

Actividad biológica de *Bacillus thuringiensis* sobre la polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae)

López-Pazos S.A.,^{1, 2*}, Rojas A.², Chaparro-Giraldo A.²

¹ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, calle 28 N° 5B-02, PBX: (57-1) 241 8800, Bogotá D.C., Colombia. ² Grupo de Ingeniería Genética de Plantas, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14-490, Bogotá D.C., Colombia. * Autor para correspondencia: salopez@unicolmayor.edu.co

Actividad biológica de *Bacillus thuringiensis* sobre la polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae)

Abstract

The potato (*Solanum tuberosum*) is one of the most important crops in Colombia. Larvae of the Guatemalan potato moth *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae) cause direct damage to the tubers, producing economic losses and increased use of agrochemicals. *Bacillus thuringiensis* (Bt) is an alternative in the management of insect pests due to its specificity. Their activity depends on proteins known Cry, which when ingested by a susceptible insect form pores in their intestinal cells that cause death of the insect. This review presents studies on the effect of Bt to *T. solanivora*. It has been found that the Cry1Ac (basis for transgenic varieties) and Cry1B toxins have significant toxic activity. Also the experience of the design and evaluation of a hybrid toxin (Cry1B - Cry1I) which resulted in a significant lethality toward *T. solanivora*.

Keywords: *Tecia solanivora*, Cry protein, bioassay, transgenic plant.

Editor: Hernández J

Citation: López-Pazos SA, Rojas A, Chaparro-Giraldo A (2013) Actividad biológica de *Bacillus thuringiensis* sobre la polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). Revista Mutis. vol. 3 (2) pag. 31-42

Received: July 4, 2013; **Accepted:** October 28, 2013; **Published on line:** December 15, 2013

Copyright: ©2013 López-Pazos *et al.* This is an open-access article, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

Competing Interests: The authors have no conflict of interest

Resumen

La papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los cultivos más importantes de Colombia. Las larvas de la polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae), causan daños directos a los tubérculos, produciendo pérdidas económicas e incremento en el uso de agroquímicos. *Bacillus thuringiensis* (Bt) es una alternativa en el manejo de insectos plaga gracias a su especificidad. Su actividad depende de proteínas denominadas Cry, que cuando son ingeridas por un insecto susceptible forman poros en sus células intestinales que producen la muerte del insecto. Esta revisión presenta los estudios sobre el efecto de Bt hacia *T. solanivora*. Se ha encontrado que las toxinas Cry1Ac (base para variedades transgénicas) y



Cry1B tienen importante actividad tóxica. Igualmente se destaca la experiencia del diseño y evaluación de una toxina híbrida (Cry1B-Cry1I) que resultó en una importante letalidad hacia *T. solanivora*.

Palabras clave: *Tecia solanivora*, proteína Cry, ensayo biológico, planta transgénica.

Introducción

La economía de la papa (*Solanum tuberosum*) ha experimentado una rápida transformación, considerándose un ejemplo del dinamismo comercial de productos no tradicionales en el mundo. Con la aparición de nuevos mercados, se ha observado incremento, tanto en la rentabilidad de la producción como en el procesamiento de la papa (Linares & Gutiérrez, 2002). Colombia ocupa la posición 33 en producción y área sembrada a nivel mundial, desarrollándose este cultivo principalmente en la región andina (2.000 a 3.000 msnm y entre 10 a 15 °C) (FAOSTAT, 2013). Alrededor de 90.000 familias se benefician de este cultivo, aproximadamente 500.000 personas, el cultivo genera 20 millones de jornales directos. La producción comercial alcanza 170.000 hectáreas en nueve departamentos (1'847.145 toneladas en 2012), encabezando su producción el departamento de Cundinamarca, el cual aporta un 41,7 % de la producción nacional. Le siguen los departamentos de Boyacá y Nariño, con un aporte de 24,3 % y 17,5 % a la producción nacional respectivamente (MADR, 2012).

La alta variabilidad de los agroecosistemas donde se desarrollan los sistemas de producción de papa en la zona andina colombiana determina circunstancias variables que permiten la sobrevivencia de una gran cantidad de poblaciones de insectos plaga. Las condiciones de cada agroecosistema definen la abundancia de las poblaciones plaga, sus características, predominio y a menudo su manejo. En el agroecosistema papa el insecto plaga más importante, económicamente hablando, es la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae) debido a los daños que causa al tubérculo, ocasionando pérdidas directas hasta del 20 % (sin tener en cuenta mano de obra, manejo, productos entre otros, que pueden afectar hasta más del 60 %) dependiendo del nivel poblacional y de las estrategias de manejo (Carpio *et al.*, 2013, Niño, 2004, Espitia, 1999, Arias, 1997, Araque, 1993). Para su control los productores utilizan

insecticidas químicos, organofosforados y carbamatos principalmente, en muchos casos en exceso contribuyendo a incrementar los costos de producción del cultivo y los impactos negativos para el ambiente y la salud de los productores (Carpio *et al.*, 2013, Valderrama *et al.*, 2007, Niño, 2004, Osorio *et al.*, 2001, Torres *et al.*, 1989).

Bacillus thuringiensis (Bt) se ha usado durante más de un siglo como una opción importante en el manejo de algunos insectos plaga, incluyendo la generación de plantas transgénicas expresando resistencia a insectos. Es muy específico contra insectos susceptibles y es inocuo para el medio ambiente y entomofauna asociada. Tiene actividad hacia insectos del orden Lepidóptera, Coleóptera y Díptera entre otros (van Frankenhuyzen, 2009, Schnepf *et al.*, 1998). La actividad tóxica de la bacteria se atribuye ampliamente al efecto de proteínas denominadas Cry (del inglés *crystal*). Las toxinas Cry constituyen el factor de virulencia más importante de Bt (Soberon *et al.*, 2010, Pigott & Ellar, 2007). Muchos genes *cry* han sido expresados en plantas de maíz, algodón y arroz entre otros cultivos, confiriendo resistencia hacia plagas de insectos (Sanahuja *et al.*, 2011). Se han reportado varias toxinas Cry con actividad hacia insectos del orden Lepidóptera: Cry1 (Cry1a hasta Cry1K), Cry7B, Cry8D, Cry9, Cry15, Cry22A, Cry32A y Cry51A. La actividad biológica de la bacteria se ha podido constatar sobre especies de lepidópteros como *Plutella xylostella*, *Spodoptera exigua*, *Heliothis virescens*, *Manduca sexta*, *Trichoplusia ni*, *Ostrinia nubilalis*, *Helicoverpa armigera*, *H. zea* y *Bombyx mori*, entre otros (van Frankenhuyzen, 2009, Schnepf *et al.*, 1998). En esta revisión se describe el contexto agrícola relacionado con *T. solanivora*, con relevancia en las investigaciones para su control mediante la bacteria entomopatógena Bt en Colombia.

El cultivo de la papa

La papa (*Solanum tuberosum*) es una planta dicotiledónea, herbácea anual, que pertenece a la familia de las solanáceas. Esta planta produce tubérculos por engrosamiento del rizoma que son comestibles y cuyo consumo se ha difundido por todo el planeta. Se puede considerar al tubérculo de la papa como una parte del tallo que se ha adaptado para almacenar reservas y para la reproducción. El tubérculo se forma en el extremo del estolón (tallo lateral, normalmente subterráneo), como consecuencia de la acumulación de reservas que se produce por el rápido desarrollo

y división celular. La papa es originaria de Suramérica de la región sobre la cordillera de los Andes que abarca desde el norte de Chile hasta Colombia. En su centro de origen la papa fue domesticada y posteriormente difundida a Europa por los conquistadores españoles (Alonso, 2002).

Además de ser una planta comestible de agradables características sensoriales, sabor y color neutro, la papa es una importante fuente nutricional. La papa contiene diferentes tipos y cantidades de sustancias que son variables y están relacionadas con las condiciones de crecimiento y variedad. Su aporte nutricional radica principalmente en los carbohidratos derivados del almidón, que contribuyen con un 50 % de las kilocalorías diarias requeridas por el organismo, siendo una importante fuente de energía. Además es fuente de vitaminas como la tiamina, piridoxina, niacina y ácido ascórbico; minerales como el potasio y el fósforo; fibra dietaria en forma de pectina, compuestos antioxidantes como las antocianinas, y tiene un muy bajo contenido de grasas (Pertuz & del Castillo, 2013, Linares y Gutiérrez, 2002, Alonso, 2002). Existen dos grandes tendencias: una, hacia el consumo fresco donde Europa lleva la pauta; la otra tendencia se manifiesta en la sustitución progresiva del consumo de papa fresca por papa procesada (Linares & Gutiérrez, 2002, Scout *et al.*, 2002).

En el mundo se siembran alrededor de 22 millones de hectáreas en papa, una producción cercana a 300 millones de toneladas y un rendimiento promedio de 15 toneladas por hectárea. Este producto agrícola fue el tercero en consumo a nivel mundial, después del arroz y el trigo en el año 2009, según los últimos reportes de la FAO –Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura– (FAOSTAT, 2013). El producto llega a más de 1000 millones de consumidores de todo el mundo, la mitad habita en países en vías de desarrollo, cuya dieta básica incluye este tubérculo (Fedepapa, 2010, Moreno, 1996). Según los últimos reportes de la FAO, el principal productor de papa a nivel mundial es China, con una producción aproximada de 85'860.000 toneladas en el año 2012, seguido de la India y la Federación Rusa con 45'000.000 y 29'532.530 toneladas respectivamente. Colombia ocupa la posición 33 entre los países productores de papa, con una producción de 1'847.145 toneladas en 2012. El consumo de papa en alimentación humana está encabezado por Bielorrusia, Ucrania

y Polonia, con un consumo promedio de 182,8, 133,4 y 116,9 kg per cápita en el año 2009. El consumo en Colombia en el año 2009 se calculó en un promedio de 36,5 kg per cápita, siendo este el quinto producto agrícola consumido en el país (FAOSTAT, 2013).

En los 10 principales países productores, que representan dos terceras partes de la producción mundial, el valor total de la cosecha se estimó en 40.000 millones de dólares (Linares & Gutiérrez, 2002). La producción mundial de papa ha aumentando a una tasa media anual del 4,5 % en los últimos 10 años (FAO, 2006, Fedepapa, 2010). Hasta inicios del decenio de 1990, casi la totalidad de las papas se producían y consumían en Europa, América del Norte y en los países de la antigua Unión Soviética. Desde entonces se ha producido un aumento de la producción y la demanda de papa en los países en desarrollo, donde la producción aumentó a más de 100 millones de toneladas. En los próximos diez años se prevé que la mayor parte de la papa del mundo se cultivará en Asia, África y América Latina (Fedepapa, 2010, Linares & Gutiérrez, 2002; Scout *et al.*, 2002).

El cultivo de la papa en Colombia

La papa es un producto alimenticio fuertemente arraigado en la tradición culinaria colombiana, especialmente en las zonas sobre la cordillera de los Andes donde se concentra su producción. En 2011 se estimó la superficie cosechada en 170.978 ha, con un rendimiento de 18.462 kg/ha, según los últimos reportes del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR, 2012). El cultivo de papa se desarrolla en todos los departamentos de la Región Andina, encabezando su producción el departamento de Cundinamarca, el cual aporta un 41,7 % de la producción nacional. Le siguen los departamentos de Boyacá y Nariño, con un aporte de 24,3 % y 17,5 % a la producción nacional respectivamente (MADR, 2012).

En lo social unas 90.000 familias dependen directamente del cultivo, equivalente a unas 500.000 personas. El cultivo genera al año cerca de 20 millones de jornales directos y la producción comercial está localizada entre los 2.000 y 3.000 m de altura sobre el nivel del mar, y temperaturas desde 10 hasta 15 °C. Se caracteriza además por su alta demanda de mano de obra rural no calificada, y por ser un cultivo disperso, aislado, de pequeños productores con acceso limitado a la tecnología (FAO, 2006, Espinal *et al.*, 2006, Fedepapa, 2010).

Uso de agroquímicos en el cultivo de papa en Colombia

La papa es la actividad agrícola más sobresaliente de la zona fría andina en Colombia; es el cultivo de mayor demanda de insecticidas y fungicidas, y el segundo después del café en el uso de fertilizantes; es el producto agrícola que más transporte terrestre genera en el país. (FAO, 2006, Espinal *et al.*, 2006, Fedepapa, 2010). Los costos directos del cultivo corresponden al 83 % del costo total, dentro de los cuales el 57 % corresponde al gasto en insumos. Los fertilizantes constituyen el 40 % del valor de los insumos y 18 % del costo total, seguido por el costo de la semilla con el 23 % y los insecticidas con el 14 % del costo de los insumos. La mano de obra con el 62 % y el transporte con el 29 % corresponden a los otros costos directos (43 % de los costos directos), dejando tan solo un 9 % de los mismos a la preparación del suelo. El costo de la mano de obra se constituye en el ítem que mayor porcentaje representa de los costos totales, 22 %. En cuanto a los costos indirectos (17 % de costos totales), el mayor monto lo ocupan los costos financieros (38 %), seguido por los imprevistos (18 %). Se han encontrado sobrecostos por uso irracional de agroquímicos con niveles de entre 47 % y 60 %, que representan cerca del 10 % de los costos totales de producción (Espinal *et al.*, 2006, Fedepapa, 2010).

Plagas del cultivo

El cultivo de la papa es atacado por un gran número de insectos plaga que afectan la producción en forma directa, deteriorando la calidad comercial del producto. Estos insectos se pueden clasificar en dos grupos dependiendo de la estructura que ataquen y de sus hábitos. En el primer grupo están las plagas del suelo, las cuales atacan tubérculos, raíces y tallos; generalmente dañan las plantas jóvenes, trozándolas a ras del suelo o cortando sus raíces. Estos insectos son de hábitos nocturnos causando el daño principalmente en la noche. En el día muestran poca actividad y por lo general se resguardan en terrones de arena, basura, etc. Entre los insectos más destacados perteneciente a este grupo se encuentran: *Tecia solanivora* (la polilla guatemalteca de la papa), *Premnotrypes vorax* (gusano blanco de la papa), *Phthorimaea operculella* (la palomilla de papa) que actúan como minador de hojas y barrenador de tallo y tubérculos, *Ancognatha* sp. (la chiza), *Agrotis ipsilon* (trozadores), *Asymmathetes vulcanorum* (el tiroteador) y *Copitarsia consueta* (tierreros) (Gómez *et al.*, 2012, Pitre, 2005).

El segundo grupo de insectos lo componen aquellos que atacan el follaje, dañando estructuras como tallos, ramas y hojas, tales como *Lyriomiza quadrata*, *Peridroma saucia* y la pulgilla de la papa *Epitrix* sp. (Porras, 1999). En Colombia aproximadamente el 60 % de la producción agrícola de la papa (que incluye daño y sobrecostos asociados) se pierde debido a enfermedades y plagas. El efecto nocivo para el control de plagas de la papa mediante el uso de químicos aumenta, y el combate de estos insectos va produciendo el deterioro del medio ambiente (Pitre, 2005).

La polilla guatemalteca de la papa

T. solanivora Povolny (Lepidóptera: Gelechiidae) es una plaga de la papa originaria de Centroamérica. Sus larvas causan daños directos a los tubérculos de papa en campo y almacén, lo cual ocasiona pérdidas económicas por el rechazo del material afectado, además, contribuye al incremento del uso de agroquímicos y de costos de producción (Echeverría y Enríquez, 2006, OEPP/EPPO, 2005, Herrera, 1998, Niño, 2004). La descripción en taxonomía del insecto es como sigue:

- Phylum: Artropoda
- Clase: Insecta
- Orden: Lepidóptera
- Familia: Gelechiidae
- Tribu: Gnorimoschemine
- Genero y especie: *Tecia solanivora*

T. solanivora puede fácilmente adaptarse a diferentes condiciones climáticas, desde zonas subtropicales a 1.000 metros hasta los 3.500 metros. El insecto tiene un ciclo de vida de cuatro fases: huevo, larva, pupa y adulto; cada ciclo se completa en 60 a 65 días, según las condiciones ambientales. Al parecer la temperatura más favorable para su desarrollo es de 15 °C. A temperaturas de 16 a 29,5 °C el ciclo de vida puede durar de 35 a 50 días (7 a 10 generaciones al año), sin embargo a temperaturas de 12 a 15 °C el ciclo aumenta a 67 a 75 días (4 a 5 generaciones) (Echeverría y Enríquez, 2006, OEPP/EPPO, 2005, Notz, 1996, Araque, 1993).

- Huevo: los huevos son colocados individualmente o en grupos de cinco a seis. Al principio son de color

blanco-crema y cuantos están próximos a eclosionar su coloración es más oscura debido a la esclerotización de la cápsula cefálica de la larva visible a través del corion; la forma varía de acuerdo al tipo de oviposición siendo ovoides cuando son puestos en forma individual, y un poco más redondeada cuando son colocados en grupo (Echeverría & Enríquez, 2006, OEPP/EPPO, 2005, Herrera, 1998, Torres *et al.*, 1989).

- Larva: la larva es del tipo eruciforme. En el primer instar son de color blanco, midiendo aproximadamente 7,5 mm de largo y 0,2 mm de ancho; la cápsula cefálica es de color marrón con el borde y la sutura epicraneal marrón oscuro y el escudo protorácico un poco más claro que la cápsula cefálica. En el cuarto y último instar, la larva varía su coloración y se va tornando rosada dorsalmente manteniendo la coloración verdusca centralmente, en este instar la cápsula cefálica y el escudo protorácico son de color marrón más claro. Presenta en su quetotaxia una serie de máculas oscuras con sus respectivas setas primarias distribuidas en los segmentos torácicos y abdominales, la longitud de las larvas del último instar es de 17,0 mm por 3,0 mm de ancho (Echeverría & Enríquez, 2006; OEPP/EPPO, 2005; Herrera, 1998; Torres *et al.*, 1989).

- Prepupa y pupa: la prepupa presenta una coloración rosada-violácea en la parte dorsal y conserva la coloración verdusca en la parte ventral, con el tiempo la estructura cambia a marrón claro. La pupa toma una coloración marrón oscura o negra cuando los adultos están a punto de emerger. Las pupas forman un capullo de seda, al cual se juntan partículas de suelo, restos de papas, basura, etc. para cubrirse y protegerse. Pueden pupar dentro o fuera del tubérculo, miden aproximadamente 7,7 mm por 2,6 mm de ancho. Las pupas hembras son significativamente de mayor tamaño y peso que las pupas machos, midiendo un promedio de 8,0 mm de largo por 3,0 mm de ancho y un peso promedio 18,0 mg. Las pupas machos miden en promedio 7,6 mm de largo por 2,8 mm de ancho y un peso promedio de 10 mg (Echeverría & Enríquez, 2006, OEPP/EPPO, 2005, Herrera, 1998, Torres *et al.*, 1989).

- Adulto: el adulto presenta dimorfismo sexual tanto en tamaño como en coloración. Las hembras generalmente son más grandes y de color marrón más claro que los machos, con una línea longitudinal negra muy marcada en el ala anterior. La longitud promedio de las hembras es de 13,0 mm y la de los machos de 11

a 13 mm (Echeverría & Enríquez, 2006, OEPP/EPPO, 2005, Herrera, 1998, Torres *et al.*, 1989).

Las hembras depositan sus huevos preferiblemente sobre superficies rugosas o con depresiones, y en las grietas del suelo de las bases del tallo de las plantas. Las larvas al eclosionar caminan sobre el tubérculo y al percibir la luz se esconden dirigiéndose hacia la parte inferior, donde ubica el punto de penetración. Al principio, la larva comienza a alimentarse muy cerca del periderma o piel, penetrando después y formando las galerías en el interior del tubérculo, dejando esparcidos dentro de las galerías los excrementos. El consumo de la larva en el primer instar es bajo, en el tercer instar es cuando la larva profundiza más en el tubérculo, observándose este consumo hasta el inicio del último instar para luego declinar progresivamente e iniciar la fase de prepupa. El adulto tiene hábitos nocturnos. Durante el día permanece escondido y en las noches se observa mayor actividad. La hembra copula una sola vez entre las 24-48 horas después de emerger y por lo general en las primeras horas del amanecer, mientras los machos pueden copular hasta 6 veces siendo el período de preoviposición de 3,0 +/- 1,5 días. Se han registrado entre 156-360 huevos/hembra/ciclo con un máximo de 490 huevos en condiciones controladas de temperatura a 15 °C. El 90 % de los huevos es depositado entre los primeros 7 a 15 días después de la copula. La longevidad de los adultos fluctúa entre 15-25 días. La proporción de hembras es superior a los machos, con valores de 52 a 55 % de hembras. Se ha observado reiteradamente una mayor densidad poblacional de la plaga en los periodos más secos mientras que las bajas densidades de esta polilla han estado asociadas a altas precipitaciones (Echeverría & Enríquez, 2006, OEPP/EPPO, 2005, Herrera, 1998, Niño, 2004).

El primer informe como plaga de la papa se hizo en Guatemala en 1956, desde donde se dispersó en años subsiguientes hacia otros países centroamericanos como Costa Rica (1970), Panamá (1973), Honduras (1982) y Nicaragua (1989); y finalmente hacia los países suramericanos como Venezuela (1983), Colombia (1985) y Ecuador (1996), e incluso a África, descrito en las Islas Canarias (1999) (Torres-Leguizamón *et al.*, 2011). La plaga se detectó en Colombia por primera vez en el municipio de Chitagá, vereda Carbón, en una variedad de papa mexicana, traída de Venezuela. *T. solanivora* ha causado grandes daños económicos, desde

su llegada a Colombia, en las áreas de producción. Se estiman pérdidas del 50 % en regiones como Norte de Santander, Cundinamarca y Boyacá. Para 1996 en Boyacá se registraron pérdidas de 6.720 millones de pesos. Hasta de un 100 % se estiman las pérdidas de semillas sin manejo adecuado (OEPP/EPPO, 2005, Niño, 2004, Espitia, 1999, Arias, 1997, Araque, 1993).

Los métodos de control de *T. solanivora* son culturales, etológicos, químicos y biológicos. El control cultural conlleva una serie de prácticas para destruir las fuentes de infestación de la plaga, crear condiciones desfavorables para su desarrollo e interrumpir la sucesión de generaciones. Para esto se usa un manejo adecuado del suelo, uso de semilla sana, cosecha oportuna, evitar dejar residuos poscosecha, rotación de cultivos y selección de variedades vegetales tolerantes (Ordoñez *et al.*, 2012). El control etológico comprende el uso de trampas con feromona sexual para la interrupción de su proceso de apareamiento (Bosa *et al.*, 2005). El control químico se ha recomendado como una medida complementaria, debido a que su espectro no es 100 % específico, además de que ocasiona daños ambientales (Raven, 2010). En el control biológico se usan los enemigos naturales de la plaga, por ejemplo chinches (Hemíptera: Anthocoridae) como *Buchananiella contigua* y *Lyctocoris campestris*, ambos depredadores de huevos y larvas; *Apanteles* sp. (parasitoide larva-larva) y *Trichogramma* sp. (Himenóptera: Trichogrammatidae) (parasitoide de huevos). Se han encontrado otros parasitoides (Díptera: Tachinidae) y depredadores ocasionales (Araneae: Lycosidae, Salticidae; Coleóptera: Carabidae, Coccinellidae, Staphylinidae, Tenebrionidae). Otras estrategias en control biológico de esta plaga incluyen el uso de microorganismos o virus entomopatógenos como el granulovirus (Carpio *et al.*, 2013, Quiroga *et al.*, 2011), nemátodos y bacterias (Valderrama *et al.*, 2007, Niño, 2004, Osorio *et al.*, 2001).

Bt y su uso como controlador de insectos plaga

Bt es un bacilo ubicuo, Gram positivo, nativo del suelo, que se caracteriza por formar un cristal paraesporal durante la fase estacionaria de su ciclo de crecimiento. Bt se ha caracterizado por ser un patógeno de insectos y su actividad insecticida se atribuye, amplia o completamente (dependiendo del insecto) a sus cristales paraesporales compuestos principalmente de proteínas denominadas Cry. Las proteínas Cry tienen actividad tóxica hacia larvas de insectos plaga de los órdenes Le-

pidóptera, Díptera, Coleóptera, Hemíptera, Himenóptera y Malófaga (Nielsen-LeRoux *et al.*, 2012, Bravo *et al.*, 2011, Soberon *et al.*, 2010, Roh *et al.*, 2007, Porcar & Juárez-Pérez, 2003, Schnepf *et al.*, 1998). Bt es habitante de muchos ambientes como suelo, insectos, polvo de productos almacenados, residuos y coníferas. La importante diversidad de las cepas y toxinas de Bt se debe, al menos en parte, a su alto grado de plasticidad genética debido a que la mayoría de los genes *cry* parecen residir en plásmidos conjugativos (Schnepf *et al.*, 1998). En 1998, Crickmore *et al.* propusieron una nomenclatura basada en el grado de divergencia evolucionaria de las secuencias de aminoácidos, que permite entrever su función (aunque no se puede confirmar sin ensayos biológicos) para la correspondiente asignación de una denominación. A la fecha se encuentran más de 700 toxinas Cry clasificadas dentro de 72 grupos (Crickmore, 2013).

Mecanismo de acción de las proteínas Cry

Las toxinas Cry constituyen el factor de virulencia más importante de Bt. Cuando son ingeridas por un insecto susceptible se solubilizan liberando las subunidades Cry que son activadas proteolíticamente en el intestino medio de este, luego se da la unión de la toxina Cry activada a receptores específicos (caderinas, aminopeptidasas N, fosfatasas alcalinas, proteínas de 205 y 270 kDa, y glucolípidos entre otros) y acto seguido forman poros que alteran el potencial de membrana, resultando en lisis celular. La destrucción tisular permite la mezcla del contenido del tubo digestivo con la hemolinfa que, junto con el efecto del pH, favorece la germinación de esporas bacterianas, generando una septicemia (Nielsen-LeRoux *et al.*, 2012, Vachon *et al.*, 2012, Soberon *et al.*, 2010, Pigott & Ellar, 2007).

Proteínas Cry híbridas

Las toxinas Cry poseen tres dominios: el dominio I consiste en un paquete de siete alfa-hélices antiparalelas, donde la hélice 5 está rodeada por las demás; el dominio II consta de 3 láminas antiparalelas beta distribuidas en una típica topología de "llave griega", acomodada en lo que se ha llamado un beta-prisma; el dominio III consiste de 2 láminas beta antiparalelas dobladas formando un beta-sándwich. Las grandes hélices, hidrofóbicas y anfipáticas, del dominio I sugieren que este dominio puede ser responsable para la formación de poros en el epitelio intestinal del organismo susceptible. Los *loops* de superficie expuestos

en los ápices de las tres láminas beta del dominio II, debido a que presentan similitudes a los sitios de unión antígeno-anticuerpo, son la región de la proteína que se encarga de reconocer y unirse al receptor. La estructura de beta-sándwich del dominio III juega varios papeles en la bioquímica de la toxina, está involucrada en el mantenimiento de la integridad estructural de la toxina ante la proteólisis en el intestino del insecto, participa en la unión al receptor, penetración en la membrana y formación de canales iónicos (Vachon *et al.*, 2012, Bravo *et al.*, 2011, Roh *et al.*, 2007, Schnepf *et al.*, 1998).

Varios estudios han demostrado que el desarrollo de proteínas Cry híbridas puede generar toxinas de mayor actividad y espectro más amplio, en estas experiencias se diseñaron proteínas Cry donde las secuencias codificantes de los dominios I, II y III fueron intercambiados con sus contrapartes, identificándose mayor letalidad o diferente especificidad en los híbridos resultantes (Karlova *et al.*, 2005). Ya existen cultivos transgénicos basados en genes *cry* híbridos, un ejemplo es la línea transgénica de papa expresando un híbrido Cry1B-Cry1I (Naimov *et al.*, 2003).

Transgénesis vegetal con proteínas Cry: el cultivo de la papa

La ingeniería genética se ha utilizado para la introducción de genes de Bt en cultivos, con el fin de conferir resistencia a insectos plaga (Sanahuja *et al.*, 2011). La primera planta Bt se desarrolló hacia 1987 con tabaco (*Nicotiana tabacum*) para controlar larvas de primer instar de *M. sexta* (Barton *et al.*, 1987). Se produjo algodón resistente a plagas de insectos donde la secuencia codificante para las proteínas Cry1Ab y Cry1Ac fue modificada para aumentar los niveles de expresión hasta alcanzar porcentajes de entre 0,5 y 0,1 % del total de proteína soluble (Perlack *et al.*, 1990). El grupo de Fujimoto transformó arroz con el gen *cr-1Ab* (Fujimoto *et al.*, 1993). Desde allí las proteínas Cry han sido transferidas y expresadas en más de 20 diferentes especies de plantas (USPTO, 2013, Shelton 2012, Cerón, 2004) (Tabla 1). Estos cultivos presentaron una disminución importante en uso de plaguicidas químicos dejando ganancias promedio de 60 millones de dólares para algodón y entre 19 y 190 millones para maíz.

Tabla 1. Cultivos transgénicos que expresan genes *cry* (Cerón, 2004).

Proteína	Insecto susceptible	Planta transformada
Cry1Aa	Lepidóptero	Arándano, álamo.
Cry1Ab	Lepidóptero	Algodón, maíz, maíz dulce, manzana, arandino, papa, arroz, tabaco, trébol blanco, arveja, habichuela.
Cry1Ac	Lepidóptero	Brócoli, manzana, col, algodón, uva, aceite de colza, cacahuate, papa, arroz, soya, tabaco, tomate, nuez.
Cry1Ba	Lepidóptero	Trébol blanco.
Cry1Ca	Lepidóptero	Alfalfa, tabaco.
Cry1H	Lepidóptero	Maíz.
Cry2Aa	Lepidóptero	Algodón.
Cry3A	Coleóptero	Berenjena, papa, tabaco.
Cry6A	Coleóptero	Alfalfa.
Cry9C	Lepidóptero	Maíz.

En plantas de papa se han desarrollado transgénicos usando genes *cry* desde varios años atrás. Se produjeron plantas de papa transgénica utilizando el gen *cry3* con el fin de controlar el coleóptero plaga *L. decemlineata* (Say) (Adang *et al.*, 1993). En el mismo año se introdujo el gen *cry3A* en la variedad de papa Russet Burbank para protegerla del mismo coleóptero plaga (Perlak *et al.* 1993). En 1996 se reportó la transformación de plantas de papa con el gen *cry1Aa* utilizando el promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor, y su expresión fue confirmada en tejido foliar de la planta (Chan *et al.*, 1996).

Proteínas Cry contra *T. solanivora*

Se han descrito varias toxinas Cry con letalidad para insectos lepidópteros: Cry1 (Cry1a hasta Cry1K), Cry7B, Cry8D, Cry9, Cry15, Cry22A, Cry32A y Cry51A. La actividad biológica de la bacteria se ha podido constatar sobre especies de lepidópteros como *P. xylostella*, *S. exigua*, *H. virescens*, *M. sexta*, *T. ni*, *O. nubilalis* o *B. mori* (van Frankenhuyzen, 2009).

En el contexto de la bacteria entomopatógena Bt y *T. solanivora*, un primer estudio identificó cepas colombianas con actividad hacia *T. solanivora* en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) (Pérez *et al.*, 1997). Posteriormente, se determinó la especificidad de la toxina Cry1Ac sobre la polilla guatemalteca de la papa (Martínez *et al.*, 2003) conocimiento que permitió la transformación genética de tres variedades de papa (*S. tuberosum* subsp. *andigena*) con el gen sintético *cry1Ac* (Valderrama *et al.*, 2007).

Por otro lado, se ha identificado la actividad biológica de las proteínas recombinantes Cry1Aa, Cry1Ac, Cry1B y Cry1C sobre la plaga (Pitre *et al.*, 2008). A diferencia del trabajo de Martínez *et al.* (2003) que usaron cepas recombinantes de *Escherichia coli*, que expresaban las proteínas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1B, Cry1C, Cry1D y Cry1E y cuyos resultados mostraron toxicidad mayor de la proteína Cry1Ac respecto a las demás proteínas evaluadas (porcentaje de mortalidad del 20 % a una concentración de 4,37 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), la investigación de Pitre *et al.* (2008) determinó una concentración letal 50 (CL50) de 0,107 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, donde la diferencia se basó en que las proteínas Cry estaban activadas, mediante la liberación del fragmento carboxi-terminal dejando la fracción tóxica (mediante tratamiento con proteasas), y con un nivel mayor de purificación (cromatografía), lo cual le conferiría una mayor letalidad, debido a que la proteólisis de la

protoxina se ha realizado favoreciendo el reconocimiento del receptor. Posteriormente, se encontró que la toxina Cry1B y la proteína híbrida Cry1B-Cry1I (una modificación a un híbrido Cry1B/Cry1I en el dominio II) tiene alta actividad hacia el insecto, con una concentración letal 50 de aproximadamente 300 ng/cm^2 (López-Pazos *et al.*, 2010).

Cañedo *et al.* (2002) propusieron evaluar en campo una variedad transgénica (parda pastusa), producida en el Centro Internacional de la Papa (CIP) (Cañedo *et al.*, 1999), la cual fue transformada con el gen *cry1Ab*, para evaluar su efectividad en el control de polilla guatemalteca. Previamente esta variedad demostró ser efectiva en el control de otros lepidópteros plaga de la papa como *Phthorimaea operculella* y *Symmetrischema tangolias* (Cañedo *et al.*, 1999). En 2007, Valderrama *et al.* desarrollaron líneas transgénicas de las variedades diacol capiro, parda pastusa y pandeazúcar, las cuales expresaban el gen *cry1Ac*. Los tubérculos obtenidos en este estudio exhibieron una mortalidad de entre 83,7 y 100 % sobre larvas de polilla guatemalteca. En estudios posteriores se encontró que las variedades desarrolladas por Valderrama *et al.* (2007) tienen un elevado nivel de expresión del transgen. La expresión del gen *cry* en estas líneas es constitutiva (lo aconsejable sería que su expresión fuese en el tubérculo) lo que podría suponer problemas de bioseguridad al liberar la planta comercialmente (Vanezas *et al.*, 2010). En 2012 se desarrolló una variedad androestéril de papa (pastusa suprema) transformada con el gen *cry1Ac*, la cual conferiría a la planta la resistencia a la plaga y además disminuiría los riesgos de bioseguridad de su liberación (Torres *et al.*, 2012).

Perspectiva

Se desconoce el potencial de otros genes activos contra lepidópteros sobre *T. solanivora*. Nuevos híbridos, por intercambio de dominio II de genes *cry* no se han desarrollado en nuestro país, lo cual ha demostrado ser una estrategia relevante en el manejo de insectos plaga en el mundo (Walters *et al.*, 2010, Naimov *et al.*, 2001, de Maagd *et al.*, 2003, Naimov *et al.*, 2003). Con respecto a plantas transgénicas de papa con proteínas híbridas es menor la cantidad de reportes. Naimov *et al.* (2003) reportaron el desarrollo de una planta transgénica de papa variedad desiree con un gen híbrido *cry1Ba/cry1Ia*, la cual mostró resistencia dual contra insectos coleópteros y lepidópteros. En este sentido es de importancia el desarrollo de nuevas estrategias basadas en proteínas Cry para el control de *T. solanivora* en Colombia.

Referencias

- Adang, M. J., Brody, M. S., Cardineau, G., Eagan, N., Roush, R. T., Shewmaker, C. K., Jones, A., Oakes, J. V., & McBride, K. E. (1993). The reconstruction and expression of a *Bacillus thuringiensis cry IIIA* gene in protoplasts and potato plants. *Plant Molecular Biology*, 21(6), 1131-1145.
- Alonso, F. (2002). *El cultivo de la papa*. Madrid, España: Editorial Mundi-Prensa. P. 495.
- Araque, C. T. (1993). El gusano guatemalteco de la papa *Tecia solanivora* (Povolny) Lepidoptera Gelechiidae. *Revista papa*, 9, 14-18.
- Arias R. J. (1997). Manejo integrado de plagas: El caso de la polilla gigante de la papa *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae) en Antioquia. En *Seminario Experiencias y Avances en el Manejo de la Polilla Guatemalteca de la Papa*. Bogotá, Colombia: Sociedad Colombiana de Entomología. Comité Regional Cundinamarca.
- Barton, K. A., Whiteley, H. R., & Yang, N. S. (1987). *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin expressed in transgenic *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. *Plant. Physiol.*, 85, 1103-1109.
- Bosa, F., Witzgall, P., Cotes, A. M., Fukumoto, T., & Barreto, N. (2005). Evaluacion de la tecnica de la interrupcion de la copula de *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 31(2), 145-150.
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S. S., & Soberón, M. (2011). *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochem Mol Biol.*, 41, 423-431.
- Cañedo, V., Benavides, J., Golmirzaie, A., Cisneros, F., Ghislain, M., & Lagnaoui A. (1999). Assessing Bt-transformed potatoes for potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller), management. En *Impact on a Changing World: Program report 1997-98* (pp. 161-169). Lima, Peru: Centro Internacional de la Papa.
- Cañedo, V., Barreto, N., & Lagnaoui, A. (2002). Propuesta de liberación de plantas transgénicas para resistencia a la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae) en Colombia. En A. Pollet, G. Onore, F. Chamorro & A. Barragán (Eds.), *Memorias II taller internacional de polilla guatemalteca* (pp. 199-206). Quito, Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Carpio, C., Dangles, O., Dupas, S., Léry, X., López-Ferber, M., Orbe, K., Páez, D., Rebaudo, F., Santillán, A., Yangari, B., & Zeddám, J. L. (2013). Development of a viral biopesticide for the control of the Guatemala potato tuber moth *Tecia solanivora*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 112, 184-191.
- Cerón, J. 2004. Productos comerciales: nativos y recombinantes. En A. Bravo & J. Cerón (Eds.), *Bacillus thuringiensis* en el control biológico (pp. 123-147). Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Chan, M. T., Chen, L. J., & Chang, H. H. (1996). Expression of *Bacillus thuringiensis* (B.t.) insecticidal crystal protein gene in transgenic potato. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 37, 17-23.
- Crickmore, N., Zeigler, D. R., Feitelson, J., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., & Dean, D. H. (1998). Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62, 807-813.
- Crickmore, N., Zeigler, D. R., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Bravo, A. & Dean, D. H. (2013) "Bacillus thuringiensis toxin nomenclature". [en línea]. http://www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/. (Consulta: Noviembre, 2013).
- de Maagd, R. A. Weemen-Hendriks M., Molthoff J. W., & Naimov S. (2003). Activity of wild-type and hybrid *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins against *Agrotis ipsilon*. *Arch. Microbiol.*, 179, 363-367.
- Echeverría B., & Enríquez L., 2006. Determinación de parámetros técnicos para la crianza masiva de la polilla de la papa (*Tecia solanivora*, Povolny) en la provincia del Carchi con proyección a la producción de Baculovirus. Tesis de grado. Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales. Ecuador. P. 126.
- Espinal, C. F., Martínez-Covalada, H., Pinzón-Ruiz, N., & Barrios-Urrutia, C. A. (2006). *La cadena de la papa en Colombia: una mirada global de su estructura y dinámica*. Ministerio de Agricultura y Desa-

- rrollo Rural-Observatorio Agrocadenas Colombia 1991-2005.
- Espitia, M. E. (1999). Hacia un manejo integrado de la polilla guatemalteca en Colombia. *Memorias XXVI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología*. Bogotá, D.C. p. 228 -238.
- FAO - Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación. (2006). Tesoro enterrado: la papa. Enfoques. [en línea]. <http://www.fao.org/AG/esp/revista/0611sp1.htm>
- FAOSTAT (Base de datos estadísticos sustantivos de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)). Estadísticas de Producción de Productos Alimentarios y Agrícolas [en línea]. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. (Consulta: noviembre, 2013).
- Fedepapa - Federación Colombiana de Productores de Papa. (2010). Acuerdo de competitividad de la cadena agroalimentaria de la papa en Colombia. [en línea]. <http://www.fedepapa.com/wp-content/uploads/pdf/ACUERDO-COMPETITIVIDAD-CADENA-AGROALIMENTARIA-PAPA.pdf> (Consulta: noviembre, 2013).
- Fujimoto, H., Itoh, K., Yamamoto, M., Kyojuka, J., & Shimamoto, K. (1993). Insect resistant rice generated by introduction of a modified delta-endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis*. *Bio-Technology*, *11*, 1151-1155.
- Gómez, J. E., López-Pazos, S. A., & Cerón, J. (2012). Determination of Cry toxin activity and identification of an aminopeptidase N receptor-like gene in *Asymmathetes vulcanorum* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, *111*, 94-98.
- Herrera F. 1998. La polilla guatemalteca de la papa. Biología, comportamiento y prácticas de manejo integrado. Ministerio De Agricultura y Desarrollo Rural-Corpoica-ICA-Fedepapa. P. 15.
- Karlova, R., Weemen-Hendriks, M., Naimov, S., Cerón, J., Dukiandjiev, S., & de Maagd, R. A. (2005). *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin Cry1Ac domain III enhances activity against *Heliothis virescens* in some, but not all Cry1-Cry1Ac hybrids. *J Invertebr Pathol.*, *88*, 169-172.
- Linares Y., & Gutiérrez A. (2002). El mercado mundial de la papa. *Aldea mundo*. *5*, 59-69.
- López-Pazos, S. A., Rojas Arias, A. C., Ospina, S. A., & Cerón, J. (2010). Activity of *Bacillus thuringiensis* hybrid protein against a lepidopteran and a coleopteran pest. *FEMS Microbiology Letters*, *302*, 93-98.
- MADR – Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2012). Anuario Estadístico del Sector Agropecuario 2011. [en línea]. <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/Anuario/AnuarioEstadistico2011.pdf>. (Consulta: noviembre, 2013).
- Martínez, W., Uribe, D., & Cerón, J. (2003). Efecto tóxico de proteínas Cry1 de *Bacillus thuringiensis* sobre larvas de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Colombiana de Entomología*, *29*, 89-93.
- Moreno, J. D. (1996). Problemática del cultivo de la papa en Cundinamarca y Boyacá. Curso Internacional sobre manejo integrado de plagas de la papa. Paipa, Boyacá, junio de 1996, 15 pp.
- Naimov, S. Weemen-Hendriks, M., Dukiandjiev, S., & de Maagd, R. A.. (2001). *Bacillus thuringiensis* Delta-Endotoxin Cry1 Hybrid Proteins with Increased Activity against the Colorado potato beetle. *Appl. Environ. Microbiol.*, *67*, 5328-5330.
- Naimov, S., Dukiandjiev, S., & de Maagd, R. A.. (2003). A hybrid *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin gives resistance against a coleopteran and a lepidopteran pest in transgenic potato. *Plant Biotechnology Journal*, *1*, 51-57.
- Nielsen-LeRoux, C., Gaudriault, S., Ramarao, N., Lereclus, D., & Givaudan, A. (2012). How the insect pathogen bacteria *Bacillus thuringiensis* and *Xenorhabdus/Photorhabdus* occupy their hosts. *Current Opinion in Microbiology*. *15*, 220-231.
- Niño, L. (2004). Revisión sobre la Polilla de la Papa *Tecia solanivora* en Centro y Suramérica. *Suplemento Revista Latinoamericana de la papa*. 4-21.
- Notz, A. (1996) Influence of temperature on the biology of *Tecia solanivora* (Polvony) (Lepidoptera: Gelechiidae) on potato *Solanum tuberosum* L. tubers. *Boletín de Entomología Venezolana*, *11(1)*, 49-54.

- OEPP/EPPO. (2005). *Tecia solanivora*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 35, 399-401.
- Ordoñez, M. F., Rosero, J. F., & Bacca, T. (2012). Resistencia de cinco variedades de *Solanum* spp., solanaceae al ataque de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural Universidad de Caldas*, 16(1), 108-119.
- Osorio, P. A., Espitia, E., & Luque, E. (2001). Reconocimiento de enemigos naturales de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en localidades productoras de papa en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 27, 177-185.
- Pérez, O., Rodríguez, A., & Cotes, A. (1997). Método rápido y confiable para evaluar la actividad insecticida de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* contra *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 23 (3-4), 113-118.
- Perlak, F. J., Stone, T. B., Muskopf, Y. M., Petersen, L. J., Parker, G. B., McPherson, S. A., Wyman, J., Love, S., Reed, G., Biever, D., & Fischhoff, D. A. (1993). Genetically improved potatoes: protection from damage by Colorado potato beetles. *Plant molecular biology*, 22(2), 313-321.
- Pertuz, S. L., & del Castillo, S. E. (2013). Composición, valor nutricional y tendencias. *Revista Papa*, 28, 4-9.
- Pigott C. R., & Ellar D. J. (2007). Role of Receptors in *Bacillus thuringiensis* Crystal Toxin Activity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71, 255-281.
- Pitre, L. (2005). Determinación *in vitro* de la toxicidad de las delta-endotoxinas recombinantes Cry1Aa, Cry1Ac, Cry1B y Cry1C, de *Bacillus thuringiensis* sobre larvas de primer instar de *Tecia solanivora*. Tesis de Maestría. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá-Colombia.
- Pitre, L., López, A., Hernández, J., & Bernal, J. (2005). Estandarización de una dieta seminatural para la evaluación de la actividad tóxica de *Bacillus thuringiensis* sobre larvas de *Tecia solanivora* (Povolny). *El Astrolabio*, 5(1), 46-54.
- Pitre, L., Hernández-Fernández, J., & Bernal, J. (2008). Toxicidad de δ -endotoxinas recombinantes de *Bacillus thuringiensis* sobre larvas de la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10, 85-96.
- Porcar, M., & Juárez-Pérez, V. (2003). PCR-based identification of *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal genes. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 419-432.
- Porras, P. (1999). La papa en Colombia: Desarrollo de una cadena agroalimentaria estratégica. *Revista Papa*, 20, 20-26.
- Quiroga, I., Gómez, M., & Villamizar, L. (2011). Estabilidad de formulaciones a base de granulovirus para controlar *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en campo. *Revista Colombiana de Entomología*, 37(1), 27-35
- Raven, P. H. (2010). Does the use of transgenic plants diminish or promote biodiversity? *New Biotechnology*. 27, 528-533.
- Roh, J. Y., Choi, J. Y., Li, M. S., Jin, B. R., & Je, Y. H. (2007). *Bacillus thuringiensis* as a Specific, Safe, and Effective Tool for Insect Pest Control. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 17, 547-559.
- Sanahuja, G., Banakar, R., Twyman, R. M., Capell, T., & Christou, P. (2011). *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. *Plant Biotechnol J.*, 9, 283-300.
- Shelton A. M. (2012). Genetically engineered vegetables expressing proteins from *Bacillus thuringiensis* for insect resistance: successes, disappointments, challenges and ways to move forward. *GM Crops & Food*. 3, 175-183.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R., & Dean, D. H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62, 775-806.
- Scout, G. J., Rosegrant, M. W., & Ringler, C. (2002). Una visión de la alimentación, la agricultura y el medio ambiente en el año 2020 (traducción del inglés). *International Food Policy Research Institute*. Resumen 2020 N° 66.

- Soberón, M., Pardo, L., Muñoz-Garay, C., Sánchez, J., Gómez, I., Porta, H., & Bravo, A. (2010). Pore formation by Cry toxins. *Adv Exp Med Biol.*, 677, 127-142.
- Torres, E. S., Torres, J., Moreno, C., & Arango, R. (2012). Development of transgenic lines from a male-sterile potato variety, with potential resistance to *Tecia solanivora* Povolny. *Agronomía Colombiana*, 30(2), 163-171.
- Torres F. (1989). Algunos aspectos de la biología y comportamiento de la polilla de la papa *Scrobipalopsis solanivora* Povolny 1.973, (Lepidoptera: Gelechiidae) en el estado Táchira, Venezuela. Tesis MSc. en Entomología, Fac. Agron. Universidad Central de Venezuela, 86 p.
- Torres-Leguizamón, M., Dupas, S., Dardon, D., Gómez, Y., Niño, L., Carnero, A., Padilla, A., Merlin, I., Fos-soud, A., Zeddám, J. L., Lery, X., Capdevielle-Dulac, C., Dangles, O., & Silvain, J. F. (2011). Inferring native range and invasion scenarios with mitochondrial DNA: the case of *T. solanivora* successive north-south step-wise introductions across Central and South America. *Biol Invasions*, 13, 1505-1519.
- USPTO - The United States Patent and Trademark Office. (2013). Herramienta de búsqueda de patentes en línea. [en línea]. <http://www.uspto.gov/patents/process/search/index.jsp>. (Consulta: noviembre, 2013).
- Vachon, V. Laprade R, & Schwartz J. L. (2012). Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: a critical review. *Journal of Invertebrate Pathology*. 111, 1-12.
- Valderrama, A. M., Velásquez, N., Rodríguez, E., Zapata, A., Zaidi, M. A., Altosaar, I., & Arango, R. (2007). Resistance to *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) in three transgenic Andean varieties of potato expressing *Bacillus thuringiensis* CryIAC protein. *Journal of Economic Entomology*, 100, 172-179.
- van Frankenhuyzen K. (2009). Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*, 101, 1-16.
- Vanegas, P. A., Blanco, J. T., & Chaparro-Giraldo, A. (2010). Expresión de la proteína Cry1Ac en tejidos de líneas transgénicas de papa (*Solanum tuberosum* spp. Andígena) Var. Diacol Capiro. *Acta Biológica Colombiana*, 15(2), 101-114.
- Walters F. S., de Fontes C. M., Hart H., Warren G. W., & Chen J. S. (2010). Lepidopteran-Active Variable-Region Sequence Imparts Coleopteran Activity in eCry3.1Ab, an Engineered *Bacillus thuringiensis* Hybrid Insecticidal Protein. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76, 3082-3088.