

Toxicidad biológica de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* Berliner en larvas de *Tecia solanivora* Povolny

Biological toxicity of native strains of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) against *Tecia solanivora* Povolny larvae

Paola Martínez¹ y Wilson Martínez²

Resumen

La biodiversidad microbiológica de los suelos del departamento de Boyacá aún no ha sido explorada en toda su magnitud y existen microorganismos, como en el caso de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), que pueden emplearse para el desarrollo de estrategias biológicas de control de plagas en el futuro. Por lo anterior, el presente trabajo evaluó la actividad biológica, expresada como toxicidad, de cepas nativas de *B. thuringiensis* en la Polilla Guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolny, una de las plagas más limitantes en el cultivo de papa en la región andina colombiana. Esta evaluación se realizó con aislados de Bt obtenidos y conservados por el Grupo de Manejo Biológico de Cultivos (GMBC) en el Laboratorio de Control Biológico de la UPTC, colectados de muestras de suelo en la Provincia Centro de Boyacá y previamente caracterizados macro y microscópicamente. La toxicidad se evaluó

Abstract

Boyacá's soils have a microbiological biodiversity that is not completely explored yet. That is the case of *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), which could be employed in the future as a plague-control strategies. Present work tested the biological activity of Bt native strains (expressed as toxicity) in *Tecia solanivora* Povolny, one of the most restrictive factors in the complex potato productions in the andina area from Colombia. This evaluation was performed with Bt isolates got and conserved by the Harvest Biological Handling Group (HBHG) in the Biological Control Laboratories from the UPTC, collected from soils samples coming from the center of Boyacá. They were previously characterized micro and microscopically. Toxicity was tested through bio-essays with *T. solanivora* larvae, using the superficial contamination method. The mortality was observed eight days after the bio-essay, as

¹ Ingeniero Agrónomo, Grupo Manejo Biológico de Cultivos (GMBC), Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. Correo: lupamapa06@yahoo.com

² Docente Investigador, Grupo Manejo Biológico de Cultivos (GMBC), Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. Correo: wilsonmarti@yahoo.es; john.martinez@uptc.edu.co

mediante bioensayos con larvas de primer instar de *T. solanivora*, utilizando el método de contaminación superficial de cubos de papa. Se evaluó la mortalidad ocho días después de montado el bioensayo y se determinó, igualmente, la Concentración letal media (Cl_{50}) de las cepas que presentaron la mayor actividad tóxica en los bioensayos iniciales. Los aislamientos GMBC-B054, GMBC-B071, GMBC-B076, GMBC-B098, GMBC-B111 y GMBC-B117 fueron los más activos, con Cl_{50} de 1.08×10^6 , 4.24×10^6 , 5.12×10^6 , 4.36×10^3 , 3.56×10^3 y 1.19×10^4 esporas $\cdot mL^{-1}$, respectivamente.

Palabras clave: esporas, bioensayos, mortalidad, concentración letal media.

the Mid Lethal Concentration (LC_{50}) was measured too. Last parameter was performed in those strains that had the higher toxic activity in the initial essays. GMBC-B054, GMBC-B071, GMBC-B076, GMBC-B098, GMBC-B111 and GMBC-B117 essays were the most active, showing these LC_{50} : 1.08×10^6 , 4.24×10^6 , 5.12×10^6 , 4.36×10^3 , 3.56×10^3 and 1.19×10^4 (spores $\cdot mL^{-1}$) respectively.

Key words: bio-essays, Mid lethal concentration, mortality, spores

Introducción

Desde el descubrimiento de *Bacillus thuringiensis* Berliner en el siglo pasado, esta bacteria se ha convertido en el entomopatógeno más empleado a nivel mundial, con ventas que representan más del 90% del mercado de bioplaguicidas. La creciente demanda en el mercado de productos de baja trazabilidad exige alternativas de manejo encaminadas hacia el control de plagas, amigables con el ambiente e inocuas para la salud humana; por tal razón, el uso de productos a base de esporas y cristales de *Bacillus thuringiensis* se presenta como una alternativa que, en el marco de un manejo integrado y uso de buenas prácticas agrícolas, puede presentar alta eficiencia. Así, se hace indispensable el reconocimiento de la gran biodiversidad nativa que presenta esta bacteria en el país y, además, determinar la potencialidad de su uso, mediante bioensayos que permitan evaluar niveles de toxicidad y seleccionar las cepas de mayor actividad, para llegar a desarrollar, en un futuro bioinsecticidas con eficiencias similares o mayores a los productos comerciales disponibles actualmente en el mercado nacional.

Bacillus thuringiensis (Bt) es una bacteria Gram-positiva, aerobia estricta; su ciclo de vida presenta dos fases principales: la fase de crecimiento vegetativo, en donde las bacterias se duplican por bipartición cada 30-90 min dependiendo del medio de cultivo y la fase de esporulación, la cual es un programa de diferenciación de bacteria a espora (Soberón y Bravo, 2000). Esta bacteria presenta un cuerpo paraesporal conocido como cristal, el cual es de naturaleza proteica, con propiedades insecticidas, debidas a los genes Cry que lo codifican, y que se identifican con los síntomas observados a partir del consumo de cristales y esporas de Bt por larvas de insectos susceptibles. Dichos síntomas son: cese de la ingesta, parálisis del intestino, vómito, diarrea, parálisis total y, finalmente, la muerte. El mecanismo de acción de las proteínas Cry es un proceso de varios pasos: solubilización del cristal,

procesamiento de las protoxinas, unión al receptor, inserción a la membrana intestinal, agregación, formación de poro y citólisis (Bravo, 2004).

Tecia solanivora Povolny, denominada comúnmente como Polilla guatemalteca de la papa, es una de las plagas más importantes en este cultivo, debido a que la larva muy pequeña raspa la superficie y penetra el tubérculo, abriendo galerías en su interior para alimentarse. Posteriormente, ocurren pudriciones secundarias, lo cual afecta su valor comercial para consumo y semilla en donde puede encontrarse hasta 40 larvas por cada tubérculo (Niño, 2004). El control de la polilla guatemalteca es difícil, debido a los hábitos de la larva de vivir dentro de los tubérculos. En el campo, el control se dificulta aún más, porque la larva vive dentro del tubérculo que se encuentra dentro del suelo. En almacenamiento, el control es más fácil de alcanzar, aunque a través de insecticidas, tanto en campo como en almacenamiento, no ha dado resultados muy satisfactorios, sin que esto implique que debe descartarse (François, 1997).

El conocimiento actual sobre este microorganismo es el resultado de intensos programas de búsqueda de nuevas cepas que produzcan proteínas insecticidas con mayores niveles de toxicidad que los ya descritos. Actualmente, las cepas de Bt aisladas muestran un amplio rango de especificidad contra insectos de diferentes órdenes: Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera y Phthiraptera (Bravo, 2004).

En Bt se mide la potencia del agente activo sobre un estado específico del organismo potencialmente susceptible, para lo cual se aplica una metodología que permite evaluar la actividad tóxica de una cepa, producto activo u organismo recombinante, sin que los resultados se vean afectados por las variaciones propias de los sistemas biológicos; esta metodología se denomina Bioensayo (Martínez, 2004).

El presente trabajo, que hace parte del proyecto de investigación "Caracterización biológica y molecular de cepas nativas del entomopatógeno *Bacillus thuringiensis* provenientes de suelos boyacenses", desarrollado por los grupos de investigación GMBC y GEBIMOL de la UPTC, permitió evaluar la actividad tóxica de 30 cepas nativas de *Bacillus thuringiensis*, mediante el empleo de larvas de primer instar de una colonia de *T. solanivora*, establecida en laboratorio. Se realizó una evaluación preliminar de los aislamientos y se seleccionaron los siguientes, que presentaron valores de mortalidad superiores al 70%: GMBC-B020, GMBC-B026, GMBC-B054, GMBC-B071, GMBC-B076, GMBC-B078, GMBC-B094, GMBC-B095, GMBC-B098, GMBC-B106, GMBC-B110, GMBC-B111, GMBC-B114, GMBC-B115 y GMBC-B117. Posteriormente, se determinó su concentración letal media (CL_{50}). Los aislamientos GMBC-B076, GMBC-B071, GMBC-B054, GMBC-B117, GMBC-B098 y GMBC-B111 presentaron valores de CL_{50} inferiores al testigo comercial HD-1. Se evidenció así el valor de la diversidad de cepas nativas de Bt boyacenses como fuente potencial para el desarrollo de productos biológicos para el manejo de plagas en Colombia.

Materiales y métodos

Localización del sitio de trabajo

El trabajo se llevó a cabo en las diferentes áreas del Laboratorio de Control Biológico del Grupo de Manejo Biológico de Cultivos en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (Tunja).

Establecimiento de la colonia de *Tecia solanivora* Povolny

La colonia del insecto se estableció en el área de entomología, a partir de adultos y tubérculos de papa infestados con larvas, recolectados en la vereda La Carbonera del municipio de Motavita. Los tubérculos se dispusieron en recipientes con arena cernida, en donde se esperó la salida de

las larvas y la posterior formación de las cámaras pupales. Se recolectaron las pupas y se ubicaron en frascos confiteros donde culminaron el ciclo y emergieron los adultos que se alimentaron con una solución de agua y miel al 10%; en la boca de dichos frascos se dispusieron toallas de cocina cubiertas con tela brisa, para que el insecto realizara la oviposición. Posteriormente, se recolectaron las servilletas con las posturas y se ubicaron en vasos desechables hasta la eclosión de las larvas. Éstas se alimentaron con trozos de papa, ubicándolos en vasos desechables por grupos de máximo tres larvas, en donde siguieron el ciclo hasta pupas, iniciando el proceso anterior nuevamente.

Selección y multiplicación de las cepas nativas

El cepario de *B. thuringiensis* del Grupo Manejo Biológico de Cultivos consta de cerca de 100 aislamientos obtenidos de muestras de suelo de varios municipios de Boyacá, los cuales se encuentran codificados y almacenados mediante la técnica del papel de filtro. Para el presente proyecto se seleccionaron 30 aislamientos que, en el proceso previo de aislamiento y caracterización, presentaron cristales de forma piramidal y bipiramidal, y perfil electroforético con proteínas que oscilaron entre 120-150 KDa, reconocidas generalmente con actividad biológica hacia insectos del orden lepidoptera.

Los aislamientos seleccionados se recuperaron en medio de cultivo Agar nutritivo sólido, incubado a 37°C por 8-10 días; posteriormente, se procedió a la multiplicación masiva de los aislamientos, los cuales se llevaron hasta la etapa de esporulación y consecuente producción de cristales de delta-endotoxina.

Realización de bioensayos

Se realizaron bioensayos preliminares con los 30 aislamientos nativos seleccionados previamente, agrupados según rangos de concentración de esporas (unidades formadoras de colonia), determinados mediante conteo en cámara de

Newbauer y obtenidos a partir de una suspensión de la biomasa del aislamiento respectivo, obtenida en cajas de Petri de 5 cm de diámetro, con medio Agar nutritivo sólido. Los cuatro rangos establecidos en términos de esporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ fueron: menos de 10×10^7 , 10 a 20×10^7 , 20 a 30×10^7 y 30 a 40×10^7 .

De acuerdo con los rangos anteriores se realizó el montaje de los bioensayos bajo el siguiente protocolo. Se preparó dieta natural consistente en fragmentos de papa sin cáscara ($1 \times 0.5 \text{ cm}$), sobre los cuales se aplicaron superficialmente μL de la suspensión de esporas y cristales del aislamiento respectivo. El producto se esparció como un barnizado sobre toda la superficie, con ayuda de micropipeta de $100 \mu\text{L}$ y se dejó secar al ambiente. Posteriormente, los trozos de papa se colocaron en placas de cultivos de células de 24 pozos y se colocó una larva de primer instar de *Tecia solanivora* (mantenidas en ayuno por lo menos 24 h), por cada pozo. Las placas se sellaron y se dejaron en almacenamiento en cámara oscura a temperatura ambiente. Los bioensayos se revisaron 8 días después de su realización; luego se contabilizó el número de larvas muertas y vivas por concentración y por aislamiento. Estos datos se registraron en una tabla en el programa Excel, calculando los porcentajes de mortalidad en cada caso.

En los bioensayos se implementó un diseño completamente al azar, empleando 24 larvas por tratamiento con dos repeticiones. La unidad experimental consistió en una larva de primer instar. En cada bioensayo se evaluaron las cepas nativas y dos testigos, uno con la cepa HD1 aislada de un producto comercial (recomendado para el control de *Tecia solanivora*) y otro solamente con agua destilada, como testigo absoluto. Los datos obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias entre los aislamientos. Las cepas que presentaron valores de mortalidad superiores al 70% se emplearon posteriormente en los ensayos de Concentración letal media.

Determinación de la concentración letal media (CL_{50})

La CL_{50} es la concentración, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte, durante la exposición o en un plazo definido después de ésta, del 50% de los animales durante un periodo determinado. Se ha demostrado en forma estadística que la variabilidad de los resultados en un bioensayo es menor cuando se consideran varias concentraciones del ingrediente activo por evaluar. Para este trabajo se realizaron cinco diluciones 1:10 de cada cepa, a partir de la concentración inicial de espора-cristal tomada del aislamiento crecido en medio sólido y suspendido en 10 mL de agua destilada. Una vez obtenidas las diluciones se realizó el conteo de esporas, mediante cámara de Neubauer con factor de corrección de 10^4 , para cada una de las diluciones. Los bioensayos se realizaron siguiendo la misma metodología que para los ensayos de porcentajes de mortalidad anteriores. Se registró el número de individuos muertos, el número de sobrevivientes, el total de individuos observados en cada concentración evaluada y para cada aislamiento seleccionado; estos datos se procesaron en el software Biostat 2008, con el fin de determinar la CL_{50} para cada una de las cepas.

Resultados y discusión

Las larvas muertas afectadas por las proteínas tóxicas de Bt, presentaron cambio de color de crema a marrón, inmovilidad y degradación corporal causada por la incapacidad de comer; cuando una larva no era afectada por la bacteria, continuaba con su ciclo de desarrollo formando galerías dentro del trozo de papa.

Determinación de la actividad biológica de los aislamientos

Los resultados indicaron que de las 30 cepas evaluadas sólo 15 alcanzaron valores de porcentajes de mortalidad superiores al 70%. Los

porcentajes de mortalidad obtenidos en las cepas seleccionadas oscilaron entre 72,5%, para la cepa GMBC-B098 y 94% para la cepa GMBC-B106. Ambas, presentaron perfiles diferentes con bandas de 40 y 100 KDa, y 60 y 140, respectivamente, lo cual puede explicar la diferencia en actividad biológica, a pesar de presentar ambas cristales de forma bipiramidal (Tabla 1).

El análisis de varianza indicó que en todos los bioensayos se presentaron diferencias significativas entre los aislamientos nativos y el control, la cepa HD-1 (Tabla 2). Además, se encontraron diferencias significativas dentro de las cepas nativas, lo que permitió seleccionar las que presentaron porcentajes de mortalidad superiores al 70% (Figura 1).

Tabla 1. Características de los aislamientos nativos de Bt, con porcentajes de mortalidad superiores al 70%, seleccionadas para la determinación de su CL_{50} .

CEPA	PERFIL PROTEINAS (KDA)	FORMA DEL CRISTAL	MUNICIPIO DE ORIGEN	CULTIVO DE ORIGEN	MORTALIDAD (%)
GMBC-B020	20-120	T.O	MOTAVITA	ARVEJA	82,5
GMBC-B026	20-120	B-T-R	SIACHOQUE	MAIZ	74
GMBC-B054	35-120	B	SIACHOQUE	RABANO	86,5
GMBC-B071	25-150	B-O	CHIQUIZA	PAPA	80
GMBC-B076	40-140	B	TUTA	BOSQUES	83,5
GMBC-B078	20-140	B	OICATA	ARBUSTOS	80
GMBC-B094	25-150	B	CHIQUIZA	MAIZ	89
GMBC-B095	25-150	B-A	CHIQUIZA	PAPA	79
GMBC-B098	40-100	B-A	CHIQUIZA	MAIZ	72,5
GMBC-B106	60-140	B	SIACHOQUE	MAIZ	94
GMBC-B110	ND	B-O-A	CHIQUIZA	BOSQUE	82,5
GMBCB111	ND	B-R	CHIQUIZA	CEBOLLA C	80,5
GMBC-B114	ND	B-O	CHIQUIZA	BOSQUE	78,5
GMBC-B115	40-120	T-O	CHIQUIZA	PAPA	74,5
GMBC-B117	ND	B	CHIQUIZA	BOSQUE	77,5

B: Bipiramidal, T: Triangular, O: Ovalado, R: Redondo, ND: no determinado
Fuente: esta investigación

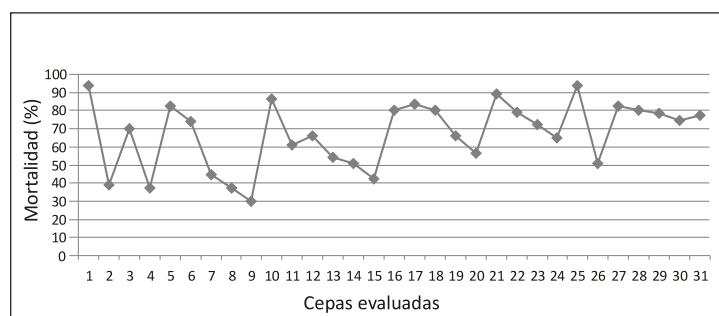


Figura 1. Porcentajes de mortalidad presentados por las 30 cepas evaluadas mediante bioensayos

Tabla 2. Análisis de varianza de los bioensayos de actividad biológica de cepas nativas de Bt, en cada uno de los cuatro rangos de concentración de esporas empleados

Análisis de Varianza (Una Vía) 0-10 E+7 esporas por ml							
Resumen							
Grupos	Tamaño muestral	Suma	Media	Varianza			
A	2	92,345	46,1725	6.903,174			
B	2	42,17	21,085	1.531,0489			
C	2	83,835	41,9175	5.572,7272			
D	2	92,99	46,495	7.062,3101			
E	2	62,445	31,2225	2.987,318			
F	2	64,815	32,4075	3.261,3892			
G	2	44,69	22,345	1.457,9461			
H	2	71,76	35,88	4.270,6976			
I	2	72,015	36,0075	4.392,1802			
J	2	49,	24,5	2.000,5			
Total	20		33,8033	872,9525			
ANOVA							
Origen de la Variación	d.f.	SS	MS	F	nivel p	F crit	Omega Cuadrado
Entre Grupos	9	1.554,5915	172,7324	0,1149	0,9984	3,0204	-0,6619
Dentro de Grupos	10	15.031,5057	1.503,1506				
Total	19	16.586,0972					
Hartley Fmax	5,9622	Grados de Libertad	10	1			
Cochran C	0,1822	Grados de Libertad	10	1			
Bartlett Chi-square	1,1112	Grados de Libertad	9	nivel p	0,9991		

Análisis de Varianza (Una Vía) 10-20 E+7 esporas por ml							
Resumen							
Grupos	Tamaño muestral	Suma	Media	Varianza			
A	2	89,695	44,8475	5.551,918			
B	2	92,08	46,04	6.218,8264			
C	2	84,155	42,0775	5.100,364			
D	2	64,22	32,11	2.775,7684			
E	2	87,28	43,64	5.713,5784			
F	2	53,33	26,665	1.923,5389			
G	2	76,685	38,3425	4.470,1692			
H	2	47,9	23,95	1.514,41			
I	2	90,075	45,0375	6.501,5056			
Total	18		38,0789	804,1204			
ANOVA							
Origen de la Variación	d.f.	SS	MS	F	nivel p	F crit	Omega Cuadrado
Entre Grupos	8	1.140,26	142,5325	0,1024	0,9981	3,2296	-0,6637
Dentro de Grupos	9	12,529,787	1,392,1986				
Total	17	13,670,047					
Hartley Fmax	6,6577	Grados de Libertad	9	1			
Cochran C	0,1951	Grados de Libertad	9	1			
Bartlett Chi-square	1,0889	Grados de Libertad	8	nivel p	0,9976		

Análisis de Varianza (Una Vía) 20-30 E+7 esporas por ml							
Resumen							
Grupos	Tamaño muestral	Suma	Media	Varianza			
A	2	106,395	53,1975	6.991,486			
B	2	106,365	53,1825	7.149,2462			
C	2	103,62	51,81	6.803,3524			
D	2	105,125	52,5625	7.031,2656			
E	2	106,735	53,3675	7.393,5852			
F	2	82,2	41,1	4.170,44			
Total	12		50,8867	769,6312			
ANOVA							
Origen de la Variación	d.f.	SS	MS	F	nivel p	F crit	Omega Cuadrado
Entre Grupos	5	232,7996	46,5599	0,0339	0,9991	4,3874	-0,6737
Dentro de Grupos	6	8.233,1438	1.372,1906				
Total	11	8.465,9434					
Hartley Fmax	2,1431	Grados de Libertad	6	1			
Cochran C	0,2062	Grados de Libertad	6	1			
Bartlett Chi-square	0,1153	Grados de Libertad	5	nivel p	0,9998		

Análisis de Varianza (Una Vía) 30-40 E+7 esporas por ml							
Resumen							
Grupos	Tamaño muestral	Suma	Media	Varianza			
A	2	121,47	60,735	8.705,1509			
B	2	63,65	31,825	2.032,3225			
C	2	126,625	63,3125	9.900,3906			
D	2	83,385	41,6925	3.649,7882			
E	2	119,305	59,6525	8.839,393			
Total	10		51,4435	740,3009			
ANOVA							
Origen de la Variación	d.f.	SS	MS	F	nivel p	F crit	Omega Cuadrado
Entre Grupos	4	1,549,1207	387,2802	0,3787	0,816	5,1922	-0,3307
Dentro de Grupos	5	5,113,5876	1.022,7175				
Total	9	6,662,7084					
Hartley Fmax	282,7465	Grados de Libertad	5	1			
Cochran C	0,3683	Grados de Libertad	5	1			
Bartlett Chi-square	3,8696	Grados de Libertad	4	nivel p	0,4239		

La realización de los bioensayos permitió determinar que la mayoría de los aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis* evaluados, originan niveles de mortalidad cercanos a la cepa comercial HD1, a pesar de presentar concentraciones de esporas inferiores a ésta, lo que podría indicar una mejor eficiencia en dosis mayores y la posibilidad de desarrollar mejores productos a partir de cepas nativas de este microorganismo.

Determinación de la concentración letal media (CL₅₀)

La determinación de la CL₅₀ se realizó empleando la misma metodología de las pruebas anteriormente mencionadas, pero a diferencia de éstas, para cada cepa se hicieron diluciones 1:10, con el fin de contar con un rango de 5 concentraciones de esporas y determinar qué concentración causaba la mortalidad al 50% de la población de larvas de primer instar de *Tecia solanivora* Povolny empleadas en el bioensayo. Mediante análisis PROBIT se obtuvo los datos que se presentan en la Tabla 3 y Figura 2.

Tabla 3. Concentración Letal Media (CL₅₀) de las cepas nativas de Bt seleccionadas en los ensayos de actividad biológica. Valores obtenidos a partir del análisis Probit de los datos obtenidos.

CEPA	Concectración Letal Media (Esporas· mL ⁻¹)
GMBC-B111	3,56 x103
GMBC-B098	4,36 x103
GMBC-B117	1,19 x104
GMBC-B054	1,08 x106
GMBC-B071	4,24 x106
GMBC-B076	5,12 x106
HD1	7,38 x106
GMBC-B114	1,03 x107
GMBC-B110	2,78 x107
GMBC-B078	5,35 x107
GMBC-B115	8,33 x107
GMBC-B026	1,46 x108
GMBC-B094	6,39 x108
GMBC-B106	6,05 x1010
GMBC-B020	1,00 x1015
GMBC-B095	2,99 x1022

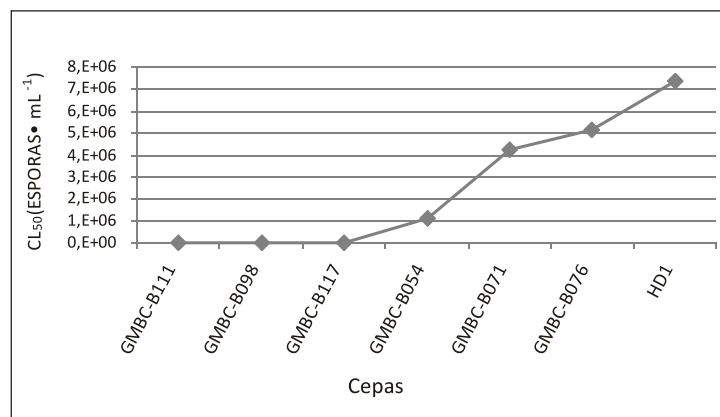


Figura 2. Concentración Letal Media (CL₅₀) de las cepas nativas de Bt que presentaron valores por debajo de la cepa control HD1. Valores obtenidos a partir del análisis Probit

En contraste a lo descrito por López (2005), donde el aislamiento nativo que evaluó resultó menos eficaz para el control de *T. solanivora*, que la cepa de referencia *Bt kurstaki* HD-1, con una CL_{50} más alta que la obtenida para la cepa de referencia, seis de los aislamientos aquí evaluados resultaron ser más activos que el control HD1. Lo anterior podría explicarse con la condición de necesitar menos concentración de esporas para lograr el efecto de mortalidad de la cepa control HD1; es decir, presentaron valores de CL_{50} más bajos.

En el presente trabajo, las cepas GMBC-B054, GMBC-B071, GMBC-B076, GMBC-B098, GMBC-B111 y GMBC-B117, tuvieron una eficiencia más alta que la cepa control, debido a que, con una menor concentración de esporas, lograron valores de mortalidad superiores a la cepa HD-1. Sin embargo, se deben resaltar las cepas GMBC-B098, GMBC-B111 y GMBC-B117, las cuales, con concentraciones en dos y tres unidades exponenciales menos, ejercieron un mismo efecto que la cepa control HD-1.

Analizando los resultados generales de CL_{50} , se puede apreciar una muy baja actividad en las cepas GMBC-B020, GMBC-B095, GMBC-B106, ya que sólo se logró mortalidad del 50% con altas concentraciones de esporas (10^{15} , 10^{22} , 10^{10} , respectivamente). Esto indica que su potencial de investigación sobre la actividad entomopatógena específica hacia *Tecia solanivora* Povolny es poco; sin embargo, no pudo descartarse como estrategia de manejo biológico en otro tipo de insectos plaga, por la posible presencia de genes novedosos. Lo anterior, teniendo en cuenta que el objetivo principal de la colección de *Bt* es identificar cepas con nuevas actividades biológicas o

genes que puedan ser empleados en ingeniería genética de plantas (Porcar y Juárez, 2004).

En contraste con los anteriores aislamientos, el GMBC-B111 presentó un valor de CL_{50} muy bajo ($3,56 \times 10^3$ esporas/ mL^{-1}) en comparación con el control ($7,38 \times 10^6$, esporas/ mL^{-1}), lo cual indica que este aislamiento debe seguir siendo estudiado por su potencial como estrategia biológica en el manejo de *T. solanivora*.

Conclusiones

De las 30 cepas seleccionadas, en el cepario de *B. thuringiensis* del GMBC, por su potencial toxico teórico frente a *Tecia solanivora* Povolny, solamente 15 presentaron porcentaje de mortalidad superior al 70%, y de éstas, 9 cepas presentaron características que las hacen potencialmente evaluables en pruebas posteriores para su uso como agentes biocontroladores de esta plaga.

La diversidad de aislamientos nativos de *B. thuringiensis* en Boyacá, puede ofrecer alternativas biológicas importantes para el desarrollo futuro de estrategias de manejo biológico de plagas en el departamento y en el país en general.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la línea de investigación en manejo Biológico de insectos del Grupo de Manejo Biológico de Cultivos del Programa de Ingeniería Agronómica de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, quienes ofrecieron la posibilidad de desarrollar la presente investigación, así como por el préstamo de las cepas nativas que se evaluaron en este trabajo.

Literatura Citada

- Bravo, A. 2004. Mecanismo de acción de las proteínas bioinsecticidas de *Bacillus thuringiensis*. En: *Bacillus thuringiensis* en el control biológico. Bravo, A. y Cerón, J. ed. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D. C., Colombia. p. 69-100.
- François, H. 1997. La polilla guatemalteca de la papa: Biología, Comportamiento y prácticas de Manejo Integrado, 2ª Ed. Produmedios. CORPOICA. 14 p.
- López, P.S. 2005. Estandarización de Isp-pcr para la identificación de nuevos genes cry1 en aislamientos nativos de *Bacillus thuringiensis*. Trabajo presentado como requisito parcial para optar el título de: Magíster Scenarium en Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Facultad de Ciencias.
- Martínez, W. 2004. Evaluación de la toxicidad de *Bacillus thuringiensis* en el control biológico. Bravo, A. y Cerón, J. ed. Buena Semilla. Bogotá, D. C. Colombia. p. 207-232.
- Niño, L. 2004. Revisión sobre la Polilla de la Papa Tecia solanivora en Centro y Suramérica. Suplemento Revista Latinoamericana de la papa. Mérida, Venezuela. 18 p.
- Porcar, M. y V. Juárez. 2004. Aislamiento y establecimiento de una colección de *Bacillus thuringiensis*. En: *Bacillus thuringiensis* en el control biológico. Bravo, A. y Cerón, J. ed. Buena Semilla. Bogotá, D.C. Colombia. p. 151-176.
- Soberón, M. y A. Bravo. 2000. *Bacillus thuringiensis* y sus toxinas insecticidas. Departamento de Microbiología Molecular/ Instituto de Biotecnología/ Universidad Nacional Autónoma de México. 18 p.

Fecha de Recepción: 12 de mayo de 2009
Fecha de Aceptación: 15 de octubre de 2009