

## INTRODUCCION

En los últimos 40 años, la utilización de insecticidas químicos constituyó una herramienta útil para el control de insectos plaga en agricultura y en salud pública, especialmente en cultivos de importancia económica y en las áreas rurales de las zonas tropicales donde la malaria constituye una enfermedad importante.

Con la aparición de resistencia en muchas especies a los insecticidas de origen químico, el alto costo de estos insumos y la contaminación ambiental producida, se inició la búsqueda de nuevas alternativas de control. Por tal razón, la atención fue puesta en los enemigos naturales, especialmente en los patógenos bacterianos, que producen proteínas altamente tóxicas para los organismos susceptibles. Estos organismos se pueden producir en gran escala y por poseer estructuras de resistencia, como las esporas, pueden perdurar por mucho tiempo en condiciones adversas.

Dentro del grupo de enemigos naturales, *Bacillus thuringiensis* (Bt), una bacteria gram positiva, de la familia Bacillaceae, es tal vez el mejor candidato interno para el manejo de plagas y vectores de enfermedad. En la actualidad esta especie se agrupa de acuerdo a su antígeno flagelar en 43 serotipos, distribuidos en 34 subespecies (tabla 1). Esta bacteria se caracteriza fundamentalmente por su habilidad de producir inclusiones cristalinas de manera simultánea a la producción de esporas. Estas inclusiones cristalinas contienen potentes toxinas, que son altamente específicas para larvas de los órdenes Lepidóptera, Coleóptera y Díptera (Aronson et al., 1986; Whitheley y Schnepf, 1986)

Las toxinas de esta bacteria entomopatógena son activadas en el ambiente alcalino del intestino medio de las larvas de las especies susceptibles, liberando una o más proteínas insecticidas, también llamadas delta-endotoxinas que varían en su peso molecular entre 27 y 140 kDa. La mayoría de las toxinas son producidas como protoxinas y son proteolíticamente convertidas en prolipéptidos más pequeños.

### Histopatología

La histopatología de la acción de la delta-endotoxina de Bt ha sido ampliamente estudiada de manera principal en Lepidóptera. En síntesis, estas investigaciones (revisadas en detalle por Luthy y Ebersold, 1981; y Gill y col., 1992) indican que de pronto, después de la

# *Bacillus thuringiensis:* Aspectos generales y biología molecular

SERGIO ORDUZ PERALTA\*

1. Sección de Control Biológico. Corporación para Investigaciones Biológicas, Apartado Aéreo 7378, Medellín, Colombia

Tabla No. 1. Clasificación de *Bacillus thuringiensis* de acuerdo al serotipo H

Antígeno H	Serovariedad	País de origen de cepa de referencia (cepas reportadas <sup>a</sup> , país de origen <sup>b</sup> )
1	<i>thuringiensis</i>	Canadá (303 <sup>a</sup> , 26 <sup>b</sup> )
2	<i>finitimus</i>	Estados Unidos (8, 4)
3a3c	<i>alesti</i>	Francia (49, 11)
3a3b3c	<i>kurstaki</i>	Francia (379, 32)
3a3d	<i>sumiyoshiensis</i>	Japón (1, 1)
3a3d3e	<i>fukuokaensis</i>	Japón (1, 1)
4a4b	<i>sotto</i>	Canadá (305, 17)
4a4b	<i>kenyae</i>	Kenia (64, 10)
5a5b	<i>galleriae</i>	Comunidad de Estados Independientes (URSS) (121, 18)
5a5c	<i>canadensis</i>	Canadá (35, 10)
6	<i>entomocidus</i>	Canadá (2, 5)
7	<i>aizawai</i>	Japón (145, 21)
8a8b	<i>morrisoni</i>	Estados Unidos (28, 9)
8a8c	<i>ostrinae</i>	China (10, 3)
8b8d	<i>nigeriensis</i>	Checoslovaquia (7, 3)
9	<i>tolworthi</i>	Inglaterra (23, 9)
10	<i>darmstadiensis</i>	Alemania (25, 7)
11a11b	<i>toumanoffi</i>	Alemania (3, 1)
11a11c	<i>kyushuensis</i>	Japón (4, 3)
12	<i>thompsoni</i>	Estados Unidos (8, 4)
13	<i>pakistani</i>	Pakistán (24, 2)
14	<i>israelensis</i>	Israel (238, 20)
15	<i>dakota</i>	Estados Unidos (5, 1)
16	<i>indiana</i>	Estados Unidos (7, 4)
17	<i>tohokuensis</i>	Japón (4, 2)
18	<i>kumamotoensis</i>	Japón (3, 3)
19	<i>tochigiensis</i>	Japón (2, 2)
20a20b	<i>yunnanensis</i>	China (1, 1)
20a20c	<i>pondicheriensis</i>	India (1, 1)
21	<i>colmeri</i>	Estados Unidos (1, 1)
22	<i>shandongensis</i>	China (1, 1)
23	<i>japonensis</i>	Japón (1, 1)
24	<i>neoleonensis</i>	México (7, 2)
25	<i>coraenensis</i>	Corea (3, 1)
26	<i>silo</i>	Francia (1, 1)
27	<i>mexicanensis</i>	México (6, 1)
28	<i>monterrey</i>	México (1, 1)
29	<i>amagiensis</i>	Japón (1, 1)
30	<i>medellin</i>	Colombia (2, 1)
31	<i>toguchini</i>	Comunidad de Estados Independientes (URSS) (1, 1)
32	<i>cameroun</i>	Camerun (2, 2)
33	<i>leesis</i>	Corea (1, 1)
34	<i>konkukian</i>	Corea (2, 2)

a Número de cepas reportadas en la colección de bacilos entomopatógenos del Instituto Pasteur.

b Número de países donde se ha reportado.

ingestión de la delta-endotoxina, las toxinas se disuelven en el intestino de las larvas por acción de enzimas proteolíticas formando un(os) fragmento(s) tóxico(s). Las células epiteliales del intestino medio, así como células cultivadas de insectos, rápidamente se hinchan y se rompen después del tratamiento con toxinas.

Estudios bioquímicos (Knowles y Ellar, 1987) y electrofisiológicos (Harvey y col., 1983) sugieren que la toxina genera poros en la membrana celular alterando el balance osmótico, posteriormente las células se hinchan y se lisan, la larva deja de alimentarse y finalmente muere. Los sitios de acción de las diferentes toxinas han sido identificados como receptores en las células epiteliales de los insectos susceptibles (Hoffman y col., 1988). Esta situación podría explicar, al menos parcialmente, la alta especificidad de estas toxinas.

## Distribución

Aunque en la mayoría de los reportes de literatura científica se cita a esta bacteria como un habitante normal del suelo, recientemente se ha reportado como habitante normal del follaje de las plantas (Smith y Couche, 1991; Karamanlidou et al., 1991), y a partir de muestras de cereales empleados en la preparación de alimentos para animales (Meadows et al., 1992). Nuestro grupo de investigación, recientemente lo ha encontrado como habitante normal de los criaderos de las larvas de mosquito y lo ha aislado a partir de muestras de suelo y de agua (Gómez, C.L, 1991; Orduz y col., 1992). Aislamientos de Bt han sido reportados de los cinco continentes y de muchas islas del mundo. Estos aislamientos están íntimamente relacionados con diversas comunidades vegetales que van desde la selva lluviosa tropical a los desiertos, pasando por comunidades en la costa del mar a sabanas, estepas e inclusive a la tundra ártica (Martin y Travers, 1989).

Se tienen registros de aislamientos de Bt de 58 países de los cinco continentes. Los países de donde se han aislado más serotipos de Bt son Estados Unidos (19), Japón (15), Francia (13) y México (10). De los 43 serotipos reportados hasta 1992, 19 se han encontrado en Europa, 30 en Asia, 8 en Oceanía, 24 en América y 11 en África.

Diversas formulaciones de *B. thuringiensis* basadas en las subespecies *thuringiensis* y *kurstaki* han sido usadas por más de dos décadas como insecticidas biológicos para el control de plagas en los cultivos agrícolas, y recientemente han sido lanzados al mercado productos destinados al control de mosquitos vectores de enfermedades basados en la subespecie *israelensis*. Y más recientemente, las técnicas de biología molecular han permitido el desarrollo de plantas transgénicas que contienen dentro de su genoma la información para producir la(s) delta-endotoxina(s) de Bt.

## CLASIFICACION DE LOS GENES INSECTICIDAS

En los últimos años ha existido una intensa actividad tendiente al aislamiento, identificación y secuenciación de los genes responsables de la producción de toxinas de Bt. Muchas de las secuencias reportadas son muy parecidas unas a otras, las cuales representan posiblemente variantes de un mismo gen. En la actualidad se conocen 17 genes distintos que codifican para proteínas del cristal del Bt. Dieciseis de ellos han sido denominados *cry*, mientras que el último, debido a su propiedades citolíticas particulares ha sido denominado *cytA*.

Los genes *cry* se han clasificado en cuatro grandes grupos atendiendo al orden de insectos en los que la toxina produce mortalidad. Los genes *cryI* codifican para toxinas específicas para Lepidóptera, los genes *cryII* codifican para toxinas específicas para Lepidóptera o Díptera, dependiendo del tipo de enzima que active la protoxina, los genes *cryIII* codifican para toxinas específicas para algunos organismos del orden Coleóptera, mientras que los genes *cryIV* contienen información para la producción de toxinas específicas para Díptera (tabla 2).

Tabla No. 2. Genes insecticidas de *Bacillus thuringiensis*

Tipo de Gen	Huésped*	No. de aminoácidos	Peso molecular	Referencias <sup>b</sup> (holotipo)
<i>cryIA</i> (a)	L	1.176	133.2	Schnepf et al, 1985
<i>cryIA</i> (b)	L	1.155	131.0	Wabiko et al, 1986
<i>cryIA</i> (c)	L	1.178	133.3	Adang et al, 1985
<i>cryIB</i>	L	1.207	138.0	Brizzard & Whiteley, 1988
<i>cryIC</i>	L	1.189	134.8	Honée et al, 1988
<i>cryID</i>	L	1.165	132.5	Höfte sin publicar
<i>cryIE</i>	L	1.171	132.0	Visser et al, 1990
<i>cryIF</i>	L	1.174	133.6	Chambers et al, 1991
<i>cryIG</i>	L	1.157	129.6	Bosse et al, 1990
<i>cryIIA</i>	L/D	633	70.9	Donovan et al, 1989
<i>cryIIB</i>	L	633	70.8	Widner & Whiteley, 1989
<i>cryIIIA</i>	C	644	73.1	Herrnstadt et al, 1987
<i>cryIVA</i>	D	1.180	134.4	Ward & Ellar, 1987
<i>cryIVB</i>	D	1.136	127.8	Chunjatupornchai et al, 1988
<i>cryIVC</i>	D	675	77.8	Thorne et al, 1986
<i>cryIVD</i>	D	643	72.4	Donovan et al, 1988
<i>cytA</i>	D/citol.	248	27.4	Waalwijck et al, 1985

a Rangos de especificidad: L, Lepidóptera; C, Coleóptera; D, Díptera; citol., citolítica.

b Referencia de la primera publicación donde se describe el gen.

Las proteínas específicas para Lepidóptera son indudablemente las más estudiadas. En este grupo se conoce la secuencia de cerca de 23 genes, agrupados en 7 subgrupos así: *cryIA*, *cryIB*, *cryIC*, *cryID*, *cryIE*, *cryIF* y finalmente el grupo *cryIG*, del primero se conocen tres subgrupos *cryIA*(a), *cryIA*(b) y *cryIA*(c), y todos codifican para proteínas con pesos moleculares entre 129 a 140 kDa, las cuales acumulan en inclusiones cristalinas bipiramidales. Estas proteínas son protoxinas que cuando son activadas por el medio ambiente alcalino y por las enzimas digestivas del intestino medio de las larvas de los insectos susceptibles, producen un fragmento tóxico de 60 a 70 kDa.

Los genes *cryII* codifican para toxinas de 65 kDa almacenadas en cristales de morfología cuboide, y como ya se mencionó contienen secuencias de proteínas que son tóxicas para Díptera y Lepidóptera, dependiendo fundamentalmente del medio en que sean activadas. Inicialmente este grupo de proteínas fue designado como P2, opuesto al grupo *cryI* que había sido denominado P1. Este grupo contiene dos clases de genes *cryIIA*, que son tóxicos para los dos órdenes de insectos ya mencionados representados por las especies *Aedes aegypti* y *Manduca sexta*, y *cryIIB* que codifica para proteínas tóxicas solamente para insectos del orden Lepidóptera (Höfte y Whiteley, 1989).

Los genes *cryIII* contienen secuencias de delta-endotoxinas específicas para Coleóptera. Cada una de las cepas que contienen estos genes produce un cristal romboide que contiene fundamentalmente una proteína de 72 kDa tóxica para el cucarrón de la papa de Colorado (*Leptinotarsa decimlineata*), esta proteína es convertida a 66 kDa por remoción de los 57 aminoácidos de la porción N-terminal. De manera particular, los 12 aminoácidos de la porción carboxi-terminal son muy similares a los C-terminales de la proteína expresada por el gen *cryIA*(b).

Los genes pertenecientes al grupo *cryIV* están compuestos por un número heterólogo de genes que codifican para proteínas del cristal específico para Díptera. Se han descrito 4 genes y además el gen *cytA* todos aislados a partir del plasmido de 72 kDa de Bt *israelensis*. Los genes *cryIVA*, *cryIVB*, *cryIVC* y *cryIVD* codifican para proteínas de 135, 128, 78 y 72 kDa respectivamente. Estas proteínas se empaquetan en estructuras cristalinas ovoides, y se ha observado similitud con las proteínas del aislamiento PG-14 de Bt *morrisoni* y la recientemente descubierta Bt *medellin*. En las subespecies *israelensis* y el aislamiento PG-14, todas las proteínas contribuyen

a la toxicidad en las larvas del mosquito. La proteína codificada por el gen *cytA* no presenta homología con las otras proteínas del cristal, además posee características muy particulares. Posee acción citolítica sobre una variedad de células de invertebrados y vertebrados, aunque se desconoce su papel real como molécula insecticida *in vivo* (Hóffe y Whitheley, 1989).

Los genes que codifican para las toxinas insecticidas de Bt han sido reportados de las subespecies *kurstaki*, *aizawai*, *sotto*, *entomocidus*, *berliner*, *thuringiensis*, *morrisoni*, *israelensis*, *kenyae*, *thompsoni*, *gellariae* y *kumamotoensis* (tabla 3).

## FACTORES QUE DETERMINAN ESPECIFICIDAD

Uno de los aspectos más interesantes de Bt corresponde a los factores que determinan la alta especificidad de estas delta-endotoxinas. Siendo los factores, tal vez, más importantes a) las diferencias en el intestino medio de las larvas que afectan la solubilización/activación de la protoxina, y b) la presencia de sitios específicos de unión (receptores) en el epitelio intestinal de los diferentes insectos.

Los resultados de la mayoría de los experimentos donde se compara la actividad de la delta-endotoxina solubilizada y no solubilizada sugieren que la susceptibilidad para ciertas delta-endotoxinas es independiente de la activación, sin embargo se ha acumulado evidencia en el sentido de que una protoxina puede ser activada y producir toxicidad para larvas de Díptera o Lepidóptera, dependiendo esta actividad básicamente de la naturaleza de las enzimas proteolíticas empleadas (Haider et al., 1986).

Recientemente se ha demostrado que la interacción con sitios de unión de alta afinidad en el epitelio del intestino medio de los insectos podría, en gran medida, determinar el espectro de actividad de las delta-endotoxinas de Bt (Hoffman et al, 1988). La naturaleza bioquímica de estos sitios específicos de unión es poco conocida. Estudios de unión de las delta-endotoxinas a vesículas preparadas con membranas del epitelio intestinal de insectos, después de tratamientos con diversas proteasas, indican que los sitios de unión están compuestos al menos de un componente protéico.

Tabla No. 3. Distribución de los genes en las diferentes subespecies de *Bacillus thuringiensis*

Gen	<i>B. thuringiensis</i> subespecie o cepa	Diferencia en el número de aminoácidos de la secuencia holotípica*	
		Protoxina	Toxina
cryIA(a)	<i>kurstaki</i> HD-1	H	H
	<i>aizawai</i>	3	3
	<i>kurstaki</i> HD-1	1	0
	<i>sotto</i>	24	3
	<i>entomocidus</i>	1	0
cryIA(b)	<i>berliner</i> 1715	H	H
	<i>berliner</i> 1715	2	0
	<i>kurstaki</i> HD-1	2	2
	<i>kurstaki</i> HD-1	5	4
	<i>aizawai</i> IPL-7	4	2
	<i>kurstaki</i> HD1	6	2
	<i>kurstaki</i> NRD-12	10	6
<i>aizawai</i> IC-1	4	4	
cryIA(c)	<i>kurstaki</i> HD-73	H	H
cryIB	<i>thuringiensis</i> HD-2	H	H
	<i>entomocidus</i>	1	1
cryIC	<i>entomocidus</i> 601	H	H
	<i>aizawai</i> HD 137	7	7
	<i>entomocidus</i> HD-110	2	2
cryID	<i>aizawai</i> HD-68	H	H
cryIIA	<i>kurstaki</i> HD-263		H
	<i>kurstaki</i> HD-1	0	0
cryIIB	<i>kurstaki</i> HD-1		H
cryIIIA	<i>morrisoni</i> pat. san diego		H
	<i>morrisoni</i> pat. tenebrionis	0	0
	EG 2158	0	0
cryIVA	<i>israelensis</i>	H	H
	<i>israelensis</i>	4	1
cryIVB	<i>israelensis</i>	H	H
	<i>israelensis</i>	1	1
	<i>israelensis</i>	3	3
	<i>israelensis</i>	97	78
cryIVC	<i>israelensis</i>	H	H
cryIIVD	<i>israelensis</i>		H
	<i>israelensis</i>		H
cytA	<i>morrisoni</i> PG-14	1	1
	<i>israelensis</i>	0	0
	<i>morrisoni</i> PG-14	1	1

a La primera secuencia reportada de un gen es considerada como el holotipo (H) de la secuencia. Reportes posteriores de la secuencia de aminoácidos son definidos como el número de cambios de aminoácidos con respecto al holotipo.

## USO DE *BACILLUS THURINGIENSIS* PARA EL CONTROL DE PLAGAS Y VECTORES

El Bt ha demostrado ser una importante alternativa al uso de insecticidas convencionales. Es altamente activo y poco tóxico para el medio ambiente debido a la naturaleza de su alta especificidad. En la

actualidad se dispone de formulaciones comerciales para el control de plagas en agricultura, de árboles forestales, y de vectores de enfermedades. La búsqueda de nuevas cepas en ambientes donde no se ha investigado la presencia de esta bacteria podría tener importancia en el descubrimiento de cepas con un rango de actividad mayor.

Una desventaja de la utilización de estas bacterias en el control de insectos es la baja estabilidad de las preparaciones comerciales en el campo, de aquí que la introducción de los genes que codifican para la producción de estas toxinas en plantas o en el alimento microscópico de las larvas de Díptera podría permitir una mayor duración de las toxinas en el campo.

## PLANTAS TRANSGENICAS

Las proteínas recombinantes y los microorganismos diseñados genéticamente han sido aplicados a la agroindustria para mejorar el suministro de alimentos, incrementar la productividad y reducir los efectos adversos de las prácticas agrícolas sobre el medio ambiente. Los mayores grupos de alimentos, que incluyen frutas, legumbres, lácteos, carnes y granos serán objeto de mejoramiento por medio del reemplazo de genes o por su manipulación. En los países desarrollados será posible en 1995, encontrar en los supermercados alimentos producidos por transformación genética (AMA, 1991). El desarrollo de las técnicas de clonaje de genes ha permitido la obtención de plantas transgénicas a las que se ha incorporado en su genoma el (los) gen(es) de las toxinas de Bt. Estas nuevas plantas transgénicas contienen la información genética de Bt bajo el control de un promotor y la parte 3' terminal de un gen vegetal (Barton et al., 1987; Fischhoff et al., 1987; Vaeck et al., 1987) y generalmente ha sido mediado por el sistema de transformación de *Agrobacterium tumefaciens* en plantas de tabaco transgénicas, la actividad tóxica para larvas de *Manduca sexta*, fue comparable con los niveles de toxina detectados inmunológicamente. Un hecho notable derivado de estos experimentos fue que los niveles tóxicos de las proteínas insecticidas solamente se obtuvieron cuando los genes clonados se insertaron truncados.

En la actualidad se están empleando diseños similares para la manipulación genética de plantas de cultivos importantes como algodón, papa, etc. Y finalmente, la introducción del sistema de transformación utilizando microproyectiles ha abierto la posibilidad de mejorar genéticamente plantas monocotiledoneas que no podían

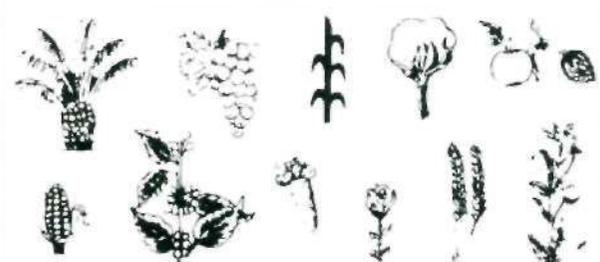
ser transformadas por los sistemas mediados por *Agrobacterium*.

## DESARROLLO DE RESISTENCIA

A pesar del amplio uso de Bt durante los últimos 20 años, no se han reportado casos de resistencia en el campo hacia las toxinas producidas por este insecticida microbial, posiblemente debido a la baja persistencia de este insecticida en el ambiente. Esta situación podría cambiar cuando se empiece a utilizar plantas transgénicas resistentes a los ataques de las plagas; pues la presencia de la(s) toxina(s) de manera permanente en el ambiente podría ejercer una presión de selección muy importante sobre las poblaciones de insectos, permitiendo una alta posibilidad de desarrollo de resistencia por parte de los insectos plaga.

El primer informe de resistencia de un insecto a la acción de Bt en el laboratorio fue realizado por McGaughey (1985) donde reportó el desarrollo de resistencia de

**Aumente los rendimientos  
y mejore la calidad de  
sus cultivos...**



**BORATOS FERTILIZANTES 48, 68 Y SOLUBOR**

Marcas Registradas  
48% - 68% y 66% B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Garantizados

**UNITED STATES BORAX & CHEMICAL CORP.**  
**U.S. BORAX.** Confiabilidad absoluta en boratos  
protege sus cultivos y su inversión

Garantía de Calidad y Concentración  
para dosis exactas y uniformes.

Representantes Exclusivos

**SAMTEC** Samudio & Asociados Ltda.  
Representaciones Técnicas desde 1950

Cra. 14 No. 87-45 Of. 202 Apdo. Aéreo 89509  
Tels: 2182908 - 2182176 Bogotá, D.E.

*Plodia interpunctella* a *Dipel*, una preparación comercial de Bt de Laboratorios Abbot. El desarrollo de esta resistencia fue de 30 veces superior a la CL<sub>50</sub> en dos generaciones cuando *P. interpunctella* se seleccionó a una presión entre el 70 y el 90% de mortalidad, y de 100 veces la CL<sub>50</sub> después de 15 generaciones. Este tipo de resistencia es estable a pesar de que la cepa seleccionada no se exponga a presión del insecticida por un periodo de tiempo variable y se hereda como un carácter recesivo (McGaughey, 1985). Höffe y Whiteley (1989) plantearon una hipótesis según la cual *P. interpunctella* sería resistente solamente a las toxinas codificadas por los genes cryIA, pero no a otros tipos de toxina. De ser así, la expresión simultánea de dos o más toxinas disminuiría la probabilidad de desarrollo de resistencia en los insectos plaga. Sin embargo, Gould (comunicación personal, 1992) ha demostrado que líneas resistentes de *Heliothis virescens* seleccionadas en el laboratorio contra la toxina cryIA(c) de Bt, produce resistencia cruzada contra las toxinas cryIA(a), cryIA(b), cryIB y cryIC. Además, cuando la línea de *H. virescens* seleccionada se expuso a CL<sub>10-20</sub>,

esta característica fue heredada como parcialmente recesiva, mientras que cuando la presión fue de CL<sub>80-90</sub>, se heredó como una característica aditiva.

## PERSPECTIVAS

En los años recientes ha sido evidente la importancia del Bt en el manejo integrado de plagas y vectores de enfermedades debido fundamentalmente a la variedad de toxinas que produce.

El descubrimiento de posibles receptores de las toxinas permite el desarrollo de nuevas líneas de investigación sobre el mecanismo de acción de estas proteínas. Nuevas investigaciones en la regulación de los genes de las toxinas encontraron dos factores sigma asociados a la esporulación, el hallazgo de la regulación negativa de la expresión de los genes es *Escherichia coli*, y la descripción de una proteína que afecta la expresión post-translacional del gen cytA. Los resultados de estos estudios permitirán el desarrollo de nuevas

<p><b>ABONO PAZ DEL RIO</b></p> <p><b>SULFATO DE AMONIO</b>    Nitrógeno 21%    Azufre 21%</p> <p><b>FOSFORITA HUILA</b>    Fósforo 22%</p> <p><b>DOLOMITA</b>    Carbonato de Magnesio 36% Carbonato de calcio 53%</p> <p>Magnesio 1% Manganeso 1% Fósforo asimilable 10% Calcio 48%</p>		
 <p><b>SAC</b></p> <p>Informes y Ventas: SOCIEDAD DE AGRICULTORES DE COLOMBIA, SAC Carrera 7a. No. 24-89 - Piso 44 - Telefonos: 342 11 31 - 282 19 89 Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia</p>		
<b>DISTRIBUIDORES</b>		
<p><b>ARMERO GUAYABAL</b> Cooperativa Agrícola del Valle de Armero Ltda. "COAGRIVAR LTDA."</p> <p><b>BOGOTA</b> Central Agrícola y Cia. Ltda. Concentrados del Norte Mercantil Barrera</p> <p><b>COGUA</b> Agrocogua</p> <p><b>CHIQUINQUIRA</b> Carlos Aceros Almacen San Jorge</p> <p><b>CHOCONTA</b> FEDEPAPA Carlos Moya</p> <p><b>EL ROSAL</b> Cooseral Agroincol Ltda.</p>	<p><b>FACATATIVA</b> Agroincol Ltda.</p> <p><b>FUSAGASUGA</b> Namen Nassar Almacén el Cóndor</p> <p><b>GUAYABAL LERIDA</b> Serviarroz Ltda.</p> <p><b>IBAGUE</b> Serviarroz Ltda Fedearroz</p> <p><b>LA CALERA</b> Agroinsumos La Calera</p> <p><b>LA DORADA</b> Alfangel y Cia. Ltda.</p> <p><b>LA UNION (ANTIOQUIA)</b> Francisco Botero Botero</p> <p><b>MANIZALES</b> Comité Departamental de Cafeteros de Caldas</p>	<p><b>MARIQUITA</b> Serviagro Ltda. (Roberto Laserna M.)</p> <p><b>MADRID</b> Central Agrícola y Cia. Ltda. Cooperativa de Horticultores Ltda.</p> <p><b>MEDELLIN</b> Osorio Toro y Cia. Ltda Francisco Emilio Jaramillo Villegas</p> <p><b>NEIVA</b> Cooperativa de Caficultores del Huila</p> <p><b>PAIPA</b> Rubén Sánchez</p> <p><b>PASCA</b> Pablo Villalobos</p> <p><b>POPAYAN</b> Depósito del Norte Ltda. Centro Agropecuario "El Campesino"</p>
<p><b>SIBATE</b> Agrosibaté Almacén El Sembrador</p> <p><b>SIMIJACA</b> Carlos Ramíre</p> <p><b>SONSON (ANTIOQUIA)</b> Ballazar Castañeda</p> <p><b>SUBACHOQUE</b> Ramírez y Cuesta Ltda.</p> <p><b>TENJO</b> Almacén Agrícola El Esquinal</p> <p><b>TUNJA</b> Tertulia Ganadera (Fernando Acevedo) Caja Popular Cooperativa Agrícola</p> <p><b>UBATE</b> Carlos Ramírez</p> <p><b>VALLE</b> Coagro Ltda. Central Agrícola y Cia Ltda.</p> <p><b>VILLAPINZON</b> Pablo García, Pedro García José Ramón Pinzón, Mercantil Barrera</p> <p><b>VILLAVICENCIO</b> Agroexport de Colombia Ltda. Coagrometa Ltda. Dictrinorte Ltda. Fedearroz - Acacias - Granada Pastos y Leguminosas Ltda. - Semillano Ltda. Sembremos Ltda.</p> <p><b>UNE CUNDINAMARCA</b> Orlando Méndez</p> <p><b>ZIPAQUIRA</b> Fedepapa Almacén La Cosecha</p>		

cepas Bt que expresen combinaciones de toxinas con un espectro de acción muy importante. Finalmente la expresión selectiva de las toxinas en cultivos importantes o en microorganismos que son la base del alimento de las larvas de mosquito, permitirá el desarrollo de potentes alternativas de control a los ya tradicionales y perjudiciales insecticidas de origen químico.

## BIBLIOGRAFIA

- Adang, M.J., Staver, M.J., Rocheleau, T.A., Leighon, J., Barker, R.F., and D.V. Thompson. Characterization of full-length and truncated plasmid clones of the crystal protein of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 and their toxicity to *Manduca sexta*. *Gene* 36: 289-300.
- American Medical Association, Council of Scientific Affairs, 1991. Biotechnology and the American agriculture. *JAMA* 265: 1429-1436.
- Aronson, A.I., Beckman, W., and P. Dunn. 1986. *Bacillus thuringiensis* and related pathogens. *Microbiol. Rev.* 50:1-24.
- Barton, K.A., Whiteley, H.R., and N.S. Yang, 1987. *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin expressed in *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. *Plant Physio.* 85: 1103-1109.
- Bosse, M., Masson, L. and R. Brousseau, 1990. Nucleotide sequence of a novel crystal protein gene isolated from *Bacillus thuringiensis* subspecies *kenyae*. *Nucleic Acids Res.* 18,7443-7443.
- Bizzard, B.L., and H.R. Whiteley, 1988. Nucleotide sequence of an additional crystal protein gene cloned from *Bacillus thuringiensis* subs. *thuringiensis*. *Nucleic Acid. Res.* 16: 4168-4169.
- Chambers, J.A., Jelen, A., Pearce Gilbert, M., Jany, C.S., Johnson, T.B. and Gawron-Burke, C, 1991. Isolation and characterization of a novel insecticidal crystal protein gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*. *J. Bacteriol.* 173:3966-3976.
- Chunjatupornachai, W., Hoffe, H., Seurinck, J., Angsuthanasombat, C, and M. Vaeck, 1988. Common features of *Bacillus thuringiensis* toxins specific for Diptera and Lepidoptera. *Eur. J. Biochem.* 173: 9-16.
- Donovam, W.P., Dankocsik, C.C., and M.P. Gilbert, 1988. Molecular characterization of a gene encoding a 72 kDa mosquito-toxic crystal protein from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *J. bacteriol.* 170: 4732-4738.
- Donovam, W.P., Dankocsik, C.C., and M.P. Gilbert, Gawron-Burke, M.C., Groat, R.G., and B.C. Carlton, 1988. Amino acid sequence and entomocidal activity of the P2 crystal protein. *J. Biol. Chem* 263: 561-567. (Erratum *J. Biol. Chem.* 264: 4740, 1988).
- Fischhoff, D.A., Bowditch, K.S., Perlak, F.J., Marrona, P.G., McCormick S.H., Niedermeyer, J.G., Dean, D.A., Kuzano-Kreutzer, K., Mayar, E.J., Rochester, D.E., Rogers, S.G., and R.T. Fraley, 1987. Insect tolerant transgenic plants. *BioTechnology* 5: 807-813.
- Gilí, S.S., Cowles, E.A., and P.V. Pietrantonio, 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Annu. Rev. Entomol.* 37: 615-636.
- Gómez, C.L, 1991. Aislamiento e identificación de bacterias de superficie de aguas de criaderos de larvas de mosquito. Tesis M.Sc. Departamento de Biología. Universidad de Antioquia.
- Haider, M.Z. Knowles, B.H. and D.J. Ellar, 1986. Specificity of *Bacillus thuringiensis* var. *colmeri* insecticidal «endotoxin by differential processing of the protoxin by larval gut proteases. *Eur. J. Biochem.* 156: 531-540.
- Harvey, W.R., Cioffi, M., Dow, J.A.T. and M.G. Wolfersberg, 1983. Potassium ion transpon ATPase in insect epithelium. *J. Exp. Biol* 106: 91-117.
- Heimpel, A.M., and T.A. Angus, 1960. Bacterial insecticidas. *Baterial. Rev.* 24: 266-288.
- Herrstandt, C, Gilroy, T.E., Sobieski, D.A., Bennet, B.D., and F.H. Gaertner, 1987. Nucleotide sequence and deduced amino acid sequende of a coleopteran active delta-endotoxin gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *san diego*. *Gene* 57: 305-308.
- Hoffman, C, Lüthy, P., Hüter, R., and V. Pliska, 1988. Binding of the delta endotoxin from *Bacillus thuringiensis* Xo brush border membrane vesicle of the cabbage butterfly (*Pieris brassicae*). *Eur. J. Biochem.* 173: 85-91.
- Hoffman, C, Vandeburgen, H., Hóffe, H., Van Ríe, J., Jansens, S., and H. Van Mellaert, 1988. Specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins is correlated with the presence of high-affinity binding sites in the brush border membrane of target insect midgut. *Proc. Nat. Acad. Aci. USA* 85: 7844-7848.
- Hóffe, H., and H.R. Whiteley, 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.* 53: 242-255.
- Honée.G., vander Salm.T., and B. vlsser, 1988. Nucleotide sequenced the crystal protein gene isolated from *Bacillus thuringiensis* subspecies *entomocidus* 60.5 coding for a toxin highly active against *Spodoptera* species. *Nucleic Acids Res.* 16: 6240.

Karamanlidou, G., Lambropoulos, A.F., Koliais, S.I., Manousis, T. Ellar, D., and C. Kastritsis, 1991. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to laboratory populations of the olive fruit fly (*Dacus oleae*). Appl. Environm. Microbiol. 57:2277-2282.

Knowles B.H., and D.J. Ellar, 1987. Colloid osmotic lysis is a general feature of the mechanisms of action of *Bacillus thuringiensis* delta endotoxins with different insect specificities. Biochem. Biophys. Acta. 924: 509-518.

Martin, P.A.W. and R.S. Travers, 1989. Worldwide distribution of *Bacillus thuringiensis*. Appl. Environm. Microbiol. 55: 2437-2442.

McGaughey, W.H., 1985. Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. Science, 229: 193-195.

McGaughey, W.H. and D.E. Johnson, 1987. Toxicity of different serotypes and toxins of *Bacillus thuringiensis* to resistant and susceptible Indianmeal moths (Lepidoptera: Pyralidae). J. Econ. Entomol. 80: 1122-1126.

Meadows, M.P., Bis, D.J., Butt, J., Jarret, P., and H.D. Burges, 1992. Distribution, frequency, and diversity of

*Bacillus thuringiensis* in an animal feed mili. Appl. Environm. Microbiol. 58: 1344-1350.

Orduz, S., Rojas, W., Correa, M.M., Montoya, A.E., and H. de Barjac, 1992. A new serotype of *Bacillus thuringiensis* from Colombia toxic to mosquito larvae. J. Invertebr. Pathol. 59: 99-103.

Schnepf, H.E., Wong, H.C., and H.R. Whiteley, 1985. The amino acid sequence of a crystal protein from *Bacillus thuringiensis* deduced from the DNA base sequence. J. Biol. Chem. 260: 6264-6272.

Smith, R.A.S., and G.A. Couche, 1991. The phylloplane as a source of *Bacillus thuringiensis* variants. Appl. Environm. Microbiol. 57: 311-315.

Thorne, L, Garduno, F., Thompson, T., Decker, D., Zounes, M., Wild, M., Walfield, A.M., and T. Pollock, 1986. Structural similarities between the Lepidoptera and Díptera specific insecticidal endotoxin genes of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and *israelensis*. J. Bacteriol, 166: 801 -811.

Vaeck, M., Reynaerts, A., Hofte, H., Jansens, S., De Beukeleer, M., Dean, C, Zabeau, M., Van Montagu, M., and J. Leemans, 1987. Transgenic plants protected from insect attacks. Nature (London) 328: 33-37.

Visser, B., Munsterman, E., Stoker, A., and W.G. Dirkse, 1990. Novel *Bacillus thuringiensis* gene encoding *Spodoptera* ex/gua-specific crystal protein. J. Bacteriol, 172: 6783-6788.

Waalwijck, C, Dulleman, A.M. van Workum, M.E.S., and B. Viser, 1985. Molecular cloning and the nucleotide sequence of the Mr 28.000 crystal protein of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Nucleic Acids Res, 13: 8206-8217.

Wabiko, H., Raymond, K.C. and L.A. Bulla Jr, 1986. *Bacillus thuringiensis* entomocidal protoxin gene sequence and gene product analysis. DNA 5: 305-314.

Wards, S., and D. Ellar, 1987. Nucleotide sequence of a *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* gene encoding a 130 kDa delta-endotoxin. Nucleic Acids. Res, 15: 7195.

Whiteley, H.R., and H.E: Schnepf 1986. The molecular biology of parasporal crystal body formation in *Bacillus thuringiensis*. Ann. Rev. Microbiol. 40:549-576.

Widner, W.R., and H.R. Whiteley, 1989. Two highly related insecticidal crystal proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* possess different host range specificities. J. Bacteriol, 171: 965-974.

## ALMACEITE Ltda.

Prestamos servicio de almacenaje para aceite de palma y líquidos en general, por días, meses y años.

Luis Alberto Pinilla M.

Autopista Sur Km. 7  
Zona Industrial Cazucá. Entrada 3  
Tel.: 776 2531 / Fax: 775 7219

Santafé de Bogotá / Colombia