la concentración letal media o CL₅₀ y finalmente se analizaron y compararon las proteínas presentes en los CO. Lo anterior, con el objetivo de evaluar su identidad y el potencial bioinsecticida que esta cepa posee contra *S. frugiperda*, y así poder utilizarse como una alternativa al uso del control químico contra esta plaga.

2. Materiales y métodos

2.1. Cepas virales

Se utilizaron 3 cepas exóticas de baculovirus previamente caracterizadas, la cepa SfNPV-Ar, SfNPV-Fx y SfNPV-Ho (Rangel *et al.*, 2014). Asimismo, se utilizaron otras tres cepas nativas ya caracterizadas, tales como la cepa SfNPV-Sin y SfNPV-An2 (Zanella-Sáenz *et al.*, 2022), la cepa SfNPV-An1 (Ríos-Velasco *et al.*, 2011), así como la cepa nativa objeto de este estudio, denominada SfNPV-Gto, aislada en el estado de Guanajuato.

2.2. Establecimiento de la colonia de *S. frugiperda*

La colonia de *S. frugiperda* se mantuvo en el Laboratorio de Biotecnología Alimentaria y Vegetal de la Universidad de Guanajuato, bajo condiciones de insectario, con un 60% de humedad relativa, 26±2 °C y 16:8 h de luz: oscuridad, en una cámara ambiental (LUMISTELL) utilizando dieta artificial a base de maíz molido, según lo descrito por Rangel *et al.* (2014).

2.3. Amplificación de las cepas virales

La amplificación de las cepas virales SfNPV, se realizó por infección en superficie de dieta para *S. frugiperda*, utilizando una concentración de 1x10⁶ CO/mL y colocando 10 larvas de 3er estadio. Se infectaron un total de 50 larvas por cepa, 5 días después, éstas se recolectaron y se molieron en un mortero de porcelana estéril, con SDS al 0.5%, se filtró la mezcla usando una malla de organza y este se centrifugó a 13,000 rpm, a 4 °C durante 10 min, en una centrífuga Hermle, Z326K, el procedimiento se repitió 3 veces. La pastilla resultante se resuspendió en agua destilada estéril (ADE) y se almacenó a 4 °C (Rangel *et al.*, 2014).

2.4. Purificación de los cuerpos de oclusión

Los CO de las distintas cepas de virus SfNPV, se purificaron en gradientes continuos de sacarosa del 40-66% (peso/peso), se centrifugaron a 24,000 rpm por 1.5 h, utilizando una ultracentrífuga Beckman-Optima XPN-100. Se colectó la banda correspondiente a los CO, los restos de sacarosa se retiraron de los CO y estos se diluyeron en ADE, se centrifugaron

a 12,000 rpm por 10 min, repitiendo este proceso 3 veces, la pastilla se almacenó a 4 °C. Los CO se cuantificaron en una cámara de Neubauer, usando un microscopio AxioLabA1 (Zeiss) con objetivo 40x, obteniendo un promedio de 5 recuadros contados, y este se multiplicó por el factor de dilución de 2.5×10^5 para tener el número de CO/mL (Rangel *et al.*, 2014).

2.5. Extracción de ADN viral y patrones de fragmentos de restricción

Se tomaron CO purificados de las distintas cepas de SfNPV, a una concentración de 2×10^8 CO/mL y se resuspendieron en 100 µL de solución álcali (NaCo_3 0.1 M, NaCl 0.1 M, pH 11), se adicionaron 400 µL de amortiguador de proteinasa K (0.01 M Tris, 0.005 M EDTA, 0.5% SDS) y 20 µL de la proteinasa K (10 mg/mL), se incubaron a 60 °C por 30 min. Posteriormente se les colocaron 500 µL de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1), se mezcló por inversión y se centrifugó a 14,000 rpm por 10 min, se colectó la fase acuosa y el ADN se precipitó por centrifugación, con 500 µL de isopropanol por 10 min a 14,000 rpm. Posteriormente, se realizó un lavado con 1 mL de alcohol etílico, se centrifugó a 14,000 rpm por 5 minutos y la pastilla resultante se resuspendió en amortiguador Tris-EDTA (TE) (0.01 M Tris-HCl, 0.001 M EDTA, pH 7.9). Para los análisis de los patrones de fragmentos con enzimas de restricción (PFR), se utilizó 1 µg de ADN de cada cepa SfNPV y 10 U de 3 endonucleasas, *EcoRI*, *HindIII* y *BamHI*. Estas mezclas se incubaron por 2 h a 37 °C. La digestión se analizó por electroforesis en geles horizontales de agarosa al 0.8% a 25 V por 16 h. Los PFR se observaron mediante tinción con GelRed™ Nucleic Acids (Biotium), se visualizaron y fotografiaron bajo una lámpara UV con el fotodocumentador GelDoc EZ Imager (BioRad) (Jiménez-Hernández *et al.*, 2022)

2.6. Amplificación por PCR y análisis de secuencias de genes conservados

El ADN de la cepa de SfNPV-Gto se utilizó para amplificar por PCR los fragmentos de 3 genes conservados, *polh*, *lef-8* y *lef-9*, bajo las condiciones descritas por Lange *et al.* (2004) (Tabla 1). Los productos de los PCR fueron purificados utilizando el kit Invitrogen PureLink, siguiendo las recomendaciones del proveedor, y se enviaron a secuenciar en la empresa Macrogen, en Corea del Sur. Las secuencias obtenidas se ensamblaron y analizaron usando el software Seqman Pro v7.2.1. Finalmente utilizando el servidor BLASTp se tradujeron estas secuencias de nucleótidos y con el programa UGene v49.0 se obtuvieron los marcos de lectura abierta de dichos genes.

Tabla 1. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de los genes *polh/gran*, *lef-8* y *lef-9*, en el aislado SfNPV-Gto con actividad hacia *S. frugiperda*.

Table 1. Oligonucleotides used for the amplification of the *polh/gran*, *lef-8*, and *lef-9* genes in the SfNPV-Gto isolate with activity against *S. frugiperda*.

| Gen | Oligonucleótido | Secuencia | Amplicón (pb) |
|------------------|------------------|--|---------------|
| <i>polh/gran</i> | (directo) prPH-1 | 5'- TGAAAACGACGCCAGTNRCNGAR GAYCCNTT-3' | 540 |
| | (reverso) prPH-2 | 5'- CAGGAAACAGCTATGACCDGGNGCR AAYTCYTT-3 | |
| <i>lef-8</i> | (directo) prL8-1 | 5'- CAGGAAACAGCTATGACCCAYGGHG ARATGAC-3 | 702 |
| | (reverso) prL8-2 | 5'- CAGGAAACAGCTATGACCAYRTASGG RTCYTCSGC-3 | |
| <i>lef-9</i> | (directo) prL9-1 | 5'- CAGGAAACAGCTATGACCAARAAYGG ITAYGCBG-3 | 295 |
| | (reverso) prL9-2 | 5'- TGAAAACGACGCCAGTTGTCDC CRTCRCARTC-3 | |

2.7. Análisis filogenético

El análisis filogenético de la cepa SfNPV-Gto, se realizó alineando las secuencias de los genes *lef-8*, *lef-9* y *polh*, con 22 secuencias de nucleótidos disponibles en la plataforma GenBank, pertenecientes a las secuencias de los *Alphabaculovirus* reportados con actividad hacia *Spodoptera*, utilizando como grupo externo al *Betabaculovirus* SfGV-RV (MK501800, MK507905 y MK558040) (Zanella-Sáenz *et al.*, 2022). Los genes conservados se alinearon con el algoritmo ClustalW y se concatenaron en el programa Bioedit v7.2. El árbol filogenético se realizó usando el programa IQTREE v2.3.2 bajo la licencia de (GNU GPL) con el método de distancia de Neighbor-Joining y carácter de Máxima Verosimilitud, con la selección del mejor modelo K2P+G4 con una proporción de sitios invariables de 0.189, gama de 0.456, un valor de verosimilitud de -7649.634, y un valor de Bootstrap de 1,000. La topología del árbol se visualizó en el programa FigTree v1.4 bajo la licencia de (MEPE) y la edición se llevó a cabo en el programa Inkscape v1.3.

2.8. Patrones de proteínas

Para el análisis de proteínas de los CO en las cepas de SfNPV, estos se mezclaron con un amortiguador de lisis (8 M urea, 2 M tiourea, CHAPS 2%, 1 mM DTT y 1 mM PMSF), se cuantificó la proteína utilizando el kit BioRad Protein Asay, posteriormente se mezclaron 25

μ g de proteína con 4 μ L de solución de Bradfrod (2% SDS; 40% glicerol; 0.001% azul de bromofenol; 0.0625 M Tris-HCl; pH 8) y 0.5 μ L de β -mercaptoetanol por cada 10 μ L de la reacción total y se hirvió por 5 min. Una vez terminado lo anterior, se corrieron geles de SDS-PAGE al 11 y 14% a 110 V por 3 h. Los geles se tiñeron con solución de Azul de Coomasie G-250 (Azul brillante de Coomasie (G-250) 250 mg; metanol 45 mL; ácido acético glacial 9 mL; agua destilada 46 mL) por 15 min a temperatura ambiente con agitación constante y se colocaron en una solución para desteñir (ácido acético 75 mL, metanol 50 mL, agua destilada 875 mL), por 12 h. Los geles se fotografiaron con una lámpara de luz blanca en un sistema de fotodocumentación GelDoc EZ Imager (BioRad) Rangel *et al.*, 2014)

2.9. Bioensayos

La concentración letal media (CL_{50}) de la cepa SfNPV-Gto, se estimó de acuerdo con la metodología descrita por Rangel *et al.* (2014). Se probaron seis concentraciones de CO diluidas en agua destilada estéril del baculovirus SfNPV-Gto, partiendo de una dosis de 9.1×10^4 CO/mL, con un factor de dilución de 0.25. Para evaluar cada dosis, se usaron dos cajas Petri con 25 g de dieta artificial, en cada una se colocaron 500 μ L de la dosis probada esparciéndola sobre toda la superficie. Las cajas se dejaron secar a temperatura ambiente, posteriormente, se colocaron 10 larvas neonatas de *S. frugiperda* por caja y se incubaron bajo condiciones de insectario por siete días. Al término de este periodo, se evaluó la mortalidad y esta se analizó mediante un análisis estadístico en el programa Probit, tomando en consideración los parámetros establecidos por Ibarra y Federici (1987).

3. Resultados

3.1. Análisis de los patrones de fragmentos de restricción de las cepas SfNPV

Los resultados obtenidos a nivel de PFR de todas las cepas analizadas en este trabajo, se muestran en la Figura 1. Con la enzima de restricción *HindIII*, la cepa SfNPV-Gto (Fig. 1, carril 8), presentó un total de 14 bandas que oscilaban entre 2 y 12 kb, mientras que para la cepa SfNPV-An2 (Fig. 1, carril 7), se observó que el 80% de los fragmentos fueron diferentes a los de la cepa SfNPV-Gto. Posteriormente, para la cepa SfNPV-An1 (Fig. 1, carril 6), se pudo observar que su PFR fue idéntico al de la cepa SfNPV-Gto. Mientras que para la cepa SfNPV-Ho (Fig. 1, carril 4), se determinó que ésta presentaba un 20% de bandas diferentes, al compararse con aquellas de la cepa SfNPV-Gto. Al realizarse la comparación de los PFR con la cepa SfNPV-Ar (Fig. 1, carril 2), se obtuvo un patrón con bandas diferentes dentro de un orden del 60%, ya que esta cepa presentó bandas con un peso molecular de 1.4, 2.5, 3, 4.9, 5.9, 7.2, 7.9, 12 kb, las cuales estaban ausentes en la cepa SfNPV-Gto.

Por otro lado, los PFR que se obtuvieron con la enzima *BamHI*, mostraron que la cepa SfNPV-Gto (Fig. 1, carril 16) presentó 8 fragmentos que oscilaban entre las 3.8 y 12 kb, con tres fragmentos únicos de 12, 9 y 4.8 kb, que estaban ausentes en las demás cepas. Las mayores diferencias se encontraron con la cepa SfNPV-Ar, la cual mostró un perfil con un 90% de diferencias con respecto a la cepa SfNPV-Gto, observándose que posee siete

bandas únicas con un peso molecular que varió de 12, 11, 8, 4 y 3.2 kb (Fig. 1, carril 10). Por otro lado, la cepa SfNPV-Sin presentó siete fragmentos exclusivos de 12, 11, 8.2, 5, 4.5, 3.5 kb (Fig. 1, carril 13), ausentes en la cepa de estudio SfNPV-Gto (Fig. 1, carril 18). Cabe mencionar que en la cepa SfNPV-An1, se obtuvieron cinco fragmentos diferentes de aproximadamente 12, 11, 10, 7.5, 3.2 kb (Fig. 1, carril 14), ausentes en la cepa SfNPV-Gto. Cabe destacar que al realizar el análisis de restricción con la enzima *HindIII*, no se observó ninguna diferencia entre ambas cepas, de ahí la importancia de realizar estos estudios comparativos con más de una enzima de restricción.

Finalmente, cuando se obtuvieron los patrones de fragmentos de restricción con la enzima *EcoRI*, la cepa SfNPV-Gto, presentó un total de 19 bandas, resultando cuatro de ellas exclusivas de esta cepa, con pesos moleculares de 6.5, 4.8, 3 y 2.2 kb (Fig. 1, carril 24). Las cepas SfNPV-Ar y SfNPV-Sin, presentaron un 50% de bandas diferentes respecto a la cepa SfNPV-Gto (Fig. 1, carril 18 y carril 21), mientras que la cepa SfNPV-An1, mostró un PFR con un 40% de bandas distintas, presentando 7 fragmentos exclusivos de pesos moleculares de 12, 9, 6, 4, 2.8, 2.5 y 2 kb (Fig. 1, carril 22).

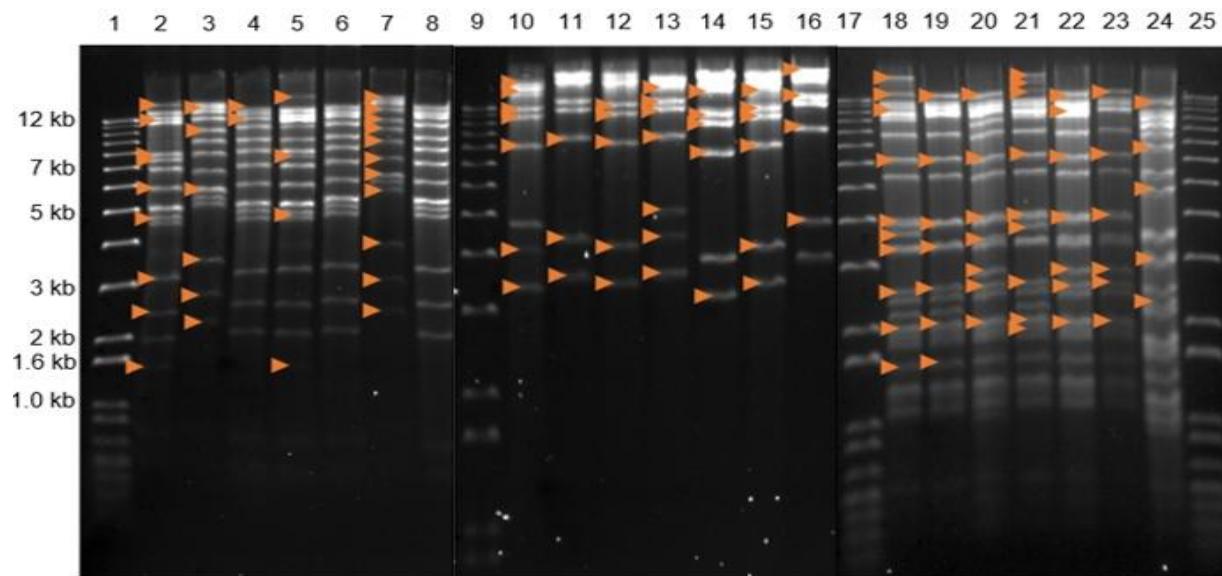


Fig. 1. Patrones de fragmentos de restricción de cepas SfNPV obtenidos con diferentes enzimas de restricción. Carril 1: 9,17, 25: marcador de peso molecular en kb, 1 kb Plus (Invitrogen). Patrones de fragmentos de restricción con la enzima *HindIII* (carriles 1 al 8), SfNPV-Ar (carril 2), SfNPV-Fx (carril 3), SfNPV-Ho (carril 4), SfNPV-Sin (carril 5), SfNPV-An1 (carril 6), SfNPV-An2 (carril 7), SfNPV-Gto (carril 8). Patrones de fragmentos de restricción con la enzima con *BamHI* (carriles 10 al 16). SfNPV-Ar (Carril 10), SfNPV-Fx (carril 11), SfNPV-Ho (carril 12), SfNPV-Sin (carril 13), SfNPV-An1 (carril 14), SfNPV-An2 (carril 15), SfNPV-Gto (carril 16). Patrones de fragmentos de restricción con la enzima *EcoRI* (carriles 18 al 24). SfNPV-Ar (carril 18), SfNPV-Fx (carril 19), SfNPV-Ho (carril 20), SfNPV-Sin (carril 21), SfNPV-An1 (carril 22), SfNPV-An2 (carril 23), SfNPV-Gto (carril 24).

Fig. 1. Restriction fragment patterns of SfNPV strains with different restriction enzymes. Lanes 1,9,17, 25: Ladder 1 kb Plus (Invitrogen). Restriction fragment patterns with HindIII (lanes 1 to 8). SfNPV-Ar (lane 2), SfNPV-Fx (lane 3), SfNPV-Ho (lane 4), SfNPV-Sin (lane 5), SfNPV-An1 (lane 6), SfNPV-An2 (lane 7), SfNPV-Gto (lane 8). Restriction fragment patterns with BamHI (lanes 10 to 16). SfNPV-Ar (lane 10), SfNPV-Fx (lane 11), SfNPV-Ho (lane 12), SfNPV-Sin (lane 13), SfNPV-An1 (lane 14), SfNPV-An2 (lane 15), SfNPV-Gto (lane 16). Restriction fragment patterns with EcoRI (lanes 18 to 24). SfNPV-Ar (lane 18), SfNPV-Fx (lane 19), SfNPV-Ho (lane 20), SfNPV-Sin (lane 21), SfNPV-An1 (lane 22), SfNPV-An2 (lane 23), SfNPV-Gto (lane 24).

3.2. Análisis filogenético

Se estableció una relación filogenética entre la cepa de SfNPV-Gto y otros 21 baculovirus reportados en la plataforma del NCBI. Se realizó un filograma utilizando secuencias nucleotídicas concatenadas de tres genes homólogos altamente conservados en todos los baculovirus, los genes *polh*, *lef-8* y *lef-9*. Los resultados indicaron una separación en dos clados de los *Alfabaculovirus*, esto soportado por valores de Bootstrap del 92% (Fig. 2). Dentro del clado 1 (valor de soporte de 100%), se agruparon los NPV que infectan a Lepidópteros del género *Spodoptera frugiperda*, en este clado se ubicó la cepa SfNPV-Gto, la cual está estrechamente relacionada con los aislados SfNPV-ArgM, SfNPV-An2, SfNPV-Ho, SfNPV-An1 y SfNPV-B (valor de soporte del 84%). En el clado 2 (valor de soporte del 63%), se agruparon NPV que infectan Lepidópteros del género de *S. exigua*, *S. litura* y *S. eridania*.

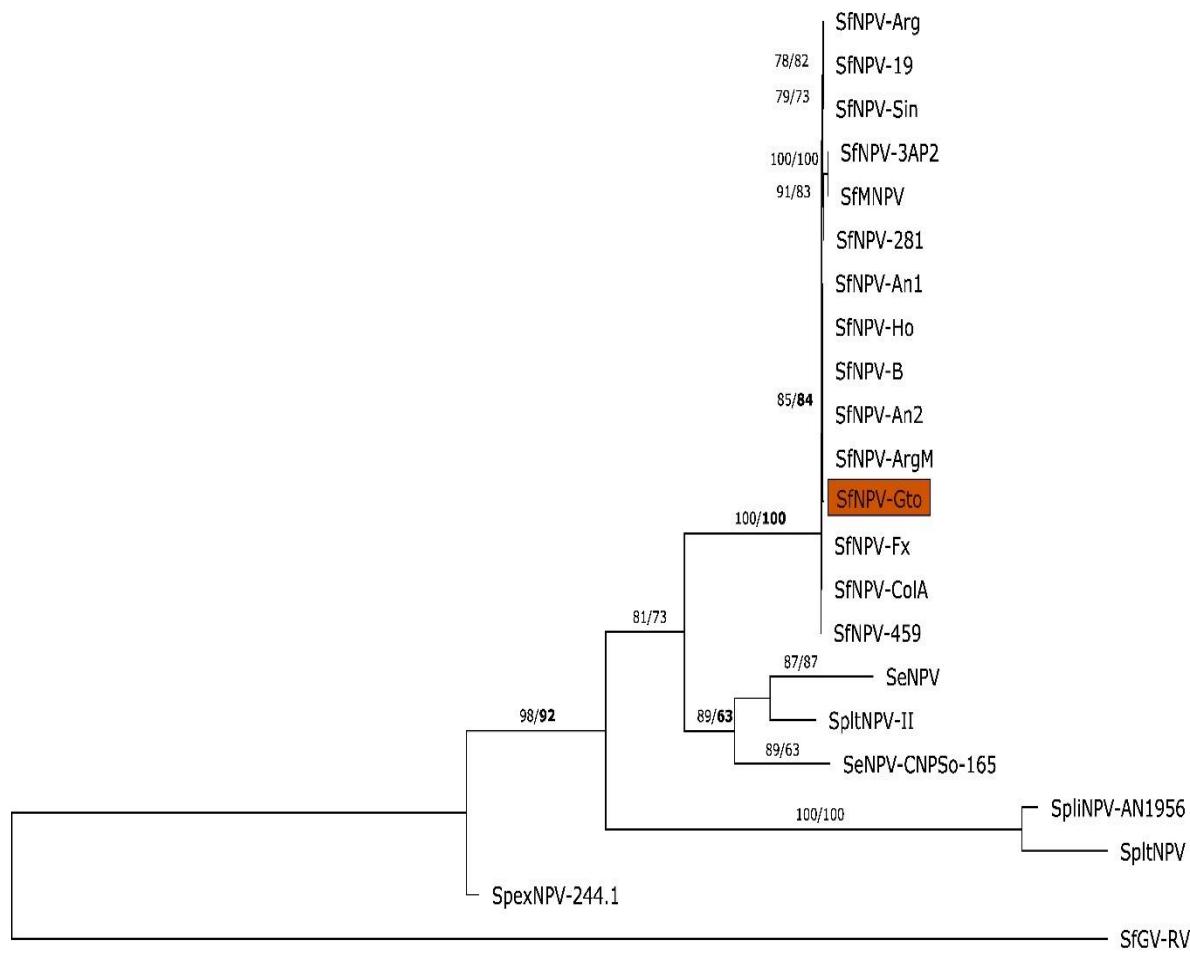


Fig. 2. Árbol filogenético elaborado a partir de secuencias nucleotídicas de la cepa SfNPV-Gto y 21 miembros del género *Alfabaculovirus*, así como un grupo externo, el granulovirus SfGV-RV.

Fig. 2. Phylogenetic tree using nucleotide sequences of the SfNPV-Gto strain and 21 members of the *Alphabaculovirus* genus, as well as an external group, the granulovirus SfGV-RV.

3.3. Perfiles de proteínas

Con la finalidad de determinar si existían diferencias y/o similitudes a nivel de proteínas estructurales de los CO y los VDO, entre las diferentes cepas de SfNPV, se realizaron geles de acrilamida SDS-PAGE. El perfil de proteínas de las siete cepas de estudio presentó una alta similitud en cuanto al número y peso molecular de las mismas. En todas las cepas de baculovirus SfNPV, se observó la presencia de una proteína altamente expresada alrededor de los 30 kDa, correspondiente a la proteína poliedrina, la principal proteína de los CO de los baculovirus (Fig. 3a y 3b). Adicionalmente, se pudo observar la presencia de una banda de 20-23 kDa en todas las cepas SfNPV estudiadas (Fig. 3a y 3b). Las cepas SfNPV presentaron alrededor de 25 bandas, cuyo peso molecular osciló entre los 10 y 190 kDa.

Se observó que las proteínas de alto peso molecular son similares en todas las cepas, incluida una proteína de 85 kDa altamente expresada (Fig. 3a y 3b), mientras que para las proteínas de bajo peso molecular (Fig. 3b), se pudo observar que la cepa SfNPV-Ho (Fig. 3b, carril 4) y SfNPV-Gto (Fig. 3b, carril 8) no poseen una banda de 20 kDa, presente en el resto de las cepas, mientras que la cepa SfNPV-Fx (Fig. 3b, carril 3), presentó esta banda, pero con una menor intensidad. Por otro lado, todas las cepas expresaron la proteína p10, proteína de 10 kDa, presente en la envoltura de los CO (Fig. 3b), aunque la cepa SfNPV-Ho (Fig. 3b, carril 4), presentó una menor expresión de esta proteína.

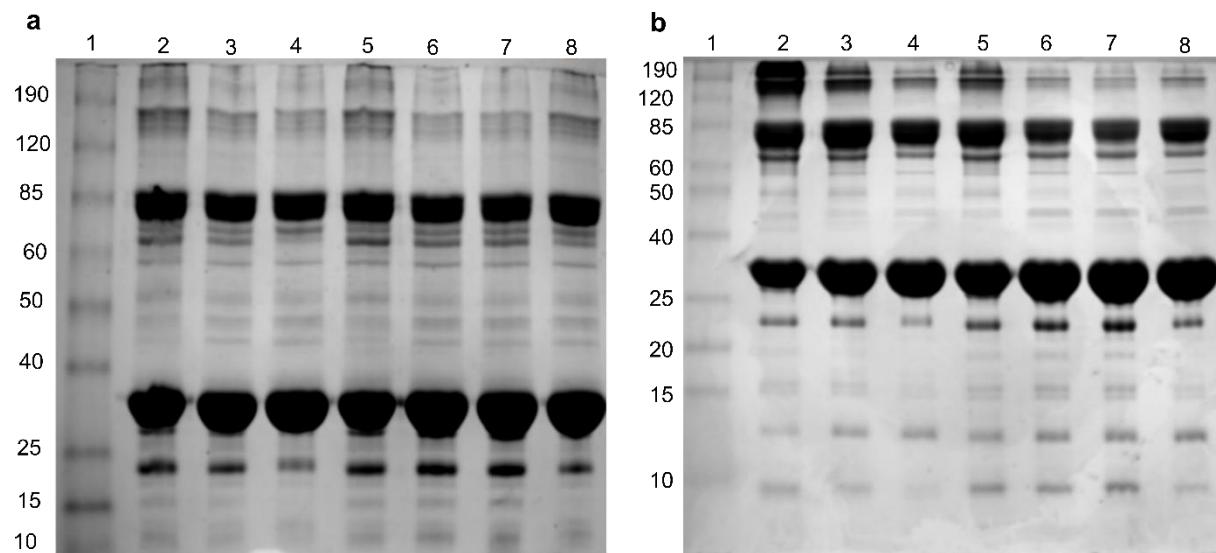


Fig. 3. Perfiles de proteínas de los cuerpos de oclusión y los viriones derivados de la oclusión de las cepas SfNPV en geles SDS-PAGE. Proteínas de los cuerpos de oclusión de cepas de SfNPV en geles al 11% (a). Perfil de proteínas de los viriones derivados de la oclusión de cepas SfNPV en geles al 14% (b). Marcador de peso molecular en kDa, BenchMark (Invitrogen) (carril 1), SfNPV-Ar (carril 2), SfNPV-Fx (carril 3), SfNPV-Ho (carril 4), SfNPV-Sin (carril 5), SfNPV-An1 (carril 6), SfNPV-An2 (carril 7), SfNPV-Gto (carril 8).

Fig. 3. Protein profiles of occlusion bodies and virions derived of occlusion from SfNPV strains on SDS-PAGE gels. Protein profile of occlusion bodies from SfNPV strains on 11% gels (a). Protein profile of virions derived of occlusion from SfNPV strains on 14% gels (b). Molecular weight marker in kDa, BenchMark (Invitrogen) (lane 1), SfNPV-Ar (lane 2), SfNPV-Fx (lane 3), SfNPV-Ho (lane 4), SfNPV-Sin (lane 5), SfNPV-An1 (lane 6), SfNPV-An2 (lane 7), SfNPV-Gto (lane 8).

3.4. Bioensayos para estimar la CL₅₀

Con el fin de establecer la CL₅₀ de la cepa SfNPV-Gto, se realizaron bioensayos utilizando larvas neonatas de *S. frugiperda* de 24 h de eclosionadas. Los resultados de estos bioensayos se presentan en la Tabla 2, en la cual se pudieron observar los parámetros estadísticos obtenidos de las tres repeticiones válidas de los bioensayos, con la cepa

SfNPV-Gto y los obtenidos en trabajos anteriores de las cepas SfNPV utilizadas como referencia. Estos parámetros fueron el valor de la pendiente, la CL₅₀ y la ji cuadrada (X²).

La CL₅₀ de la cepa SfNPV-Gto se estimó en un valor de 4.1 x10³ CO/mL (0.38 CO/mm²) con una pendiente de 1.44 ± 0.32, una X² de 1.87, un cociente de 4.2 y un coeficiente de variación del 7.5%. Al realizar una comparación de estos valores, con los obtenidos para las cepas SfNPV exóticas, se pudo inferir que la cepa SfNPV-Gto fue 11.8 veces más virulenta que la cepa SfNPV-Ar (CL₅₀ de 4.9x10⁴ CO/mL), 34.9 veces más virulenta que la cepa SfNPV-Fx (CL₅₀ de 1.45 x10⁵ CO/mL) y 44.5 veces más virulenta que la cepa SfNPV-Ho (CL₅₀ de 1.85x10⁵ CO/mL) (Rangel *et al.*, 2014). Al comparar la CL₅₀ de la cepa SfNPV-Gto con cepas nativas, se observó que ésta fue 171,463 veces menor que la de la cepa SfNPV-An1 (CL₅₀ de 7.03x10⁸ CO/mL), 36 veces menor que la cepa SfNPV-An2 (CL₅₀ de 1.48x10⁵ CO/mL) y 4, 146 veces menor que la cepa SfNPV-Sin (CL₅₀ de 1.7x10⁷ CO/mL) (Ríos-Velasco *et al.*, 2011; Zanella-Sáenz *et al.*, 2022); demostrando que la cepa SfNPV-Gto posee una alta virulencia para el control del gusano cogollero del maíz, comparado con las otras cepas nativas previamente reportadas.

Tabla 2. Parámetros estadísticos de los bioensayos de las cepas SfNPV.

Table 2. Statistical parameters of SfNPV strain bioassays.

| Cepas virales | n | Pendiente (\pm SE) | CL ₅₀ (CO/mL) (límites fiduciales) | X ² | Referencias |
|---------------|-----|-----------------------|--|----------------|------------------------------------|
| SfNPV-Gto | 420 | 1.26 (\pm 0.27) | 4.1 x10 ³ (1.83x10 ³ -8.86x10 ³) | 1.73 | Este trabajo |
| SfNPV-Sin | 420 | 1.36 (\pm 0.13) | 1.7x10 ⁷ (1.21x10 ⁷ -2.52x10 ⁷) | 2.23 | Zanella-Sáenz <i>et al.</i> (2022) |
| SfNPV-An2 | 420 | 0.96 (\pm 0.10) | 1.48x10 ⁵ (2.29x10 ⁵ -9.01x10 ⁵) | 1.46 | |
| SfNPV-Ar | 420 | 1.72 (\pm 0.19) | 4.9x10 ⁴ (2.74x10 ⁴ -9.05x10 ⁴) | 4.5 | |
| SfNPV-Fx | 420 | 1.45 (\pm 0.08) | 1.45x10 ⁵ (7.85x10 ⁴ -2.69x10 ⁵) | 4.8 | Rangel <i>et al.</i> (2014) |
| SfNPV-Ho | 420 | 2.06 (\pm 0.14) | 1.85x10 ⁵ (1.01x10 ⁵ -3.37x10 ⁵) | 1.4 | |
| SfNPV-An1 | 420 | 1.53 (\pm 0.18) | 7.03x10 ⁸ (5.84x10 ⁸ -8.32x10 ⁸) | 0.87 | Ríos-Velasco <i>et al.</i> (2011) |

4. Discusión

En este trabajo se caracterizó a nivel biológico y molecular una nueva cepa nativa de baculovirus denominada SfNPV-Gto y se comparó tanto con cepas exóticas (SfNPV-Ar, SfNPV-Fx, SfNPV-Ho) como nativas (SfNPV-Sin, SfNPV-An1, SfNPV-An2). El primer criterio que se utilizó para la caracterización genética de la cepa SfNPV-Gto, con el objetivo de

poder determinar su identidad, fue establecer los PFR digiriendo su ADN con tres diferentes enzimas de restricción, con la finalidad de poder establecer si esta cepa, era una cepa diferente a las ya previamente caracterizadas SfNPV-Ar, SfNPV-Fx, SfNPV-Ho, SfNPV-Sin, SfNPV-An1, SfNPV-An2. Los patrones de fragmentos de restricción obtenidos para la cepa SfNPV-Gto de este estudio, se compararon con aquellos obtenidos por Rangel *et al.* (2014) utilizando como cepas de referencia a las cepas SfNPV-Ar, SfNPV-Fx y SfNPV-Ho, así como los obtenidos para las mismas cepas SfNPV por Zanella-Sáenz *et al.* (2022) y Ríos-Velazco *et al.* (2011). En el caso del uso de la enzima de restricción *HindIII*, la cepa SfNPV-Gto no mostró diferencias en el patrón de bandeo al compararse con la cepa nativa SfNPV-An1, pero si resultó ser diferente con el resto de las cepas de referencia. Sin embargo, cuando se compararon los patrones de restricción de las enzimas *EcoRI* y *BamHI*, se observaron la presencia o ausencia de diversas bandas que demostraban que, a nivel de ADN, la cepa SfNPV-Gto era distinta a las otras cepas SfNPV.

Si bien el uso de PFR no es una técnica moderna para la caracterización de cepas de baculovirus, como lo sería la secuenciación del genoma completo, si es una herramienta de fácil realización, de muy bajo costo y de alta precisión, para poder diferenciar entre cepas altamente similares a nivel de ADN. Esta misma herramienta ha sido utilizada de manera exitosa por Barrera *et al.* (2011), quienes caracterizaron un aislado de Colombia, denominado SfCOL y lo compararon con un aislado de Nicaragua, denominado SfNIC, utilizando las enzimas *PstI*, *BamHI*, *HindIII*. Ellos encontraron que el aislado SfCOL contenía 2 bandas diferentes a la cepa SfNIC, con peso molecular distinto, por lo que se evidenció que el aislado SfCOL es una aislado diferente al nicaragüense. Asimismo, Rangel *et al.* (2014), pudieron establecer las diferencias a nivel molecular entre tres cepas exóticas de SfNPV, utilizando las mismas enzimas de restricción utilizadas en este trabajo.

Por otro lado, en cuanto al aislado SfNPV-Gto, se demostró que esta cepa contaba con bandas únicas que estaban ausentes en el resto de las cepas SfNPV con las que se comparó. Incluso aún si se comparaba el PFR de la cepa SfNPV-Gto con el patrón de bandeo de los aislados SfCOL y SfNIC estudiados por Barrera *et al.* (2011), se pudieron observar claras diferencias entre los mismos cuando sus ADN fueron digeridos con las mismas enzimas. En otros trabajos se han identificado variantes genotípicas de aislados de SfNPV de áreas geográficas diferentes dentro del continente americano, como Argentina, Antillas, México, Estados Unidos, Nicaragua, Colombia y Honduras (Berreta *et al.*, 1998; Escrivano *et al.*, 1999) y se sabe que las variantes genotípicas de baculovirus generalmente exhiben variaciones fenotípicas, particularmente con respecto a su patogenicidad y velocidad de muerte (Harrison *et al.*, 2008). Por lo tanto, la utilización de los PFR obtenidos con distintas enzimas, representan una primera aproximación para poder diferenciar entre aislados de baculovirus provenientes del mismo insecto, aunque sin duda alguna, el parámetro definitivo para conocer la similitud a nivel de ADN entre estas cepas es la secuenciación de su genoma completo, y este grupo de trabajo ya está trabajando en el análisis genómico de estas cepas para obtener resultados más concluyentes.

Con la finalidad de establecer a que grupo filogenético pertenecía el virus SfNPV-Gto, se realizó un análisis filogenético utilizando tres genes altamente conservados en los baculovirus, los genes *polh*, *lef-8* y *lef-9*. En trabajos previos, Herniou y Jehle (2007), concluyeron que el gen *polh* es esencial para identificar a los NPV, así como el gen de la

granulina para identificar a los granulovirus. Ellos establecieron que los genes *lef-8*, *lef-9* y *polh* son los genes mínimos necesarios con los que se pueden establecer relaciones filogenéticas entre distintos aislados, obteniendo resultados similares a los obtenidos si se compararan los genomas completos de las cepas de baculovirus. En este trabajo, fue necesario identificar primeramente la presencia de estos tres genes en la cepa SfNPV-Gto, por ello se amplificó el gen *polh* y se obtuvo un fragmento de 540 pb, para el gen *lef-8* se obtuvo un amplicón de 800 pb y para el gen *lef-9* el amplicón fue de 400 pb.

Bivián-Hernández *et al.* (2017) realizaron un análisis genómico de un *Betabaculovirus* de *Trichoplusia ni* (TnGV), concluyendo que los genes *gran*, *lef-8* y *lef-9* forman parte de los 38 genes centrales presentes en los baculovirus, y que éstos están involucrados en la transcripción de genes tardíos. En este trabajo se detectaron estos tres genes y se infiere que pueden desarrollar esta misma función. Por otro lado, Barrera *et al.* (2014) realizaron un análisis basado en estos tres genes *lef-8*, *lef-9* y *gran*, en el granulovirus VG010, encontrando amplicones de 735 pb para el gen *gran*; 785 pb para el gen *lef-8* y de 311 pb para el gen *lef-9*, tamaños similares a los reportados en este trabajo. Jiménez-Hernández *et al.* (2022) evaluaron al baculovirus PlxyMNPV_LBIV-11, aislado de *Plutella xylostella*, encontrando amplicones de los genes *lef-8*, *lef-9* y *polh* de 800, 400 y 540 pb respectivamente, lo cual concuerda con el tamaño de amplicones obtenidos en este estudio.

Una vez detectados y secuenciados los genes conservados *polh*, *lef-8* y *lef-9* de la cepa SfNPV-Gto, se realizó un filograma, en el cual se pudo observar que la cepa SfNPV-Gto se agrupó en un clado relacionado con *Alphabaculovirus* que infectan a lepidópteros de la Familia Noctuidae, especialmente a *S. frugiperda*. Asimismo, la cepa SfNPV-Gto se agrupó en el mismo clado que el aislado SfNPV-ArgM, aislado en Argentina. Esto podría ser un indicativo de que la separación geográfica no es un factor determinante en la similitud genética entre baculovirus. El aislado SfNPV-ArgM fue posteriormente caracterizado por Masson *et al.* (2021) utilizando su genoma completo y los resultados presentaron que esta cepa se agrupaba con los aislados Nicaragüenses SfNPV-B y SfNPV-G. En base a estos resultados, podría inferirse que la cepa SfNPV-Gto tiene una relación filogenética con los aislados SfNPV nicaragüenses, pero se requieren estudios posteriores para poder corroborar esta afirmación.

Al analizar el filograma de las cepas SfNPV-An1 y SfNPV-B, se pudo observar que estas cepas estaban en un mismo clado, pero separadas de la cepa SfNPV-Gto. Asimismo, la cepa SfNPV-Ar se agrupó en el mismo clado que la cepa SfNPV-19, mientras que la cepa SfNPV-ColA se agrupó en otro clado diferente al de estas, resultados que coinciden con lo reportado previamente por Zanella-Saénz *et al.* (2022), pero la cepa SfNPV-Gto, no se agrupó en ninguno de estos dos clados. Más aún, las cepas de referencia estudiadas en este trabajo, tampoco se agruparon en el mismo clado de la cepa SfNPV-Gto. En base a estos resultados, se puede concluir que en definitiva, los aislados de SfNPV de diferentes orígenes geográficas, pueden tener similitudes a nivel de ADN, y aun así tener distintos niveles de virulencia, de tal manera que determinar cuáles son los genes que participan en la virulencia, es un premisa importante por estudiar y que la corroboración de esto, solamente se puede determinar una vez que se secuencian los genomas completos de estas cepas, el cuál es el paso siguiente en esta investigación.

Por otro lado, Popham *et al.* (2021) realizaron filogramas utilizando dos metodologías, por un lado, utilizaron los genomas completos y por otro lado realizaron filogramas utilizando el alineamiento de secuencias de 38 genes “core” de baculovirus con 8 cepas SfNPV diferentes. Tanto en el árbol elaborado con el genoma completo, como en el árbol elaborado con los 38 genes centrales, se observó el mismo agrupamiento de los clados (valores de Bootstrap del 99-100%). Los autores concluyeron que, aislados virales provenientes de la misma región geográfica no se agruparon en el mismo clado y que esto podría deberse a la variabilidad genética entre cepas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en esta investigación.

En este estudio se analizaron las proteínas estructurales de los CO de las cepas de SfNPV, encontrándose similitudes en los patrones proteicos en todas las cepas, sin diferencias significativas que permitieran mediante esta metodología, lograr una diferenciación entre ellas. Se detectó la presencia de dos proteínas mayoritarias importantes en la estructura de los baculovirus, la poliedrina y la p10, con pesos moleculares de 29 y 10 kDa respectivamente, las cuales permiten identificar que el virus SfNPV-Gto es un miembro de la familia Baculoviridae, así como determinar que está íntimamente relacionado con otras cepas de la misma especie a nivel estructural en las proteínas de su CO, como ya ha sido reportado (Jehle *et al.*, 2006). Esto podría también relacionarse con el hecho de que estas cepas de SfNPV, se encuentren agrupadas en el mismo clado, y el patrón de bandeo de proteínas estructurales podría ser una característica que comparten en común, pero que no tiene relación con los niveles de virulencia, ya que todas las cepas presentaron diferentes valores de virulencia (diferentes CL₅₀), pero patrones proteicos muy similares. Cabe destacar que, al analizar las proteínas de los VDO, los resultados fueron muy similares, de ahí que es necesario estudiar a las proteínas de interacción entre el virus y su hospedero, estas interacciones ya han sido evaluadas por este grupo de trabajo con otros baculovirus SfNPV (Rangel-Núñez *et al.*, 2023), y será la parte con la que se continuará trabajando con este nuevo virus SfNPV-Gto.

Finalmente, en relación con la virulencia de los aislados virales de SfNPV, para determinar la CL₅₀ de la cepa SfNPV-Gto, se utilizó la técnica de contaminación en la superficie de dieta artificial, con el objetivo de realizar los bioensayos tratando de imitar la forma en que larvas adquieren los CO de los baculovirus en el campo. Se comprobó que la cepa SfNPV-Gto es altamente virulenta, evidenciado por su baja CL₅₀ al compararla con los resultados obtenidos por Rangel *et al.* (2014) se pudo observar que fue 11.8 veces más agresiva que la cepa SfNPV-Ar, 34.9 veces más virulenta que la cepa SfNPV-Fx y 44.5 veces más infectiva que la cepa SfNPV-Ho. Escribano *et al.* (1999) determinaron la CL₅₀ de aislados exóticos probados contra una población del gusano cogollero del maíz en Honduras, y establecieron una CL₅₀ de 2.04×10^5 CO/mL para una cepa de Nicaragua (SfNPV-NIC), la cual resultó ser la más virulenta de ese estudio, así como una CL₅₀ de 2.21×10^5 CO/mL para una cepa de EE. UU. (SfNPV-US) y una CL₅₀ de 3.05×10^6 CO/mL para la cepa de Argentina (SfNPV-AR). Estos valores de CL₅₀ son mucho mayores a los reportados en este trabajo, resultando ser la cepa SfNPV-Gto, 49.7 veces más virulenta que la nicaragüense, 53.9 veces más que la estadounidense y 743.9 veces más que la argentina.

Gómez Valderrama *et al.* (2010) realizaron una caracterización biológica de tres aislados colombianos denominados NPV003 (Córdoba), NPV009 (Tolima) y NPV011 (Meta) de

SfNPV frente a una colonia de *S. frugiperda* colombiana, y ellos estimaron valores de CL₅₀ de 1.5×10^5 CO/mL para el aislado NPV011, 2.3×10^5 CO/mL para NPV003 y 7.0×10^5 CO/mL para NPV009. Al comparar estos resultados con los valores de CL₅₀ obtenidos en la cepa del presente estudio, se encontró que SfNPV-Gto fue 36.5 veces más infectiva que NPV003, 56 veces más virulenta que NPV009 y 170.7 veces más agresiva que NPV011. Ríos-Velasco *et al.* (2011), evaluaron un aislado de Coahuila (SfNPV-An1) frente a una colonia del gusano cogollero y encontraron una CL₅₀ de 7.03×10^8 CO/mL, por lo cual, al compararla con la cepa SfNPV-Gto, esta cepa resultó ser 171 463 veces menos eficiente que la cepa de ese estudio. Aunado a esto, Popham *et al.* (2021) reportaron las CL₅₀ de dos aislados de EE. UU. y uno de Colombia probados contra una población del gusano cogollero del maíz, estimaron valores de 0.45×10^6 CO/mL para SfNPV-281 y 0.51×10^6 CO/mL para SfNPV-3AP2, cepas de EE. UU., así como una CL₅₀ de 3.29×10^6 CO/mL para la cepa colombiana SfNPV-459. Sin embargo, en este trabajo se estimó para la cepa SfNPV-Gto una CL₅₀ que fue 109.7 y 124.3 veces menor que las cepas estadounidenses más agresivas reportadas en aquel estudio. Adicionalmente, la cepa SfNPV-Gto fue 802.4 veces más virulenta que la cepa colombiana.

Por otro lado, Zanella-Saénz *et al.* (2022) estimaron la CL₅₀ de dos aislados de SfNPV de Coahuila (SfNPV-An2) y Sinaloa (SfNPV-Sin) frente a una colonia de *S. frugiperda* mexicana, encontrando valores de CL₅₀ para SfNPV-An2 de 1.48×10^5 CO/mL y para SfNPV-Sin de 1.7×10^7 CO/mL. Comparando estos valores con los obtenidos en este estudio, la CL₅₀ de la cepa SfNPV-Gto resultó ser 36 veces menor que la CL₅₀ de SfNPV-An2 y 4,146.3 veces más baja que la de SfNPV-Sin. Por lo que se puede afirmar que las cepas reportadas hasta hoy en día hacia *S. frugiperda* como las más agresivas, son las cepas SfNPV-Ar, SfNPV-Fx, SfNPV-An2 y SfNPV-Ho. Sin embargo, la cepa SfNPV-Gto mostró una CL₅₀ 50 veces menor que estas cepas consideradas como altamente virulentas, lo que significa que esta cepa es una de las más agresivas para el control del gusano cogollero del maíz y su potencial como agente de control biológico contra esta plaga es elevado.

5. Conclusión

El gusano cogollero del maíz *S. frugiperda* fue por mucho tiempo exclusivo del continente americano, pero al migrar hace poco más de 10 años hacia África y Asia, se convirtió en una de las plagas más devastadoras para el maíz a nivel mundial. El uso excesivo de insecticidas químicos utilizados para su control ha provocado que este insecto sea sumamente difícil de controlar, debido al fácil desarrollo de resistencia de la plaga hacia estos productos. Considerando que existen diversos trabajos relacionados con el uso de cepas de baculovirus SfNPV o SfGV como una alternativa potencial para controlar a *S. frugiperda*, aún no se ha desarrollado un bioinsecticida a base de baculovirus que haya demostrado ser eficaz a nivel de campo, por lo menos a los niveles de mortalidad alcanzados con los insecticidas químicos. De ahí la enorme importancia de continuar con la búsqueda de nuevas cepas de baculovirus que posean un potencial efectivo y competitivo para controlar a esta plaga en un menor tiempo y con una menor concentración del ingrediente activo (CO) en los formulados virales. En este trabajo se demostró que la cepa SfNPV-Gto aquí reportada, posee altos niveles de virulencia, hasta 10 veces mayor que otras cepas SfPNV previamente reportadas, es una cepa nueva, como lo demuestran sus

patrones de fragmentos de restricción y su relación filogenética con otras cepas aisladas del mismo hospedero, *S. frugiperda*, y puede utilizarse en el futuro como un bioinsecticida capaz de controlar a este insecto de una forma inocua, segura y sostenible, sin que este genere resistencia. Es importante continuar estudiando a esta cepa, determinar cuáles son los genes implicados en su virulencia y secuenciar su genoma completo, para poder optimizar formulaciones a base de sus CO, que sean evaluadas a nivel de campo y poder determinar su potencial bioinsectida en cultivos de maíz. El objetivo final será que esta cepa pueda ser considerada como un agente de control biológico contra el gusano cogollero del maíz, no solo en México, sino en las diversas regiones del mundo dónde este insecto cause afectaciones en el cultivo de maíz.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dirección de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Universidad de Guanajuato, por el financiamiento del proyecto No. 079/2024 y la SECIHTI por la beca de Maestría No. 1222981 otorgada a Alejandra Franco Ramírez. Se agradece al Dr. Trevor Williams del Instituto Nacional de Ecología de la UNAM por facilitar las cepas SfNPV-Ar, SfNPV-Fx y SfNPV-Ho y al Dr. Refugio Lomelí Flores, del Colegio de Posgraduados de Texcoco, estado de México, por facilitar la cepa SfNPV-Gto.

Contribución de los autores

Alejandra Franco-Ramírez: Conceptualización, metodología, validación, análisis formal, preparación del borrador original. **Jonatan C. Núñez-Rangel:** Conceptualización, metodología, validación, análisis formal, recursos. **Ma. de los Ángeles Bivián Hernández:** Visualización, investigación, preparación del borrador original. **J. Refugio Lomelí-Flores:** Supervisión, validación. **Ma. Cristina Del Rincón-Castro:** Redacción-revisión y edición, supervisión, administración del proyecto, obtención del financiamiento.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Referencias

Barrera, G., Simón, O., Villamizar, L., Williams, T. and Caballero, P., 2011. *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus as a potential biological insecticide: Genetic and phenotypic comparison of field isolates from Colombia. Biol. Control. 58 (2), 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.009>

Barrera, G., Gómez, J., Cuartas, P., León, G. and Villamizar, L., 2014. Caracterización morfológica, biológica y genética de un aislamiento colombiano de granulovirus de *Erinnys*

ello (L.) (Lepidoptera: Sphingidae). Rev. Col. Biotechnol. 16 (2), 129-140. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v16n2.41663>

Barrera, G.P., Belaich, M.N., Patarroyo, M.A., Villamizar, L.F. and Ghiringhelli, P.D., 2015. Evidence of recent interspecies horizontal gene transfer regarding nucleopolyhedrovirus infection of *Spodoptera frugiperda*. BMC Genomics. 16, (1008). <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2218-5>

Berretta, M.F., Rios, M.L. and Sciocco de Cap, A., 1998. Characterization of a nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera frugiperda* from Argentina. J. Invertebr. Pathol. 71 (3), 280-282. <https://doi.org/10.1006/jipa.1997.4731>

Bivián-Hernández, M.A., López-Tlacomulco, J., Mares-Mares, E., Ibarra, J. E. and Del Rincón-Castro, M.C., 2017. Genomic analysis of a *Trichoplusia ni Betabaculovirus* (TnGV) with three different viral enhancing factors and two unique genes. Arch. Virol. 162, 3705-3715. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3506-y>

Escribano, A., Williams, T., Goulson, D., Cave, R.D., Chapman, J.W. and Caballero, P., 1999. Selection of a nucleopolyhedrovirus for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): Structural, genetic, and biological comparison of four isolates from the Americas. J. Econ. Entomol. 92 (3), 1079-1085. <https://doi.org/10.1093/jee/92.5.1079>

Eberle, K.E., Wennmann, J.T., Kleespies, R.G. and Jehle, J.A., 2012. Basic techniques in insect virology. In: Lacey, L.A. (Eds.), Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. vol. 2. Academic Press, London, pp. 15-74.

Gómez Valderrama, J.A., Guevara Agudelo, E.J., Barrera Cubillos, G.P., Cotes Prado, A.M. and Villamizar Rivero, L.F., 2010. Aislamiento, identificación y caracterización de nucleopoliedrovirus nativos de *Spodoptera frugiperda* en Colombia. Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín. 63 (2), 5511-5520.

Gómez Valderrama, J., and Villamizar, L., 2013. Baculovirus: Hospederos y especificidad. Rev. Col. Biotechnol. 15 (2), 143-155. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v15n2.41273>

Gutiérrez, L.M., Villaseñor, F. and Oceguera, E., 2021. Baculovirus, un patógeno versátil. Ciencia. 72 (2), 26-33.

Harrison, R.L., Puttler, B. and Popham, H.J., 2008. Genomic sequence analysis of a fast-killing isolate of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus. J. Gen. Virol. 89, 775-790. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83566-0>

Hernández-Trejo, A., Osorio-Hernández, E., López-Santillán, J.A., Ríos-Velasco, C., Varela-Fuentes, S.E. and Rodríguez-Herrera, R., 2018. Insectos benéficos asociados al control del

gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). Agro Productividad. 11 (4), 9-14.

Herniou, E.A., and Jehle, J.A., 2007. Baculovirus phylogeny and evolution. Curr. Drug Targets. 8 (10), 1043-1050. <https://doi.org/10.2174/138945007782151306>

Hussain, A.G., Wennmann, J.T., Goergen, J., Bryon, A. and Ros, V.I.D., 2021. Viruses of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: A review with prospects for biological control. Viruses. 13 (11), 2220. <https://doi.org/10.3390/v13112220>

Ibarra, J.E. and Federici, B.A., 1987. An alternative bioassay employing neonate larvae for determining the toxicity of suspended particles to mosquitoes. J. Am. Mosq. Control Assoc. 3 (2), 187-192.

Jehle, J.A., Blissard, G.W., Bonning, B.C., Cory, J.S., Herniou, E.A., Rohrmann, G.F., Theilmann, D.A., Thiem, S.M. and Vlak, J.M., 2006. On the classification and nomenclature of baculoviruses: A proposal for revision. Arch. of Virology. 151 (7), 1257-1266. <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0763-6>

Jiménez-Hernández, S.Y., Rangel-Núñez, J.C., Ibarra, J.E. and Del Rincón-Castro, M.C., 2022. Biological, morphological, and molecular characterization of the baculovirus PlxyMNPV_LBIV-11, and its virulence towards *Plutella xylostella*, *Trichoplusia ni*, and *Spodoptera frugiperda* larvae. Arch. Microbiol. 204 (10), 598. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03222-z>

Lange, M., Wang, H., Zhihong, H., Jehle, J.A., 2004. Towards a molecular identification and classification system of lepidopteran-specific baculoviruses. Virology. 325 (1), 36-47. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.04.023>

Lin, S., Shen, Z.Y., Wang, M.D., Zhou, X.M., Xu, T.; Jiao, X.H., Wang, L.L., Guo, X.J. and Wu, P., 2024. Lnc557 promotes *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus replication by interacting with BmELAVL1 to enhance its stability and expression. Pesticide Biochem. Physiol. 204. 106046. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2024.106046>

Martínez-Castillo, A. M., Pineda-Ortega, S., Pineda-Guillermo, S., Figueroa de la Rosa, J. I., Palma-Castillo, L.J. and Ramos-Ortiz, S., 2021. Combinación de un baculovirus con compuestos biorracionales para el control del gusano cogollero. Entomol. Mex. 8, 1-5.

Masson, T., Fabre, M.L., Pidre, M.L., Niz, J.M., Berretta, M.F., Romanowski, V. and Ferrelli, M.L., 2021. Genomic diversity in the population of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus. Infect. Genet. Evol. 90, 104749. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104749>

Moscardi, F., de Souza, M.L., de Castro, M.E.B., Lara Moscardi, M. and 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, pp. 415–445.

Popham, H.J., Rowley, D.L. and Harrison, R.L., 2021. Differential insecticidal properties of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolates against corn-strain and rice-strain fall armyworm, and genomic analysis of three isolates. *J. Invertebr. Pathol.* 183, 107561. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107561>

Rangel, J.C., Vázquez, M.F. and Del Rincón, M.C., 2014. Caracterización biológica y molecular de cepas exóticas de baculovirus SfNPV, con actividad bioinsecticida hacia una población mexicana del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae). *Interciencia*. 39 (5), 320-326.

Rangel-Núñez, J.C., Ibarra, J.E. and Del Rincón-Castro, M.C., 2023. Transcriptomics and interactomics during the primary infection of an SfNPV baculovirus on *Spodoptera frugiperda* larvae. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 13, 1291433. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1291433>

Ríos-Velasco, C., Gallegos-Morales, G., Del Rincón-Castro, M.C., Cerna-Chávez, E., Sánchez-Peña, S.R. and Siller, M.C., 2011. Insecticidal activity of native isolates of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus from soil samples in Mexico. *Fla. Entomol.* 94 (3), 716-718. <https://doi.org/10.1653/024.094.0346>

Russo, M.L., Scorsetti, A.C., Vianna, M.F., Cabello, M., Ferreri, N. and Pelizza, S., 2019. Endophytic effects of *Beauveria bassiana* on corn (*Zea mays*) and its herbivore, *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insects*. 10 (110), 1-9. <https://doi.org/10.3390/insects10040110>

Simón, O., Williams, T., López-Ferber, M. and Caballero, P., 2004. Genetic structure of a *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus population: High prevalence of deletion genotypes. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 5579–5588. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5579-5588.2004>

Viera-Arroyo, W.F., Tello-Torres, C.M., Martínez-Salinas, A.A., Navia-Santillán, D.F., Medina-Rivera, L.A., Delgado-Párraga, A.G., Perdomo-Quispe, C.E., Pincay-Verdezoto, A.K., Báez-Cevallos, F.J., Vásquez-Castillo, W.A. and Jackson, T., 2020. Control Biológico: una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *J. Selva Andina Biosph.* 8 (2), 128-149. <https://doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080200128>

Zanella-Saénz, I., Herniou, E.A., Ibarra, J.E., Huerta-Arredondo, I.A. and Del Rincón-Castro, M.C., 2022. Virulence and genetic characterization of six baculovirus strains isolated from different populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Arch. Microbiol.* 204 (1), 108. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02722-8>