

## TRANSFECCIÓN DE LÍNEA CELULAR SF9 DE *SPODOPTERA FRUGIPERDA* CON CEPAS NATIVAS DE BACULOVIRUS

### TRANSFECTION OF SF9 CELL LINE OF *SPODOPTERA FRUGIPERDA* WITH NATIVE BACULOVIRUS STRAINS

Franco-Ramírez, A.C.<sup>1</sup>, Rangel-Núñez, J.C.<sup>2</sup>, Bivián-Hernández, M.A.<sup>2</sup>, Del Rincón-Castro, M.C.<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Doctorado en Biociencias, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.

<sup>2</sup>Investigador Postdoctoral SECIHTI, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.

<sup>3</sup>Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. \*cdelrincon@ugto.mx

Fecha de envío: 19, mayo, 2025

Fecha de publicación: 20, septiembre, 2025

#### Resumen:

*Spodoptera frugiperda* es la plaga más importante en el cultivo de maíz ya que genera cuantiosas pérdidas económicas, debido a su rápida propagación y resistencia a insecticidas sintéticos, por tal motivo resulta necesaria la utilización de agentes de control biológicos que sean eficaces e inocuos como los Baculovirus. En este estudio se realizó la transfección de la línea celular Sf9 de *Spodoptera frugiperda* con cepas nativas de baculovirus con diferentes niveles de virulencia hacia este insecto, utilizando la transfección con el DNA de las cepas SfNPV-Sin, SfNPV-An1, SfNPV-Gto y un control con la cepa PxNPV. Al término de 8 días post infección, en las células infectadas con la cepa control (PxNPV) se observaron cuerpos de oclusión (COs), mientras que, con las cepas de estudio, se observaron síntomas de infección como núcleo agrandado, presencia de estroma virogénico, pero no se observó la presencia de COs en las células. Al realizar extracción de DNA del sobrenadante de las células infectadas, se procedió a realizar un PCR del gen *polh* y se obtuvo en la cepa control un amplicón de 500 pb, mientras que en el sobrenadante de las células infectadas con las cepas SfNPV-Sin, SfNPV-An1 y SfNPV-Gto este gen no amplificó. Debido a que se observó la sintomatología típica de una infección por baculovirus en las células Sf9 infectadas con las cepas SfNPV, pero no presencia de COs, se concluye que esta línea celular podría ser semipermissiva a la infección por las cepas SfNPV probadas, evidenciándose que el DNA viral logra entrar a las células, pero se replica de una manera parcial, no permitiendo la formación de COs en el núcleo celular.

**Palabras clave:** baculovirus, gen, cepas nativas, control biológico, SfNPV

## Abstract:

The fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) is the most significant pest affecting maize cultivation, causing substantial economic losses due to its rapid spread and resistance to synthetic insecticides. Consequently, it is necessary to use effective and safe biological control agents, such as baculoviruses. In this study, the Sf9 cell line of *Spodoptera frugiperda* was transfected with native baculovirus strains exhibiting different levels of virulence toward this insect. Transfections were performed using DNA from the baculovirus strains SfNPV-Sin, SfNPV-An1, SfNPV-Gto, and a control strain, PxNPV. After 8 days post-infection, occlusion bodies (OBs) were observed in cells infected with the control strain (PxNPV), while in cells infected with the native strains, infection symptoms such as enlarged nuclei and the presence of virogenic stroma were observed, but no OBs were detected. DNA was extracted from the supernatants of the infected cells, and PCR amplification targeting the *polh* gene was conducted. In the control strain, an amplicon of 500 base pairs was obtained, whereas in the supernatants of cells infected with the SfNPV-Sin, SfNPV-An1, and SfNPV-Gto strains, this gene was not amplified. Given that typical baculovirus infection symptoms were observed in Sf9 cells infected with the SfNPV strains, but no OBs were present, it is concluded that this cell line may be semi-permissive to infection by the tested SfNPV strains. This suggests that while viral DNA can enter the cells, replication occurs only partially, preventing the formation of OBs in the cell nucleus.

**Keywords:** baculovirus, gene, natives strains, biological control, SfNPV.

## INTRODUCCIÓN

El maíz es la base de la alimentación en México ya que brinda una fuente de energía en la dieta, sus granos contienen nutrientes y vitaminas y se consume principalmente como tortilla (Hernández et al., 2020). En el 2023 la producción de maíz en México fue de 27 millones de toneladas (SADER, 2023). Esta producción se ha visto gravemente afectada por plagas de insectos que constituyen el principal obstáculo de la producción agrícola (Viera-Arroyo et al., 2020). Dentro de las plagas de mayor importancia económica en el cultivo de maíz se encuentra el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) generando pérdidas en rendimiento superiores al 40% (CNRF, 2021), ya que este insecto ataca a la planta en todas sus etapas de desarrollo y crecimiento hasta defoliarla completamente (Hernández-Trejo et al., 2018).

El control tradicional de *S. frugiperda* por muchos años han sido los productos químicos, que provocan un deterioro del ambiente, intoxicación a la salud humana, evolución de poblaciones plaga más agresivas y resistentes, así como la pérdida de polinizadores y predadores naturales (Hernández-Trejo et al., 2019). Por lo cual es

conveniente realizar algunas alternativas de control natural y biológico, como alternativas eficientes para disminuir el uso de insecticidas (Gutiérrez-Moreno et al., 2020). Una de las alternativas es el uso de baculovirus, ya que estos son altamente virulentos y específicos hacia insectos de lepidópteros, muchos de ellos de importancia agrícola, como *S. frugiperda* (Salvador et al., 2021). Estos virus poseen DNA de doble cadena y fluctúan entre los 80 y 180 kb y existen cuatro géneros, los alfabaculovirus, Betabaculovirus, Delta y Gammabaculovirus (Hussain et al., 2021). En este trabajo se evaluó la susceptibilidad de la línea celular Sf9 derivada de *S. frugiperda*, con el DNA de cepas nativas de baculovirus con efectividad hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*, con el objetivo de seleccionar aquellas cepas que presenten un mayor nivel de infectividad y poder seleccionarlas para utilizarse dentro de programas de control biológico contra el gusano cogollero del maíz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Cepas

Se utilizaron 3 cepas nativas de baculovirus aisladas de *S. frugiperda*: SfNPV-Sin, SfNPV-An1 y SfNPV-Gto previamente caracterizadas por Zanella-Sáenz *et al.*, 2022, Ríos-Velasco *et al.*, 2012, y Franco-Ramírez, 2024 respectivamente.

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

La colonia de *S. frugiperda* se mantuvo a nivel laboratorio bajo condiciones de insectario (60% de humedad relativa, 28°C y 16:8 horas de luz: oscuridad) en una cámara ambiental (PERCIVAL). Las larvas de 1 y 2do estadio se mantuvieron en dieta artificial, descrita por (Rangel *et al.*, 2014) en cajas Petri con un diámetro de 8.5 cm. Una vez llegaron al 3º instar se individualizaron en vasos de plástico, las pupas se colocaron en una bolsa de papel estraza, con una solución de miel al 10%. Los adultos ovipositaron en las paredes de las bolsas de papel, estas se recortan y se colocaron en cajas Petri con dieta artificial nuevamente.

### Amplificación de las cepas virales

La amplificación de las cepas virales se realizó por infección *per os* en larvas de 3er estadio con  $1 \times 10^6$  CO/larva. Se infectaron un total de 50 larvas por cepa, se colocaron en dieta artificial, se incubaron bajo condiciones de insectario y 5 días después se recolectaron y se molieron en un mortero de porcelana estéril, con SDS

al 0.5% y se centrifugaron a 13000rpm, 4°C durante 10min (Centrífuga Hermle, Z326K). El procedimiento se repitió 2 veces más. La pastilla resultante se resuspendió en agua destilada estéril (ADE) y se almacenaron a 4°C.

### **Purificación de Cuerpos de Oclusión**

Los COs se purificaron en gradientes continuos de sacarosa del 40-66% (peso/peso), se centrifugaron a 24000 rpm por 1.5h, utilizando una Ultracentrífuga Optima XPN-100. Posteriormente se retiraron los restos de sacarosa con ADE y 3 centrifugaciones de 12000rpm por 10min, finalmente la pastilla se almacenó a 4°C.

### **Conteo de cuerpos de oclusión**

Los COs fueron cuantificados en cámara de Neubauer, usando un microscopio AxioLabA1 (Zeiss) con objetivo 40×, repitiendo el procedimiento 3 veces, obteniendo un promedio y este multiplicándolo por la dilución y el factor  $2.5 \times 10^5$ .

### **Extracción de ADN viral**

Los COs purificados se resuspendieron en 100 µl de solución álcali ( $\text{NaCO}_3$  0.1M/NaCl 0.1M, Ph 11), adicionando 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 ( $1 \text{ mg/ml}^{-1}$ ), se incubaron a 60°C por 30 min. Posteriormente se colocaron 500 µl de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1), se centrifugó a 14000 rpm por 10 min, se colectó la fase acuosa y el ADN se precipitó por centrifugación con 500 µl de isopropano por 10 min y posteriormente con 500 µl de etílico. La pastilla resultante se resuspendió con 30 µl de amortiguador TE (0.01 M Tris-HCl, 0.001 M EDTA, pH 7.9). Se verificó la presencia de ADN en un gel de agarosa al 0.8 % aplicando un campo eléctrico de 80 V durante 40 min; se utilizó como marcador de peso molecular (MPM) el 1 kb plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific), y se tiñó con GelRed (Biotium) se observó en un fotodocumentador Gel Doc EZ imager (BioRad). Se cuantificó el ADN mediante el uso de Nanodrop Litle Spectofotometro (Thermo Fisher Scientific).

### **Transfección de la línea celular Sf9 con DNA viral**

Para la transfección de la línea celular Sf9 con el DNA viral de las cepas SfNPV, se sembraron células Sf9 en una placa de 6 pozos con fondo plano (CTR Scientific) con una densidad de  $1 \times 10^6$  CO/ml en 1.5 ml de medio Sf-900 sin suero ni suplementos y se dejaron incubar por 1 hora a 27 °C. Se utilizaron 1000 ng de DNA de las cepas de baculovirus SfNPV-Sin, SfNPV-An1 y SfNPV-Gto, más 950 µl de

HSB (20 mM HEPES, 1 mM NaHPO<sub>4</sub>, 5 mM KCl, 140 mM NaCl, 10 mM glucosa) y 50 µl de Ca<sub>2</sub>Cl. Se colocó en la placa con células la mezcla anterior y se dejó reposar por 1 h a 27 °C. Posteriormente se retiró el buffer de transfección y se le agregaron 2 ml de medio de cultivo Sf-900 sin suero bovino, se dejó reposar por 2 h a 27 °C y se observó al microscopio para verificar la integridad de las células. Se incubó a 27 °C y se monitoreó diariamente hasta observar signos de infección viral en las células.

A los 8 días post infección se recuperó el sobrenadante de las células transfectadas con las cepas nativas SfNPV y se extrajo DNA por el método antes mencionado.

### PCR del gen *polh*

El DNA del sobrenadante de las células transfectadas con las cepas nativas SfNPV se utilizó para amplificar por PCR el fragmento conservado del gen *polh* utilizando los oligonucleótidos degenerados descritos en el cuadro 1:

**Cuadro 1.** Oligonucleótidos para gen *polh*

**Table 1.** Oligonucleotides for *polh* gene

Oligonucleótido	Secuencia	Pb	Condiciones	Fuente
<i>polh</i> directo	<u>TAGAAGGCACAGTCGAG</u>	540	95°C-3 min	Jehle <i>et al.</i> , 2006
	<u>GNRCNGARGAYCCNTT</u>		95°C-30 seg	
<i>polh</i> reverso	<u>CAGGAAACAGCTATGAC</u>	54°C-30seg		
	<u>CDGGNGCRAAYTCYTT</u>	72°C-1 min		
		X34		
			72°C-3 min	

Y = C o T; H = A, C o T; R = A o G; S = C o G; I = Inosina; B = C, G o T; D = A, G o T; N = A, A, T o G. Los nucleótidos subrayados indican la secuencia de los oligonucleótidos M13 y GBH universales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Amplificación del inoculo viral

A los CO's purificados de las cepas SfNPV se les realizó un conteo en una cámara de Neubauer obteniendo diferentes concentraciones de las cepas de estudio que se muestran en el cuadro 2. Se obtuvo una concentración de 1.64x10<sup>9</sup> CO/ml en la cepa SfNPV-Sin, 2.03x10<sup>9</sup> CO/ml en SfNPV-An1 y 1.48x10<sup>9</sup> CO/ml en SfNPV-Gto en un volumen de 10 ml dando un total de 1.64x10<sup>10</sup> CO, 2.03x10<sup>10</sup> CO y 1.48 x10<sup>10</sup> CO en SfNPV-Sin, SfNPV-An1 y SfNPV-Gto respectivamente (Cuadro 2).

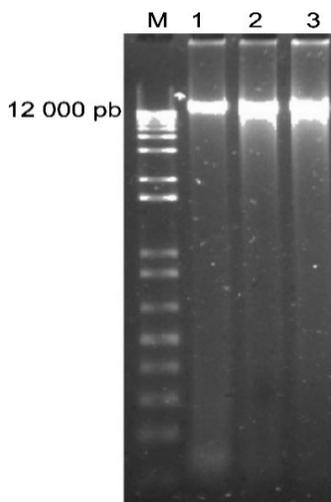
## Cuadro 2. Concentraciones de CO's en las cepas nativas de SfNPV

Table 2. CO concentrations in native SfNPV strains

Cepa	Concentración	Total
SfNPV-Sin	$1.64 \times 10^9$ CO/ml	$1.64 \times 10^{10}$ CO
SfNPV-An1	$2.03 \times 10^9$ CO/ml	$2.03 \times 10^{10}$ CO
SfNPV-Gto	$1.48 \times 10^9$ CO/ml	$1.48 \times 10^{10}$ CO

### Extracción de DNA

Se realizó extracción de DNA de las cepas nativas de estudio SfNPV-Sin, SfNPV-An1 y SfNPV-Gto. En la figura 1 el carril 1 corresponde al Marcador de Peso Molecular 1 kb plus, carril 2: la cepa SfNPV-Sin, carril 3: SfNPV-An1 y carril 4: SfNPV-Gto.



**Figura 1.** Extracción de DNA de las cepas nativas de SfNPV. Carril 1: Marcador de peso molecular en kb, Ladder 1 kb Plus (Invitrogen), carril 2: SfNPV-Sin, carril 3: SfNPV-An1, carril 4: SfNPV-Gto

**Figure 1.** DNA extraction from native SfNPV strains. Lane 1: Molecular weight marker in kb, Ladder 1 kb Plus (Invitrogen), lane 2: SfNPV-Sin, lane 3: SfNPV-An1, lane 4: SfNPV-Gto

En el Cuadro 3 se muestra la cuantificación del DNA, en donde se pudo observar una mayor cantidad de DNA en la cepa SfNPV-Sin con 145 ng/ $\mu$ l, seguida de la cepa SfNPV-An1 con 99.0 ng/ $\mu$ l y SfNPV-Gto con 98.5 ng/ $\mu$ l. Respecto a la relación de la absorbancia A260/280 para predecir la pureza del DNA, la cepa SfNPV-Gto obtuvo un mayor valor con 1.74, en comparación con las cepas SfNPV-Sin y SfNPV-

An1, aunado a esto no se observa degradado en el gel de agarosa en la figura 1. En cuanto a la absorbancia 260 que indica la estabilidad del DNA todas las cepas se encuentran dentro del rango 0-30.

**Cuadro 3.** Cuantificación del DNA de las cepas SfNPV nativas en NanoDrop

**Table 3.** Quantification of DNA from native SfNPV strains in NanoDrop

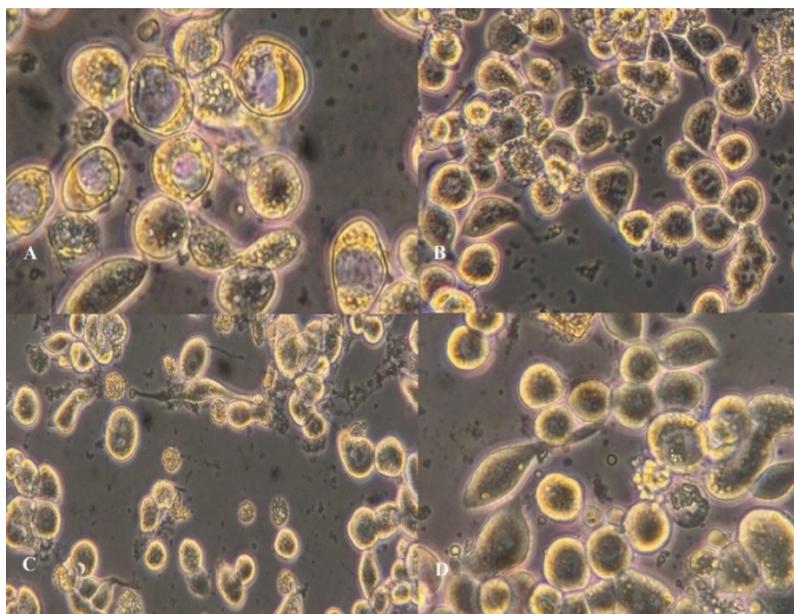
Cepa	A260	A260/280	Cantidad (ng/μl)
SfNPV-Sin	2.901	1.68	145.0
SfNPV-An1	1.981	1.61	99.0
SfNPV-Gto	1.970	1.74	98.5

**Infecciones *in vitro* de la línea celular Sf9**

**Transfección con DNA**

Con la finalidad de observar diferencias en cuanto a la virulencia de los aislados de baculovirus SfNPV en la línea celular, se realizaron ensayos para infectar la línea Sf9 con las cepas nativas SfNPV-An1, SfNPV-Sin, SfNPV-Gto y un control (PxNPV). Se logró observar la producción de los CO's en la cepa PxNPV transfectada con DNA a concentración de 1000 ng totales, mientras que en las cepas SfNPV no se logró la visualización de CO's.

En la figura 2 se observan los aislados de baculovirus cultivados en células Sf9 por transfección de DNA (1000 ng totales) al día 8 post infección, se muestran células con sintomatología característica de una infección por baculovirus, es decir núcleo agrandado, formación de estroma virogénico, además de COs en el centro de algunas células, en la figura 2A correspondiente a la cepa de PxNPV, tal como lo reporta Jiménez-Hernández *et al.*, 2022 quienes transfectaron la línea Sf9 con 2000 ng totales de la cepa PxNPV y obtuvieron COs a las 36 hpi. Mientras que en las cepas nativas SfNPV-Sin (Figura 2B), SfNPV-An1 (figura 2C) y SfNPV-Gto (figura 2D) se observó el núcleo agrandado, aparentemente con presencia de estroma virogénico pero sin presencia de CO's. Aunado a lo anterior, Zanella-Sáenz *et al.*, 2022 transfectaron la línea Sf9 con cepas de baculovirus SfNPV-Ar, SfNPV-Fx, SfNPV-Ho y SfNPV-Sin las cuales se monitorearon por 10 dpi y no observaron presencia de COs, por lo que se optó por cambiar la técnica a infección de la línea Sf9 con VDO (viriones derivados de oclusión), generando buenos resultados en la producción de COs en las cepas SfNPV-Ar, SfNPV-Fx y SfNPV-Ho.



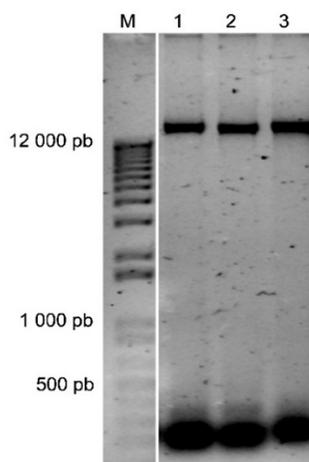
**Figura 2.** Aislados de baculovirus cultivados en células Sf9 por transfección con DNA (1000 ng) después de 8 días post infección. A. Control (PxNPV); B. SfNPV-Sin; C. SfNPV-An1 y D. SfNPV-Gto

**Figure 2.** Baculovirus isolates cultured in Sf9 cells by transfection with DNA (1000 ng) after 8 days post-infection. A. Control (PxNPV); B. SfNPV-Sin; C. SfNPV-An1; and D. SfNPV-Gto

Se realizó extracción de DNA del sobrenadante de las cepas de baculovirus. Obteniendo amplificación por encima de las 12 kb correspondiente a DNA de baculovirus en todas las cepas de estudio. En la figura 3 el carril 1 corresponde al Marcador de Peso Molecular 1 kb plus, carril 2: la cepa PxNPV, carril: 3: SfNPV-Sin, carril 4: SfNPV-An1 y carril 5: SfNPV-Gto.

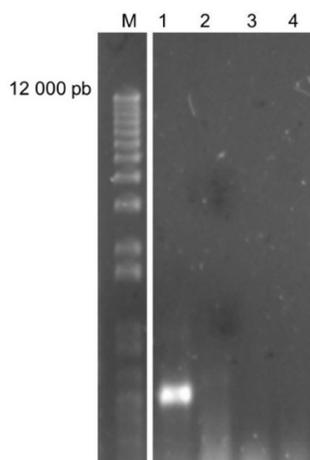
Posterior a la extracción de DNA se realizó PCR del gen *polh*, con la finalidad de corroborar la presencia de CO's en las cepas de baculovirus, por lo que en la figura 4 se observa el carril 1 que corresponde al Marcador de Peso Molecular 1 kb plus, carril 2: la cepa PxNPV, carril: 3: SfNPV-Sin, carril 4: SfNPV-An1 y carril 5: SfNPV-Gto. Como resultado se visualizó la presencia del gen de la poliedrina con amplicón de 540 pb en la cepa PxNPV. En el caso de las cepas SfNPV-Sin, SfNPV-An1 y SfNPV-Gto no se observó un amplicón similar, por lo tanto, se puede inferir que posiblemente hay un bloqueo de la infección y esta tal vez se deba a los sistemas de defensa de la célula, no permitiendo la replicación de DNA viral y en consecuencia no hubo una producción de CO's ya que en las células de estas cepas

si se observó sintomatologías propias de la infección. Estos resultados se pueden comparar con los obtenidos por Rohrmann, 2011 en donde se infectó la línea celular Ld652y de *Lymantria dispar* con el baculovirus de AcMNPV y se encontró que la línea era semipermisiva ya que los genes virales se transcriben, pero la traducción del RNAm se bloque en la etapa tardía de la infección.



**Figura 3.** Extracción de DNA de las cepas de baculovirus, Carril 1: Marcador de peso molecular en kb, Ladder 1 kb Plus (Invitrogen), carril 2: PxNPV, Carril 3: SfNPV-Sin, carril 4: SfNPV-An1, carril 5: SfNPV-Gto

**Figure 3.** Baculovirus isolates cultured in Sf9 cells by transfection with DNA (1000 ng) after 8 days post-infection. A. Control (PxNPV); B. SfNPV-Sin; C. SfNPV-An1; and D. SfNPV-Gto.



**Figura 4.** Productos de PCR del gen *polh* de las cepas de baculovirus, M: Marcador de peso molecular en kb, Ladder 1 kb Plus (Invitrogen), carril 1: PxNPV, carril 2: SfNPV-Sin, carril 3: SfNPV-An1, carril 4: SfNPV-Gto.

**Figure 4.** PCR products of the *polh* gene from baculovirus strains, M: Molecular weight marker in kb, Ladder 1 kb Plus (Invitrogen), lane 1: PxNPV, lane 2: SfNPV-Sin, lane 3: SfNPV-An1, lane 4: SfNPV-Gto.

## CONCLUSIÓN

Al realizar la transfección de la línea celular Sf9 con el DNA de las cepas nativas SfNPV se pudo observar sintomatología de infección por baculovirus, sin embargo, no se pudo observar la presencia de COs con estas cepas, por lo cual se pueden inferir que la línea Sf9 es una línea semipermissiva a la infección con las cepas de estudio SfNPV, pero se requieren realizar mas estudios para conocer con precisión cuales son los mecanismos que utiliza la célula para evitar una infección con baculovirus. Esto podría correlacionarse con la virulencia de cada cepa, en lo particular y con su potencial bioinsecticida.

## Agradecimientos

Esta investigación fue apoyada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) con la beca de Doctorado No. 1222981, con el proyecto CONAHCYT No. 140615 y el proyecto DAIP. UGTO No. 079/2024.

## LITERATURA CITADA

- Gutiérrez-Moreno, R., Mota-Sánchez, D., Blanco, C.A., Chandrasena, D., Difonzo, C., Conner, J., Head, G., Berman, K., and Wise, J. (2020). Susceptibility of Fall Armyworms (*Spodoptera frugiperda* J.E.) from Mexico and Puerto Rico to Bt Proteins. *Insects*, 11, 831.
- Hernández, I. A., Acevedo, F., Gálvez, A. (2020). Qué nos aportan los maíces. Biodiversidad mexicana. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de [https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/que-nos-aportan/N\\_maices](https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/que-nos-aportan/N_maices)
- Hernández-Trejo, A., Estrada-Drouaillet, B., Rodríguez-Herrera, R., García Girón, J. M., Patiño-Arellano, S.A. y Osorio-Hernández, E. 2019. Importancia del control biológico de plagas en maíz (*Zea mays* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10 (4), 803-813.
- Hussain, A. G., Wennmann, J. T., Goergen, J., Bryon, A., & 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>
- Hernández-Trejo, A., Osorio-Hernández, E., López-Santillán, J.A., Ríos-Velasco, C., Varela-Fuentes, S.E., & 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 (1), 9-14.
- Jehle, J. A., Blissard, G. W., Bonning, B. C., Cory, J. S., Herniou, E. A., Rohrmann, G. F., Theilmann, D. A., Thiem, S. M., & Vlak, J. M. (2006). On the

classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision. *Archives 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., & 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. *Archives of Microbiology*, 204(10), 598. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03222-z>
- Rangel Núñez, J.C., Vázquez Ramírez, M. F. & Del Rincón Castro, 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.
- Rios-Velasco,C., Berlanga-Reyes, D.I., Gallegos-Morales, G. and Del Rincón-Castro, M.C (2012). Characterization of baculovirus isolates obtained from soil by restriction fragment patterns. *African journal of microbiology research*, 6(21). <https://doi.org/10.5897/ajmr12.161>
- Rohrmann, G. 2011. Baculovirus molecular biology Second edition. Ed. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), NCBI. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK49500/>.
- Salvador, R., Niz, J., Pedarros, A. y Quintana, G. (2021). Utilización regional de baculovirus en el control de plagas hortícolas. *RIA*, 47(3), 354-360.
- Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (10 de marzo del 2023). Maíz, cultivo de México. [gob.mx. Recuperado de https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-cultivo-de-mexico](https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-cultivo-de-mexico)
- 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. & Jackson T. (2020). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8 (2), 128-149.
- Zanella-Sáenz, I., Herniou, E.A., Ibarra, J.E., Huerta-Arredondo, I.A., & Del Rincón-Castro, M.C. (2022). Virulence and genetic characterization of six baculovirus strains isolated from different populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Archives of Microbiology*, 204-108. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02722-8>.

