



Enriquecimiento de un suelo agrícola estéril en la germinación de esporas de *Bacillus thuringiensis* de diverso origen de aislamiento
Enrichment of a sterile agricultural soil on the germination of *Bacillus thuringiensis* spore from diverse isolation source

Delmas Mata Juan Teodoro¹, Ruiz-Nájera Ramiro Eleazar² , Márquez-Benavides Liliana⁴ , Ulibarri Gerard³
Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{4*}

Datos del Artículo

¹Universidad Autónoma de Nuevo León.
Facultad de Ciencias Biológicas.
Microbiología Industrial y Suelo.
Av. Universidad S/N, Ciudad Universitaria.
San Nicolás de los Garza, N. L., C.P. 66450.
Monterrey, N.L. México.

²Universidad Autónoma de Chiapas.
Facultad de Ciencias Agronómicas Campus V.
Carretera Ocozocoautla-Villaflora Km 81.
Apartado postal # 78. C.P. 30470.
Villaflora, Chiapas, México.

³Laurentian University.
Department of Chemistry and Biochemistry.
935 Ramsey Lake Rd. Sudbury, ON P3E 2C6.
Sudbury, Canada.

⁴Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.
Laboratorio de Microbiología Ambiental.
Morelia, Michoacán, México.

*Dirección de contacto:
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.
Laboratorio de Microbiología Ambiental.
Av. Francisco J Mujica S/N.
Col Felicitas del Río, CP 58.000 Morelia.
Michoacán, México.
Tel: +0052, 443322 Ext 4240.

Juan Manuel Sánchez-Yáñez
E-mail address: syanez@umich.mx

Palabras clave:

Suelo,
materia orgánica,
enriquecimiento,
esporas,
bacteria nativa,
demanda nutricional.

J. Selva Andina Res. Soc.
2021; 12(2):79-86.

ID del artículo: [150/JSARS/2021](https://doi.org/10.24018/jsars.2021.12.2.79)

Historial del artículo.

Recibido febrero 2021.
Devuelto junio 2021.
Aceptado julio 2021.
Disponible en línea, agosto 2021.

Editado por:
**Selva Andina
Research Society**

Resumen

El objetivo de esta investigación fue analizar la germinación de esporas de *B. thuringiensis* de diverso origen de aislamiento en un suelo agrícola estéril enriquecido con diferentes concentraciones de glucosa como fuente de carbono (C), con NH₄NO₃ (nitrato de amonio) como fuente de N (nitrógeno) y extracto de levadura como factor de crecimiento. Para lo cual la germinación de las esporas de *Bt*, se determinó por pasteurización de suelo por el método de cuenta viable en agar nutritivo. Los resultados indican que esporas de *Bt-1*, *Bt-2* aisladas del suelo, germinaron más que las esporas de la cepa de referencia *Bt HD-1* que mostro la mayor exigencia nutricional, probablemente porque se aisló de un insecto-plaga. En contraste con las cepas *Bt-1* y *Bt-2* recuperadas de un suelo agrícola, respondieron positivamente a la materia orgánica de suelo, así como al enriquecimiento con glucosa. Lo anterior indica que, el origen de aislamiento de cada cepa de *Bt*, condiciona la dependencia nutricional para germinación de las esporas de *Bt* en el suelo y el posible éxito en la efectividad del complejo crista-espora en el control biológico de insectos plaga agrícolas.

2021. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The objective of this research was to analyze the germination of spore of *Bacillus thuringiensis* *Bt-1*, *Bt-2*, and *Bt HD* of diverse isolation source. In that sense *Bt* strain were inoculated alone in sterile soil enrichment with different glucose concentration as carbon (C) source, with NH₄NO₃ as nitrogen (N) source and yeast extract as growth factor to determine de density of germination of spores were pasteurized by using plate accounting viable technique by pasteurization of the soil samples on nutrient agar. The results showed differences between the strains tested. The spores of strains *Bt-1*, *Bt-2* and *Bt-HD-1* had better capacity of germination than the spores of strain *Bt-HD-1* which showed high nutritional demand, since the spores of strain *Bt-HD-1* required, to germinate of dextrose, NH₄NO₃ and yeast extract. This suggest that the nutritional exigency observed may be related with its original habitat of isolation, since the *Bt-1*, *Bt-2* strains are native from soils were capable to utilize part of the organic



Keywords:

Soil,
organic matter,
enrichment,
spores,
native bacteria,
nutritional demand.

material of the soil and glucose. While *Bt*-HD-1 isolated from insects require specific nutrient for geminating its spore in the soil and the possible success in the effectiveness of the crystal-spore complex in the biological control of agricultural pest insects.

2021. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

El control biológico (CB) de los insectos-plaga en la agricultura convencional, orgánica y protegida que pertenecen a los órdenes, Coleóptera, Díptera y Lepidóptera, es posible con la aplicación de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*)¹⁻⁴, una opción para reducir o eliminar el uso de plaguicidas químicos⁵⁻⁷. *Bt* es un género y especie de bacteria formadora esporas, Grampositiva que sintetiza un cuerpo paraesporal ó cristal de proteína (δ -endotoxina) durante la fase de esporulación⁸⁻¹². La mezcla cristal-espora es tóxica para insectos-plaga de los órdenes: Coleoptera, Diptera y Lepidoptera^{2,13-16}, e inocua para humanos, animales o plantas, degradable y manejada con inteligencia (rotación de variedades de *Bt* aisladas de insectos) es mínimo el desarrollo de resistencia en esos insectos-plaga¹⁷⁻¹⁹.

El empleo del complejo cristal-espora consiste en asperjarlo sobre hojas de plantas o en la superficie del agua, lo que no tiene ningún efecto residual, por ello debe reapplicarse en cada ciclo agrícola en el CB de los insectos-plaga involucrados²⁰, debido a la incapacidad de las esporas de *Bt* para germinar con los nutrientes del ambiente (suelo), incluso como célula vegetativa antes o después de esporular²¹ y el posible éxito en la efectividad del complejo crista-espora en el CB de insectos-plaga agrícolas.

Por lo anterior el objetivo de esta investigación fue analizar el efecto del enriquecimiento de un suelo agrícola estéril con glucosa, nitrato de amonio y extracto de levadura y en la germinación de esporas de *B. thuringiensis* de diverso origen de aislamiento.

Materiales y métodos

Origen, de las cepas de Bacillus thuringiensis. Se utilizaron tres cepas de *Bt* denominados *Bt-1* y *Bt-2*, recuperadas de un suelo agrícola del estado de Nuevo León, México y la HD-1, proveniente de un Lepidóptero insecto-plaga de almacén de granos aislado y donado para este trabajo por el Dr. Howard T. Dulmage del USDA, Waco, Texas, EUA. Las cepas de *Bt* se conservaron en refrigeración a 10 °C en agar nutritivo.

Suelo agrícola. Se colectó un suelo agrícola a una profundidad de 15-30 cm, del municipio de Guadalupe, N.L. México, el suelo era mediano en materia orgánica (MO), de pH ligeramente alcalino, textura migajón limosa y no salino^{22,23}. Entonces porciones de 50 g del suelo, que se colocaron en recipientes de cartón se esterilizaron a 121 °C/2h, ahí el pH del suelo se ajustó a 7.0 con HCl 0.1 N, se enriqueció con glucosa (Baker) como fuente de carbono (C) al 1, 3 y 4 % (p/p), como fuente de nitrógeno: NH₄NO₃ (Baker) al 3.0 % (p/p) y como factor de crecimiento se agregó extracto de levadura (Difco) al 0.01 % (p/p), la humedad del suelo, se ajustó al 80 % de la capacidad de campo con agua destilada, en tanto que como control absoluto (CA) se empleó el mismo suelo sin enriquecer con los compuestos indicados, ni inocular con las cepas de *Bt* a pH 7, ajustado a una humedad del 80 % de la capacidad campo.

Preparación del inóculo de esporas de Bt para el suelo agrícola estéril. Las esporas de *Bt* se cosecharon de un cultivo de 72 h de caldo nutritivo

(Bioxon), se suspendieron en NaCl 0.85 % (solución salina), se pasteurizaron a 80 °C/10 min, luego las esporas de *Bt* se lavaron por centrifugación tres veces a 3000 rpm/15 min, posteriormente la suspensión de esporas de *Bt* se ajustó a la turbidez del tubo No. 1 de Mac Farland y diluyó hasta 15.0×10^3 esporas/mL/50 g del suelo agrícola estéril^{24,23}.

Recuperación de las esporas de Bt del suelo estéril.

Diariamente hasta por 5 días seguidos, se tomaron 5.0 g del suelo agrícola inoculado con las esporas de *Bt* y 5 g del suelo sin *Bt* o CA. Para determinar la densidad de la germinación de las esporas de *Bt*, los 5.0 g de cada suelo se suspendieron en 45 mL de

solución salina esterilizada ajustada a pH 7.0, que se pasteurizo a 80 °C/10 min, luego se realizaron diluciones en solución salina para determinar la cantidad de esporas germinadas por cuenta viable en placa en agar nutritivo, todos los datos experimentales se analizaron por ANOVA Tukey ($p < 0.05$)²⁵.

Resultados

Análisis fisicoquímico del suelo. El suelo de acuerdo con el análisis, fisicoquímico se clasificó como franco arenoso con un 93.16 % de arena, pH 7.2 ligeramente alcalino, rico en MO con un valor de 5.2 %²².

Tabla 1 Enriquecimiento de un suelo agrícola estéril con diferentes concentraciones de glucosa sobre la germinación de esporas de *Bacillus thuringiensis*-1 (*Bt*-1)

Tiempo (días)	^a Log UFC x 10 ⁶ esporas germinadas de <i>Bt</i> -1/g suelo seco			
	Control absoluto	Glucosa por ciento (%)		
		1 %	2.5 %	4 %
0	1.40 ^{c*}	1.40 ^c	1.40 ^c	1.40 ^c
1	2.20 ^a	1.35 ^c	1.33 ^c	1.30 ^c
2	2.40 ^a	1.40 ^c	1.42 ^c	1.41 ^c
3	2.40 ^a	1.41 ^c	1.47 ^c	1.43 ^c
4	1.60 ^c	1.42 ^c	2.1 ^a	1.40 ^c
5	1.40 ^c	1.42 ^c	2.1 ^a	1.40 ^c

^aTodos los valores son el promedio de 4 repeticiones,

*valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística (ANOVA Tukey $p < 0.05$)

Tabla 2 Enriquecimiento del suelo agrícola estéril con diferentes concentraciones de glucosa sobre la germinación de esporas de *Bacillus thuringiensis*-2 (*Bt*-2)

Tiempo (días)	^a Log UFC x 10 ⁶ esporas germinadas de <i>Bt</i> -2/g suelo seco			
	Control absoluto	Glucosa por ciento (%)		
		1 %	2.5 %	4 %
0	1.4 ^{d*}	1.4 ^d	1.4 ^d	1.4 ^d
1	2.5 ^c	1.9 ^b	1.9 ^b	2.4 ^b
2	4.1 ^a	2.0 ^b	2.0 ^b	3.5 ^a
3	3.1 ^b	2.2 ^b	2.1 ^b	3.6 ^a
4	2.9 ^b	2.1 ^b	2.2 ^b	3.6 ^a
5	1.9 ^d	1.9 ^b	1.9 ^b	2.0 ^b

^aTodos los valores son el promedio de 4 repeticiones,

*valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística (ANOVA Tukey $p < 0.05$)

Enriquecimiento del suelo agrícola estéril con glucosa nitrato de amonio y extracto de levadura en la germinación de las esporas de Bt. La Tabla 1, presenta el efecto del enriquecimiento del suelo agrícola

estéril con diferentes concentraciones de glucosa sobre la germinación de las esporas de *Bt*-1 ajustado a una humedad relativa del 80 %, ahí se registraron 2.1 Log UFC x 10⁶ esporas germinadas/g suelo seco de *Bt*-1 en suelo estéril con glucosa al 2.5% en los días

4 y 5, los valores numéricos que tuvieron diferencia estadística comparados con los 1.60 y 1.40 Log UFC x 10⁶ esporas germinadas/g suelo seco de *Bt-1* en el suelo sin inocular irrigado con agua o control absoluto.

En la Tabla 2, se muestra el efecto del enriquecimiento del suelo agrícola estéril con diferentes concentraciones de glucosa sobre la germinación de las

esporas de *Bt-2* ajustado a una humedad relativa del 80 %, donde se registró 1.9 y 2.0 Log UFC x 10⁶ esporas germinadas/g suelo seco de *Bt-2* en suelo estéril con glucosa al 1, 3 y 4 % en el día 5, valor numérico que tuvo diferencia estadística comparado con los 1.90 Log UFC x 10⁶ esporas germinadas/g suelo sin inocular irrigado con agua o CA.

Tabla 3 Enriquecimiento de un suelo agrícola estéril con glucosa al 4%, nitrato de amonio al 3% y extracto de levadura 0.1% sobre la germinación de esporas de *Bacillus thuringiensis* HD-1 (*Bt-HD-1*)

Log UFC X 10 ⁶ de esporas germinadas de <i>Bt</i> HD-1/g suelo seco		
Tiempo (días)	Suelo estéril enriquecido	Suelo estéril sin enriquecer
0	1.5 ^{d*}	1.5 ^d
1	1.9 ^c	1.7 ^d
2	2.9 ^b	1.7 ^d
3	3.1 ^b	1.7 ^d
4	3.6 ^b	1.7 ^d
5	4.0 ^a	1.7 ^d

^aTodos los valores son el promedio de 4 repeticiones.,

^{*}valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística (ANOVA Tukey p<0.05)

En la Tabla 3, se muestra el efecto del enriquecimiento de suelo agrícola estéril con glucosa al 4 %, con nitrato de amonio al 3 % y extracto de levadura al 0.1 % sobre la germinación de esporas de *B. thuringiensis* HD-1, ahí se registró 4.0 Log UFC x 10⁶ esporas germinadas de *Bt* HD-1/g suelo seco en el día 5, valor numérico con diferencia estadística comparado con los 1.7 UFC x 10⁶ esporas germinadas de *Bt* HD-1/g suelo del suelo sin enriquecer con glucosa, nitrato de amonio y extracto de levadura o CA.

Discusión

En la Tabla 1, se muestra el pobre efecto del enriquecimiento de suelo estéril agrícola con diferentes concentraciones de glucosa sobre la cantidad de esporas que germinaron de *Bt-1*, dado que además de una fuente de carbono *Bt-1* requiere de una fuente de nitrógeno inorgánico y un factor de crecimiento para activar enzimas necesarias para la reproducción de

Bt-1, los que están ausentes en el suelo e impidieron una germinación de las esporas de *Bt-1*, similar a los reportes de Petras & Casida²⁶, West et al.²⁷ que indicaron que sin estas sustancias las esporas *Bt* no tienen capacidad de germinar, y además pierden rápidamente la viabilidad en las condiciones nutricionales de un suelo agrícola común.

En la Tabla 2, cuando el suelo se enriqueció con dextrosa en concentraciones de 1, 3 y 4 % ahí se observó una pobre germinación de las esporas similar a la detectada en el suelo sin enriquecer, que se utilizó como CA, lo que indica que la MO del suelo no contiene compuestos de sencillos de carbono orgánico, como la glucosa, como lo que reportan, Sekijima et al.²⁸ y Medrano-González et al.²¹. Según se observa en la Tabla 1, las esporas de *Bt-1* en el suelo CA, alcanzaron la máxima germinación con los nutrientes disponibles a pesar de no enriquecerlo, similar a la germinación de esporas de *Bacillus subtilis* en suelo agrícola sin enriquecer usado como CA. Estos resultados

son inusuales para *Bt* cuyo origen son insectos-plaga, que en lo general no germina en suelo no enriquecido con alguna fuente de carbono orgánica sencilla, con una de nitrógeno, en contraste la cepa de *Bt-2*, que respondió a la concentración de glucosa al 3 % y 4 % que estimularon la germinación de las de *Bt* esporas semejante a lo que señalan Pruett et al.²⁴, Aranson et al.²⁹ y Lambert & Perferoen¹⁷ al especificar que entre aislados de *Bt* existen diferencias en las exigencias nutricionales necesarias para que las esporas sobrevivan y germinen en ambientes naturales como el suelo, en específico basado en el patrón de utilización de azúcares sencillos utilizados como fuente de carbono y energía, la fuente de N inorgánica complementada por el factor de crecimiento; en las cepas de *Bt* la dependencia o independencia nutricional para que sobrevivan y germinen en el suelo, se reporta que es función del origen de aislamiento: ya sea de suelo Assaedi et al.³⁰ granos o insectos Chiang et al.³¹, Bhalla et al.³² como ha sido señalado por Li et al.³³, donde *Bt* pueden ser endófitos de plantas medicinales Minu & Dipak³⁴.

En la Tabla 3, se presenta que las esporas de *Bt*-HD-1 germinaron solo cuando se enriqueció el suelo con glucosa, y un factor de crecimiento como el extracto de levadura al 0.01 %, ello supone que la supervivencia de las esporas de *Bt*-HD-1, así como la rápida germinación en suelo sin enriquecer o CA, indican que la germinación de esas esporas no depende de carbono orgánico del enriquecimiento, excepto en el caso de *Bt*-HD-1, él que por el origen del aislamiento a partir de insectos-plaga no comparte con *Bt-2* por razones genéricas la misma exigencia nutricional, como la necesidad obligatoria de la glucosa como fuente de carbono y energía, contrario con las esporas de *Bt-1* que germinaron solo al enriquecer el suelo con glucosa al 4 %, una relativa elevada concentra-

ción de azúcar, probablemente porque este compuesto orgánico es adsorbido por arcillas del suelo, ya que concentraciones de 1 y 3 % retardaron o inhibieron la germinación de las esporas de *Bt-2*. Esta heterogeneidad en la respuesta de las esporas de *Bt* sugiere que las diferencias en la exigencia de carbono orgánico sencillo, de la fuente inorgánica de N, así como el del factor de crecimiento, apoya una estrecha relación entre el hábitat original de aislamiento de cada cepa de *Bt*³³, puesto que *Bt-1* y *Bt-2* recuperadas de suelo, utilizaron nutrientes orgánicos e inorgánicos de esos hábitats, como se demostró en este trabajo, en especial en el suelo agrícola sin enriquecer usado como CA. Mientras *Bt*-HD-1 aislado de insectos-plaga mostro la mayor demanda nutricional, este hecho también fue reportado Aranson et al.²⁹, Brar et al.³⁵. Lo que apoya que entre los aislados de *Bt* podría establecerse una división con base en la demanda nutricional específica, de acuerdo con en el hábitat de origen: suelo, agua, planta o insectos según Carrière et al.³⁶ estas diferencias son genéticas lo determina que las esporas de cada aislado de *Bt* tiene necesidades nutricionales indispensable para las esporas germinen y generen el cristal toxico o *delta* endotoxina, en especial si tienen o no una relación con los insectos-plaga o bien cuando las esporas provienen de *Bt* que existe de manera saprobia en el agua, en el suelo y/o eventualmente como endófito de plantas³³, lo que influye en la efectividad del complejo crista-espora en el CB de insectos plaga agrícolas.

Con base en la literatura y los resultados de este trabajo, se sugiere que *Bt* mediante proceso evolutivo a partir de una estrecha relación con los insectos, ha tenidos cambios genéticos que repercutieron en las necesidades nutricionales de las esporas, para ser independiente de los insectos y/o saprobios en ambientes naturales.

Fuente de financiamiento

A la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH por el proyecto 2.7 (2021).

Conflictos de intereses

Los autores de este artículo, declaramos que no existe ningún conflicto de interés en la planificación, ejecución y redacción de la investigación realizada, como tampoco con aquellas personas e instituciones que la financiaron.

Agradecimientos

A la Dirección de Investigación Científica de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N. L. México.

A BIONUTRA, S.A de CV, Maravatío, Michoacán, México.

Consideraciones éticas

La aprobación de la investigación por el Comité de Ética de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México siguió las pautas establecidas por ese comité.

Aporte de los autores en el artículo

Juan Teodoro Delmas-Mata, realización de los experimentos completos. *Ramiro Eleazar Ruiz Nájera*, resumen, abstract, revisión de antecedentes, materiales y métodos. *Gerard Ulibarri*, revisión y corrección de resultados. *Liliana Márquez Benavides*, análisis estadístico y bibliografía. *Juan Manuel Sánchez-Yáñez*,

planeación y administrador del financiamiento de la investigación, supervisión de resultados y discusión, revisión final del documento para posible publicación.

Literatura citada

1. Valadares De Amorim G, Whittome B, Shore B, Levin DB. Identification of *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki strain HD1-Like bacteria from environmental and human samples after aerial spraying of Victoria, British Columbia, Canada, with Foray 48B. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67(3):1035-43. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.67.3.1035-1043.2001>
2. Praça LB, Cardoso Batista A, Soares Martins É, Brod Siqueira C, Gerhein de Souza Dias D, Menezes Mendes Gomes AC, et al. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. *Pesq Agropec Bras* 2004;39(1):11-6. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2004000100002>
3. Armengol G, Escobar MC, Maldonado ME, Orduz S. Diversity of Colombian strains of *Bacillus thuringiensis* with insecticidal activity against dipteran and lepidopteran insects. *J Appl Microbiol* 2007;102(1):77-88. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03063.x>
4. Portela-Dussán DD, Chaparro-Giraldo A, López-Pazos SA. La biotecnología de *Bacillus thuringiensis* en la agricultura. *Nova* 2013;11(20):87-96. DOI: <https://doi.org/10.22490/24629448.1031>
5. Carreras B. Aplicaciones de la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* en el control de fitopatógenos. *Cienc Tecnol Agropecuaria* 2011; 12(2):129-33. DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol12_num2_art:222
6. Nava-Pérez E, García-Gutiérrez C, Camacho-Báez JR, Vázquez-Montoya EL. Bioplaguicidas:

- una opción para el control biológico de plagas. Ra Ximhai 2012;8(3):17-29.
7. Díaz J. Acción de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* (Berliner), como control biológico de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). Lepidoptera: Noctuidae. Temas Agrarios 2016;21(2):86-91. DOI: <https://doi.org/10.21897/rta.v21i2.904>
 8. Crickmore N, Zeigler DR, Feitelson J, Schnepf E, Van Rie J, Lereclus D, et al. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. Microbiol Mol Biol Rev 1998;62(3):807-13. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.3.807-813.1998>
 9. Zhong C, Ellar DJ, Bishop A, Johnson C, Lin S, Hart ER. Characterization of a *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin which is toxic to insects in three orders. J Invertebr Pathol 2000;76(2): 131-9. DOI: <https://doi.org/10.1006/jpa.2000.4962>
 10. Niedmann Lolas L, Meza-Basso L. Evaluación de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* como una alternativa de manejo integrado de la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick; Lepidoptera: Gelechiidae) en Chile. Agric Téc 2006;66(3): 235-46. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0365-28072006000300002>
 11. Sauka DH, Benintende GB. *Bacillus thuringiensis*: generalidades. Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. Rev Argent Microbiol 2008; 40(2):124-40.
 12. López-Pazos SA, Cerón J. Proteínas Cry de *Bacillus thuringiensis* y su interacción con coleópteros. Nova 2010;8(14):183-94. DOI: <https://doi.org/10.22490/24629448.449>
 13. Sanchis V, Gohar M, Chaufaux J, Arantes O, Meier A, Agaisse H, et al. Development and field performance of a broad-spectrum nonviable asporogenic recombinant strain of *Bacillus thuringiensis* with greater potency and UV resistance. Appl Environ Microbiol 1999;65(9):4032-9. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.65.9.4032-4039.1999>
 14. Van Frankenhuyzen K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. J Invertebr Pathol 2009;101(1):1-16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.02.009>
 15. Gobatto V, Giani SG, Camassola M, Dillon AJP, Specht A, Barros NM. *Bacillus thuringiensis* isolates entomopathogenic for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). Braz J Biol 2010; 70(4):1039-46. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-69842010000500018>
 16. Bravo A, Likitvivatanavong S, Gill SS, Soberón M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. Insect Biochem Mol Biol 2011;41(7):423-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2011.02.006>
 17. Lambert B, Peferoen M. Insecticidal Promise of *Bacillus thuringiensis*: Facts and mysteries about a successful biopesticide. BioScience 1992;42(2): 112-22. DOI: <https://doi.org/10.2307/1311652>
 18. Badii MH, Abreu JL. Control biológico una forma sustentable de control de plagas. Daena: International Journal of Good Conscience 2006;1 (1):82-89.
 19. Rosas-García NM. Advances in developing *Bacillus thuringiensis*-based insecticide formulations. Rev Colomb Biotecnol 2008;10(1):49-63.
 20. Sanchez-Yañez JM, Peña Cabriales JJ. Persistencia de esporas de *Bacillus thuringiensis* en hojas de maíz, frijol y en el suelo. Terra Latinoam 2000;18(4):325-31.
 21. Medrano-González MA, Luna-Olvera HA, Peña-Cabriales JJ, Sánchez-Yañez JM. Sobrevivencia de células vegetativas de *Bacillus thuringiensis* en la esfermosfera/rizosfera de frijol. Terra Latinoam 2000;18(4):333-7.

22. Ortiz VB, Ortiz CA. Edafología. 3ed. UACH. Chapingo. Edo. México; 1980. p. 123-30.
23. Sánchez-Yáñez JM. Breve Tratado de Microbiología Agrícola, Teoría y Práctica. Ed. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. CIDEM, Secretaria de Desarrollo Agropecuario del Gobierno del Estado de Michoacán. COSUSTENTA, SA de CV Morelia, Mich. México; 2007. p. 130-3, 136-8, 153-5.
24. Pruett CJH, Burges HD, Wyborn CH. Effect of exposure to soil on potency and spore viability of *Bacillus thuringiensis*. J Invertebr Pathol 1980;35(2):168-74. DOI: [https://doi.org/10.1016/00222011\(80\)90179-2](https://doi.org/10.1016/00222011(80)90179-2)
25. Walpole ER, Myers R, Myers LS. Probabilidad & Estadística para Ingeniería & Ciencias. Ed. Pearson. México. 2007.
26. Petras SF, Casida LE. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. Appl Environ Microbiol 1985;50(6):1496-501. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.50.6.1496-1501.1985>
27. West AW, Burges HD, Wyborn CH. Survival of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* spore inocula in soil: effect of pH, moisture, nutrient availability and indigenous microorganisms. Soil Biol Biochem 1985;17(5):657-65. DOI: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(85\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0038-0717(85)90043-4)
28. Sekijima Y, Akiba Y, Ono K, Aizawa K, Fujyoshi N. Microbial ecological studies on *Bacillus thuringiensis*. II. Dynamics of *Bacillus thuringiensis* in soil of mulberry field. Jpn J Appl Entomol Zool 1977;21(1):35-40. DOI: <https://doi.org/10.1303/jjaez.21.35>
29. Aronson AI, Beckman W, Dunn P. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. Microbiol Rev 1986;50(1):1-24. DOI: <https://doi.org/10.1128/mr.50.1.1-24.1986>
30. Assaeedi ASA, Osman GEH, Abulreesh HH. The occurrence and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* in the arid environments. Aust J Crop Sci 2011;5(10):1185-90.
31. Chiang AS, Yen, DF, Peng WK. Germination and proliferation of *Bacillus thuringiensis*, in the gut of rice moth larva *Corcyca cephalonica*. J Invertebr Pathol 1986;48(1):96-9. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(86\)90147-3](https://doi.org/10.1016/0022-2011(86)90147-3)
32. Bhalla R, Dalal M, Panguluri SK, Jagadish B, Mandaokar AD, Singh AK, et al. Isolation, characterization and expression of a novel vegetative insecticidal protein gene of *Bacillus thuringiensis*. FEMS Microbiol Lett 2005;243(2):467-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.01.011>
33. Li Y, Dhu C, Shan Y, Geng L, Song F, Zhang J. Complete genome sequence of *Bacillus thuringiensis* Bt185, a potential soil insect biocontrol agent. J Integr Agric 2017;16(3):749-51. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61422-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61422-3)
34. Minu MA, Dipak V. *Bacillus thuringiensis* as endophyte of medicinal plants: auxin producing biopesticide. Int Res J Environment Sci 2014;3(9):27-31.
35. Brar SK, Verma M, Tyagi RD, Valero JR. Recent advances in downstream processing and formulation of *Bacillus thuringiensis* bases biopesticides. Process Biochem 2006;41(2):323-42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.015>
36. Carrière Y, Crowder DW, Tabashnik BE. Evolutionary ecology of insect adaptation to Bt crops. Evol Appl 2010;3(5-6):561-73. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2010.00129.x>

Nota del Editor:

Journal of the Selva Andina Research Society (JSARS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados en mapas y afiliaciones institucionales