

Cómo usar una bacteria para combatir plagas y hongos



Inocua para seres humanos y animales, y segura ecológicamente, *Bacillus thuringiensis* ofrece capacidad biotecnológica para el control de insectos y de hongos fitopatógenos. Y se puede usar también como producto de biomasa.

José E. Barboza-Corona y Blanca I. Escudero Abarca

¿QUÉ ES EL CONTROL BIOLÓGICO?

Existen datos sorprendentes que muestran que la población mundial se ha incrementado de manera desmedida: se informó que en 1993 existían cerca de 5 mil 700 millones de personas, y se especula que en el 2020 serán alrededor de los 8 mil millones. Se ha calculado que para alimentar a la población del año 2025 será necesario aumentar la producción de alimentos en al menos 50%.

Buscar estrategias que permitan incrementar el rendimiento de la producción de alimentos es todo un reto. En este tipo de estrategias se debe usar menos agua, menos tierra y menos plaguicidas.

La aplicación de pesticidas se incrementó en 1 900% durante el periodo de 1930 a 1980, y aun cuando éstos han sido cruciales para aumentar la producción de alimentos, su uso ha ocasionado graves problemas de contaminación ambiental y de salud pública (Sasson, 2000).

Se considera que los insectos plaga y los hongos que atacan a las plantas merman en cerca del 25% la producción agrícola mundial (Barboza-Corona e Ibarra, 1998; Herrera-Estrella y Chet, 1999). El control biológico es una solución al uso de pesticidas químicos, y consiste en la introducción de uno o más microorganismos para controlar a otros, que son causantes de una enfermedad o de la pérdida de algún producto, por ejemplo, agrícola.

La bacteria *Bacillus thuringiensis* es la más usada para el control biológico de plagas forestales y agrícolas, especialmente lepidópteros y coleópteros. *Bacillus thuringiensis* es una bacteria que produce esporas y que puede aislarse casi de cualquier hábitat. Su propiedad insecticida la debe a que fabrica unas proteínas denominadas *Cry*. Estas proteínas forman cristales con diferentes formas (bipiramidales, rectangulares, triangulares, amorfos y otros) (Figura 1). Hay en el mercado diversos productos (Bactospeine DF, DiPel, Biobit, Thuricide, Javelin y Xen Tari) elaborados por varias

compañías, en los que el principio activo lo constituyen estos cristales. Sus proteínas Cry atacan a las plagas y no dañan a la fauna, a los insectos polinizadores ni al medio ambiente; son la parte medular en la producción de gran cantidad de hortalizas orgánicas. Además, los genes *cry* (que codifican para las proteínas Cry) son una fuente importante de información genética para la obtención de plantas transgénicas resistentes al ataque de insectos.

Al ser ingeridos por las larvas de insectos susceptibles, los cristales (o proteínas Cry) se disuelven en el contenido intestinal y liberan una forma preliminar de la proteína, llamada *protoxina*. Cuando las protoxinas son digeridas por las enzimas digestivas del insecto, forman una proteína más pequeña, conocida como endotoxina, la cual envenena al insecto y finalmente lo mata. *Bacillus thuringiensis* también es usada de manera exitosa en el control de mosquitos, y sigue investigándose su posible utilidad para controlar otros tipos de insectos, además de nemátodos, ácaros y protozoarios.

Se ha estudiado la capacidad de *Bacillus thuringiensis* para producir, además de las ya tradicionales proteínas Cry, las proteínas Cyt y Vip, que también son insecticidas. Además se ha detectado que puede producir otras proteínas, como la melanina, y proteasas (enzimas que digieren proteínas), como las queratinasas (que destruyen la queratina, proteína que se presenta en el pelo, la piel y las uñas) y las quitinasas (que atacan a la quitina, un polisacárido presente en las cubiertas de insectos y de hongos); proteínas que, entre otras, podrían tener múltiples usos industriales y ampliar el potencial biotecnológico de la bacteria.

Ya que hasta ahora no se ha demostrado que *Bacillus thuringiensis* cause enfermedades en el ser humano ni en animales domésticos, se le considera inocuo y ecológicamente seguro. Por ello, además de bioinsecticida se podría usar como productor de biomasa o degradador de materia orgánica para la obtención de productos para consumo humano o animal. La falta de toxicidad de *Bacillus thuringiensis* en la elaboración de los productos anteriores representa una gran ventaja sobre otras bacterias (como *Serratia marcescens* y *Escherichia coli*), que podrían ocasionar problemas de salud dada su toxicidad en el ser humano (Rojas-Avelizapa y cols., 1999).

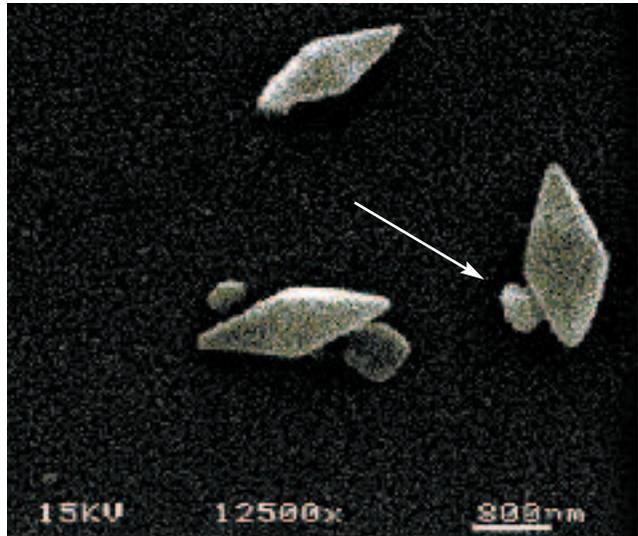


Figura 1. Microfotografía electrónica de barrido, donde se muestran cristales bipiramidales con una inclusión (indicada por una flecha) de una cepa de *Bacillus thuringiensis*. (Proporcionada por el doctor Jorge Ibarra, del Cinvestav, Unidad Irapuato.)

Desde el punto de vista de la biotecnología agrícola, ha surgido un enorme interés en estudiar las quitinasas, gracias a su capacidad para degradar la quitina. Se han investigado las propiedades de las quitinasas de gran cantidad de bacterias (por ejemplo, *Serratia marcescens*, *Enterobacter agglomerans*), de parásitos de hongos (*Trichoderma harzianum*), de hongos que causan enfermedades en insectos (*Metarhizium anisopliae*, *Bauveria bassiana*) y de insectos (*Manduca sexta*) para atacar a hongos y a insectos que constituyen plagas. Sin embargo, las quitinasas de la bacteria *Bacillus thuringiensis* han sido poco estudiadas. En México se ubican

***Bacillus thuringiensis*
es una bacteria que produce
esporas y que puede aislarse
casi de cualquier hábitat**

algunos grupos de investigación que se interesan en hacerlo. Entre ellos hay uno en la Universidad de Guanajuato y otro en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, del IPN, cuyos propósitos en común coincide en aumentar la actividad insecticida y la utilización de dichas enzimas en el aprovechamiento de materia orgánica. Otro grupo más se localiza en el Instituto Tecnológico de Veracruz, y su investigación se enfoca en obtener las quitinasas para el control de hongos fitopatógenos. En este trabajo describimos algunos de los avances en el estudio de las quitinasas de *Bacillus thuringiensis* y su potencial biotecnológico para el control de insectos plaga y hongos fitopatógenos.

LA QUITINA COMO “BLANCO DE ATAQUE” PARA CONTROLAR INSECTOS Y HONGOS FITOPATÓGENOS

La quitina es un polisacárido (sustancia formada por varias moléculas de azúcar unidas entre sí) constituido por unidades de N-acetilglucosamina; es el segundo polímero más abundante en la naturaleza, superado sólo por la celulosa.

Ya que la quitina es un componente limitado sólo a algunas estructuras de insectos, nemátodos, hongos y moluscos, es una biomolécula digna de tomarse en cuenta para planear estrategias de control biológico. La quitina está ausente en animales superiores (por ejemplo, el hombre), lo mismo que en bacterias y en plantas.

No se ha demostrado que *Bacillus thuringiensis* cause enfermedades en el ser humano ni en animales domésticos



Las quitinasas son enzimas que degradan la quitina y están ampliamente distribuidas en animales, plantas y microorganismos. Su actividad contra hongos fitopatógenos, insectos y nemátodos plaga ha despertado gran interés, ya que podrían usarse para controlarlos (Herrera-Estrella y Chet, 1999).

ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LAS QUITINASAS DE *Bacillus thuringiensis*

El interés de las cepas de *Bacillus thuringiensis* como agente de biocontrol se ha enfocado hacia el estudio de las proteínas Cry, que actúan contra una gran variedad de insectos plaga (bioinsecticidas). Sin embargo, a pesar de que se han obtenido excelentes resultados, aún

existen insectos plaga que carecen de las proteínas Cry o que son poco susceptibles a ellas. Esto ha originado que se sigan aislando y caracterizando cepas de *Bacillus thuringiensis* tanto en compañías privadas como en universidades públicas, tecnológicos y centros de investigación, con el propósito

de obtener cepas más tóxicas que las que se comercializan actualmente, o bien para manipularlas genéticamente con el fin de incrementar su toxicidad.

El sistema quitinolítico (mediante el cual *Bacillus thuringiensis* destruye la quitina), que es activado por las sustancias quitinosas, ha sido poco explorado. La detección preliminar de la actividad quitinolítica de *Bacillus thuringiensis* se realiza cultivando la bacteria en medios que, con ese propósito, contienen quitina como única fuente de carbono. Si la bacteria logra sobrevivir, lo hace gracias a que puede digerir la quitina y, por lo tanto, utilizarla como alimento. Se ha detectado actividad quitinolítica en varias subespecies de *Bacillus thuringiensis* (*kurstaki*, *aizawa*, *alesti* y *dendrolimus*). Asimismo, se ha reportado la existencia de cepas con gran capacidad de degradar proteínas, pero poca actividad quitinolíticas (Rojas-Avelizapa y cols., 1999).

En los insectos, la quitina se encuentra en el exoesqueleto (su cubierta externa), la cutícula, la tráquea, el aparato reproductor y la membrana peritrófica; esta última protege de daño mecánico al epitelio intestinal. Se ha sugerido que las enzimas quitinolíticas pueden incrementar el efecto de las proteínas Cry sobre las larvas de los insectos (Regev y cols., 1996). Recientemente, Barboza-Corona y cols. (1999) propusieron el uso combinado de quitinasas de *Bacillus thuringiensis* y sus propias proteínas Cry, las cuales podrían actuar juntas de manera más eficiente. Estos autores seleccionaron cepas quitinolíticas de la bacteria e identificaron la producción de diferentes tipos de quitinasas, y además indicaron que *Bacillus thuringiensis* podría producir niveles tan elevados de quitinasas como la bacteria *Serratia marcescens*, pues puede ser manipulada genéticamente mediante la clonación de los genes de la quitinasa, y aun es factible optimizar las condiciones de su cultivo para que la produzca en exceso.

Si se logra demostrar, mediante bioensayos, la utilidad de las quitinasas de *Bacillus thuringiensis* para incrementar la actividad insecticida de las proteínas Cry, es recomendable analizar su uso desde un punto de vista ecológico antes de proponer su empleo en el campo. Ya que tanto los insectos plaga como los benéficos tienen quitina, podría presentarse algún efecto indeseado de las quitinasas sobre estos últimos. No obstante, cabe recordar que *Bacillus thuringiensis* produce quitinasas de manera natural, aunque en cantidades pequeñas, y que éstas participan en su capacidad para atacar a los insectos (Sampson y Gooday, 1998). Además, cualquier insecto que esté ingiriendo una planta agrónicamente importante es una plaga. La combinación de quitinasas y proteínas Cry se usaría en el momento en que se presente la plaga, a la que afectaría principalmente. Adicionalmente, el hecho de que las quitinasas, al igual que Cry, son proteínas, facilitaría su rápida inactivación utilizando luz ultravioleta (Barboza-Corona e Ibarra, 1998), a diferencia de los insecticidas químicos, que no son biodegradables y siguen teniendo efecto sobre otros seres vivos una vez que exterminan la plaga.

Se ha observado que las quitinasas bacterianas por sí solas no son capaces de tener ningún efecto dañino sobre los insectos. También se ha encontrado que es re-

En los insectos, la quitina se encuentra en el exoesqueleto, la cutícula, la tráquea, el aparato reproductor y la membrana peritrófica

quisito que las proteínas insecticidas (Cry) que se usen para controlar la plaga tengan algún efecto nocivo sobre los insectos, ya que, de no ser así, entonces las quitinasas no serían capaces de dañarlos (ausencia de toxicidad cruzada) (Sampson y Gooday, 1998). Lo anterior es importante desde el punto de vista ecológico, ya que podríamos decir que la combinación quitinasas-proteínas Cry es específica y deja pocos residuos, ventaja por demás importante para cualquier bioinsecticida.

La posible repercusión de las quitinasas de *Bacillus thuringiensis* como agente insecticida, en combinación con las proteínas Cry, se basa en su habilidad para degradar la quitina en condiciones alcalinas (Barboza-Corona y cols., 1999), que son las que se encuentran normalmente en el intestino medio de los insectos. Esta actividad dual podría ayudar a reducir la concentración de endotoxina que se requiere para matar a los insectos, así como a disminuir su posible resistencia a las proteínas Cry. Por otro lado, aun cuando *Bacillus thuringiensis* es usado en México, existen pocos datos oficiales relacionados con la cantidad que se utiliza en el campo mexicano. En 1989, la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos estimó que existió una demanda de 1 718 toneladas para su aplicación en el 10% de la superficie sembrada. Recientemente, el Comité Técnico de Congeladoras del Bajío informó que en el año 2000 se usaron 33 toneladas de productos de *Bacillus thuringiensis* (Javelin, Crymax, Lepinox) para proteger cultivos de brócoli y coliflor en esa zona. Considerando que un cultivo requiere tres aplicaciones y que se usaron 0.5 kilogramos por hectárea, las 33 toneladas protegieron aproximadamente 22 mil hectáreas de

área sembrada. Se ha observado que el uso de pequeñas cantidades de una quitinasa de *Serratia marcescens* fue suficiente para aumentar aproximadamente siete veces la toxicidad de *Bacillus thuringiensis* hacia *Spodoptera littoralis* (Regev y cols., 1996). Tomando como base lo anterior, y considerando la posibilidad de que el producto de proteínas Cry y quitinasas de *Bacillus thuringiensis* fuera más potente (por ejemplo, siete veces), podría resultar atractivo para el agricultor mexicano si se considera que se usaría menos cantidad de producto para proteger la misma extensión de superficie sembrada (alrededor de 0.07 kilogramos por hectárea).

ACTIVIDAD DE LAS QUITINASAS DE *Bacillus thuringiensis* CONTRA HONGOS

Las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos en las frutas, los cereales y las plantas oleaginosas y ornamentales provocan un tercio de la pérdida total de las cosechas en el mundo. Aunado a lo anterior, es importante considerar las infecciones por hongos en los productos perecederos almacenados. Una vez que el hongo infecta un cultivo o el producto almacenado, se propaga rápidamente. El éxito de los hongos se debe a que producen gran cantidad de esporas (más de 10 mil por célula), lo cual les da gran potencial de inoculación, pues éstas son fácilmente transportadas por el viento, el hombre, el agua y los implementos agrícolas. Además, su capacidad de penetrar en las plantas desencadena una serie de mecanismos bioquímicos y moleculares que ocasionan la enfermedad.

El uso de productos químicos contra los hongos (fungicidas) ha permitido proteger los cultivos de diferentes hongos que los afectan o que producen toxinas.

**Cualquier insecto
que esté ingiriendo una planta
agronómicamente importante
es una plaga**

Actualmente se conocen alrededor de 113 ingredientes activos registrados como fungicidas. A pesar de su disponibilidad, es necesario desarrollar nuevos productos antifúngicos para combatir a los hongos resistentes o que tienen sensibilidad reducida a los compuestos actuales, así como para mejorar el rendimiento y la calidad de los cultivos.

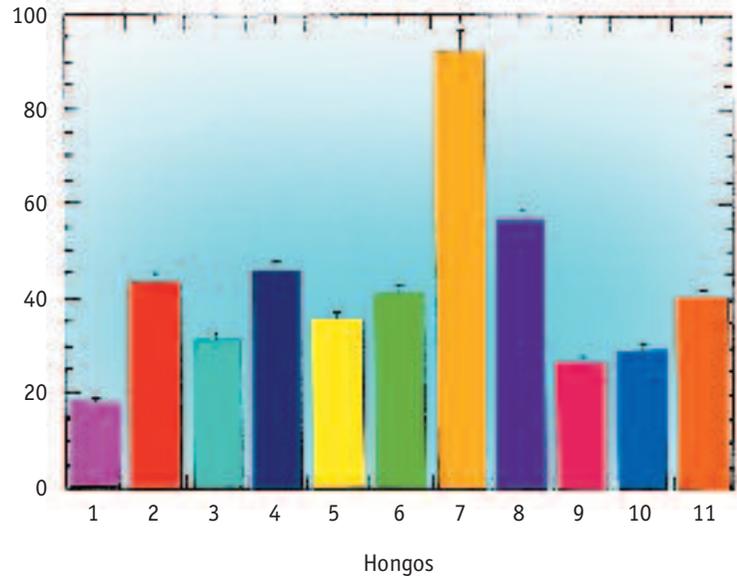
En 1988 se identificaron 60 géneros de hongos con resistencia a 12 diferentes fungicidas. Los distintos tipos de fungicidas han afectado en mayor o menor grado el desarrollo de resistencia en hongos. Las infecciones fúngicas de productos almacenados son particularmente difíciles de controlar con productos químicos, porque las restricciones son más fuertes que en el caso de los cultivos.

Dentro del control biológico de hongos que infectan plantas cabe resaltar el interés que hay por el micoparásito *Trichoderma harzianum* como agente de biocontrol, interés reflejado en el elevado número de publicaciones que aparecen cada año por la cantidad de cepas que se han identificado y por la variedad de productos que son usados por los agricultores. El éxito de estas cepas de *Trichoderma* está basado en su alta capacidad reproductora, su habilidad para sobrevivir bajo condiciones desfavorables, su fuerte agresividad contra hongos que infectan plantas y su eficiencia en promover el crecimiento de plantas. Los mecanismos de biocontrol de *Trichoderma harzianum* han sido ampliamente estudiados e involucran competencia, antibiosis e inducción sistemática de resistencia en plantas, entre otros. Las enzimas que produce, como quitinasas, glucanasas, proteinasas, lipasas y fosfatasa, desempeñan un papel importante al participar en la destrucción de la pared celular y de los componentes de la membrana de ciertos hongos (De la Cruz y cols., 1995). Además pueden actuar de manera sinérgica, lo cual hace que faciliten la entrada de otras sustancias con actividad antifúngica, como los inhibidores de la fabricación de la quitina (dentro de la membrana celular), que reducen la capacidad del huésped para reparar la pared celular.

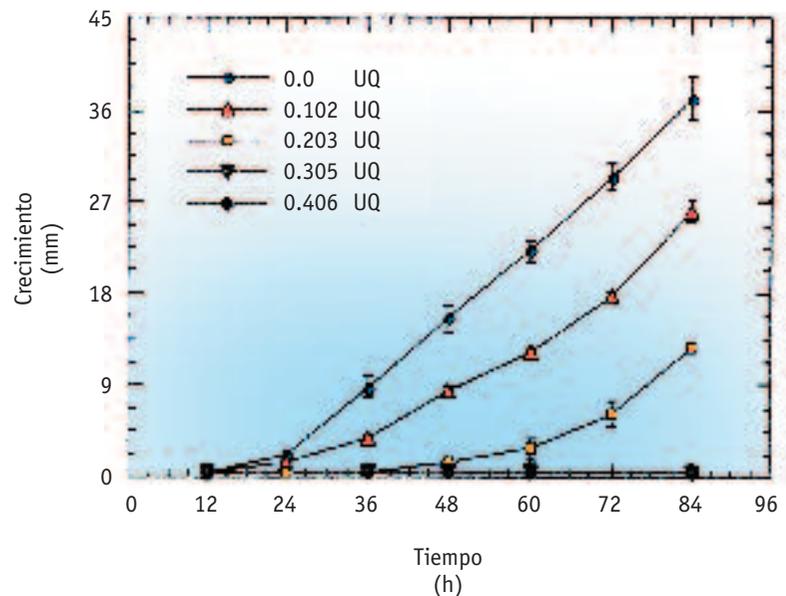
Respecto a la actividad antifúngica de la quitinasa de *Bacillus thuringiensis*, los estudios llevados a cabo por Escudero y cols. (1998) indican que el uso de esta enzima en el control de hongos que infectan plantas

podría ser útil. Se ha seleccionado a *Bacillus thuringiensis* subespecie *israelensis* como la cepa más eficiente para producir quitinasa. También, mediante técnicas de ultrafiltración, se ha establecido un método sencillo y rápido para obtener un concentrado de la enzima en el que se puede estudiar dicha actividad antifúngica. La investigación se está realizando a nivel invernadero y en campo, en vinculación con el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Veracruz. Como acarreador para la enzima se ha seleccionado la quitosana, ya que es un polímero natural biodegradable y no tóxico, que tendría un doble papel: liberar gradualmente la enzima para combatir el hongo y servir como bioestimulante para las plantas. Ello es posible gracias a que estos polímeros, además de inducir la fabricación de proteínas de defensa, estimulan las células vegetales para la producción de compuestos bioquímicos que fortalecen la pared celular y mejoran la resistencia a situaciones de estrés, lo que desencadena cierto aumento en la masa de la raíz, que se traduce en aumento en la velocidad de crecimiento y en mayor vigor de las plantas.

Recientemente, se ha demostrado que el extracto crudo de proteína de quitinasa de *Bacillus thuringiensis* subespecie *israelensis* es capaz de inhibir el crecimiento de varios hongos (Gráfica 1). Se ha observado inhibición en el crecimiento de *Aspergillus terreus*, que alcanza sólo 18%; en menor grado se inhibe el de *Aspergillus fumigatus*, con 92% de crecimiento y, de manera moderada, se ven afectados los hongos *Aspergillus flavus*, *Nigrospora* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus candidus*, *Absidia* sp. y *Helminthosporium* sp., cuyos crecimientos van de 26 a 56%. Por otro lado, la quitinasa de *Bacillus thuringiensis* subespecie *israelensis* también mostró efecto sobre el crecimiento de *Sclerotium rolfsii*, como lo muestra la Gráfica 2. En éste se obtuvo 100% de inhibición cuando se utilizó una concentración de 0.305 UQ/mg de proteína (Reyes Ramírez, 2000).



Gráfica 1. Porcentaje de crecimiento de hongos fitopatógenos en caldo papa-dextrosa, con uso de extracto crudo de quitinasas (0.20 UQ/mg de proteína) de *B. thuringiensis* subsp. *israelensis*. 1. *Aspergillus terreus*, 2. *Aspergillus flavus*, 3. *Nigrospora* sp., 4. *Rhizopus* sp., 5. *Aspergillus niger*, 6. *Fusarium* sp., 7. *A. fumigatus*, 8. *Curvularia* sp., 9. *Aspergillus candidus*, 10. *Absidia* sp., 11. *Helminthosporium* sp. En todos los casos, el crecimiento de cada hongo en ausencia de quitinasa, se consideró en 100%.

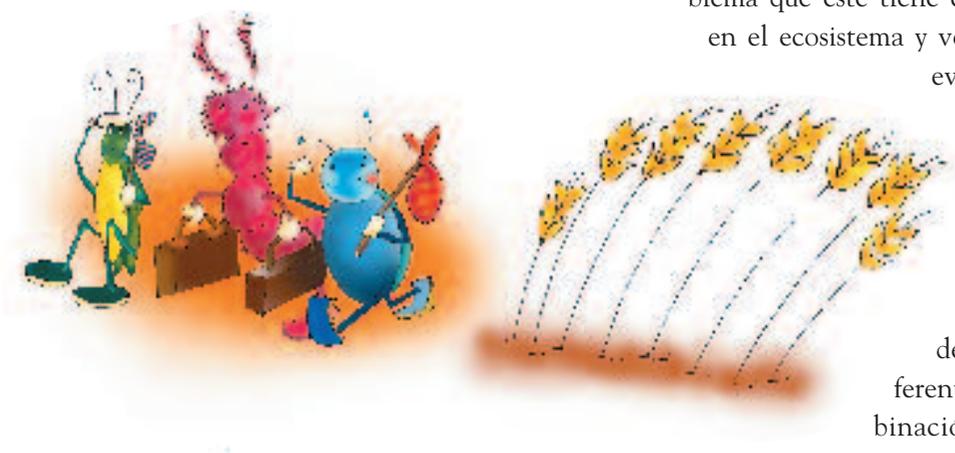


Gráfica 2. Efecto de la concentración de extracto crudo de quitinasa de *Bacillus thuringiensis* subespecie *israelensis* sobre el crecimiento de *Sclerotium rolfsii*.

La manera en que las quitinasas pueden ser utilizadas en el control de hongos fitopatógenos pueden resumirse como sigue: i) introducir microorganismos nativos o genéticamente modificados en la rizosfera, capaces de expresar y secretar quitinasas; ii) producir plantas transgénicas que expresen el gene de quitinasas (Herrera-Estrella y Chet, 1999); iii) añadir enzimas libres o inmovilizadas al agua de riego o incorporarlas como recubrimiento en las semillas. La aplicación directa del microorganismo antagonista es el principal método para introducirlo en el suelo, y el mayor problema que éste tiene es la necesidad de establecerse en el ecosistema y vencer la microflora del suelo y

evitar los posibles efectos dañinos en los hongos micorrizas.

La aplicación de enzimas libres o inmovilizadas tiene un uso potencial en el control biológico de hongos fitopatógenos. La combinación de enzimas quitinolíticas con diferentes modos de acción o en combinación con los microorganismos antagonísticos podría elevar el efecto y el espectro de inhibición del patógeno.



**Actualmente
se conocen aproximadamente
113 ingredientes activos
registrados como fungicidas**

CONCLUSIONES

Los datos presentados muestran el potencial biotecnológico de las quitinasas de *Bacillus thuringiensis* en el control biológico de insectos (bioinsecticidas) y de hongos fitopatógenos (biofungicidas). Es posible el empleo combinado de quitinasas provenientes de diferentes microorganismos (con diferentes modos de acción) y con otras biomoléculas (por ejemplo, proteínas Cry), y también es factible encontrar efectos sinérgicos. Una consideración importante en el desarrollo de productos que incluyan a las quitinasas de *Bacillus thuringiensis* es su compatibilidad con otros métodos de control. Uno de los propósitos de los agentes de control biológico es el de tratar de disminuir el uso de productos químicos; sin embargo, deben englobarse dentro de un manejo integrado de plagas, en el que se incluyan todos los métodos de control, aun el químico. Un solo método de control puede ser inadecuado.

cuado, mientras que la combinación de varios puede llevar a resultados efectivos.

Finalmente, cabe recalcar que previamente al uso comercial de una quitinasa de *Bacillus thuringiensis* sería importante estudiar su estructura y su función, y compararlas con las de quitinasas de vertebrados superiores, así como hacer estudios de tipo ecológico, una vez que se tenga bien establecida la relación quitinasa-proteína Cry-insecto y quitinasa-hongo fitopatógeno.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Conacyt y a la Fundación Guanajuato Produce y Cosnet el apoyo otorgado a través de los proyectos J35306-B, 03/98 y 865.98-P, respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Barboza-Corona, J. E., y J. E. Ibarra (1998), "Proteínas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*", *Boletín de Educación Bioquímica*, 17:3-10.
- Barboza-Corona, J. E., J. C. Contreras, M. Olmos, R. Velázquez-Robledo, M. Bautista-Justo, M. Gómez-Ramírez, R. Cruz-Camarillo y J. E. Ibarra (1999), "Selection of chitinolytic strains of *Bacillus thuringiensis*", *Biotechnology Letters*, 21:1125-1129.
- De la Cruz, J., J. A. Pintor-Toro, T. Benítez y A. Llobl (1995), "Purification and characterization of an endo- β -1,6-glucanase from *Trichoderma harzianum* that is related to its mycoparasitism", *Journal of Bacteriology*, 177:1864-1871.
- Downing, K. J., G. Leslie y J. A. Thompson (2000), "Biocontrol of the sugarcane borer *Eldana saccharina* by expression of the *Bacillus thuringiensis* cry1Ac7 and *Serratia marcescens* chiA genes in sugarcane-associate bacteria", *Applied Environmental Microbiology*, 66:2804-2810.
- Escudero, B., I. de la Cruz y M. Ramírez (1998), "Biocontrol of phytopathogenic fungi in bean seeds by crude extracts of chitinase", *IFT Annual Meeting*, Atlanta, p. 156.
- Herrera-Estrella, A., e I. Chet (1999), "Chitinases in biological control", en P. Jolles y R. A. Muzzarelli (comps.), *Chitin and Chitinases*, Boston, Birkhauser pp. 171-184.
- Regev, A., M. Keller, N. Strizhov, B. Sneh, E. Prudovsky, I. Chet, I. Ginzberg, Z. Koncz-Kalman, C. Koncz, J. Schell y A. Zilberstein (1996), "Synergistic activity of a *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin and a bacterial endochitinase against *Spodoptera litoralis* larvae", *Applied and Environmental Microbiology*, 62:3581-3586.
- Reyes Ramírez, A. (2000), "Control biológico de hongos fitopatógenos en semillas de soya, por la quitinasa de *Bacillus thuringiensis*", tesis de maestría, Instituto Tecnológico de Veracruz.
- Rojas-Avelizapa, L. I., R. Cruz-Camarillo, M. I. Guerrero, R. Rodríguez-Vázquez y J. E. Ibarra (1999), "Selection and characterization of a proteo-chitinolytic strain of *Bacillus thuringiensis*, able to grow in shrimp waste media", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15:261-268.
- Sampson, M. N., y G. W. Gooday (1998), "Involvement of chitinases of *Bacillus thuringiensis* during pathogenesis in insects", *Microbiology*, 144:2189-2194.
- Sasson, A. (2000), "La contribución de las biotecnologías a la alimentación", *Biotecnología Aplicada*, 17:1-6.
- Wiwat, C., S. Thaithanun, S. Pantuwatana y A. Bhumiratana (2000), "Toxicity of chitinase-producing *Bacillus thuringiensis* kurstaki HD-1 (G) toward *Plutella xylostella*", *Journal of Invertebrate Pathology*, 76:270-277.

José Eleazar Barboza Corona es doctor en ciencias, con especialidad en biotecnología de plantas. Su interés central en la investigación son los bioinsecticidas. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores. Actualmente se desempeña como profesor titular del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato.

Blanca Irene Escudero Abarca es doctora en ciencias con especialidad en microbiología. Su interés central en la investigación son los antimicrobianos de origen natural, de manera específica las bacteriocinas de bacterias lácticas con uso potencial como bioconservadores de alimentos y quitinasas microbianas en el biocontrol de hongos fitopatógenos. Actualmente es profesora investigadora de la Unidad de Investigación en Alimentos (UNIDA) del Instituto Tecnológico de Veracruz.