



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**MONOGRAFÍA SOBRE EL ESTADO DEL ARTE DEL CONTROL
MICROBIOLÓGICO DE LA POLILLA DEL TOMATE, *Tuta absoluta* (Meyrick)
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE): MICROORGANISMOS MÁS
UTILIZADOS Y SU EFECTIVIDAD**

SERGIO PABLO GAJARDO RETAMAL

**SANTIAGO - CHILE
2016**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**MONOGRAFÍA SOBRE EL ESTADO DEL ARTE DEL CONTROL
MICROBIOLÓGICO DE LA POLILLA DEL TOMATE, *Tuta absoluta* (Meyrick)
(LEPIDOPTERA:GELECHIIDAE): MICROORGANISMOS MÁS UTILIZADOS Y
SU EFECTIVIDAD**

**MONOGRAPHY ON THE STATE OF THE ART IN MICROBIAL CONTROL OF
THE TOMATO BORER, *Tuta absoluta* (Meyrick)
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE): MOST UTILIZED MICROORGANISMS AND
THEIR EFFECTIVENESS**

SERGIO PABLO GAJARDO RETAMAL

**SANTIAGO – CHILE
2016**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

**MONOGRAPHY ON THE STATE OF THE ART IN MICROBIAL CONTROL OF
THE TOMATO BORER, *Tuta absoluta* (Meyrick)
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE): MOST UTILIZED MICROORGANISMS AND
THEIR EFFECTIVENESS**

**Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniero Agrónomo.**

SERGIO PABLO GAJARDO RETAMAL

PROFESOR GUÍA	Calificaciones
Gabriela Lankin V. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc., Ph.D.	6,5
PROFESORES EVALUADORES	
Jaime Araya C. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc., Ph.D.	5,5
Tomislav Curkovic S. Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	6,3

SANTIAGO – CHILE
2016

DEDICATORIA

“ A mis Padres, Sergio y Eva, con todo mi cariño y esfuerzo”

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres, a Nico, a Susi, y a Maty por todo el apoyo brindado y por haber confiado en mi.

A mi profesora guía Gabriela Lankin, por su comprensión y buena disposición al momento de necesitar su ayuda.

A todos quienes son parte de mi vida y que de alguna u otra forma aportaron con su granito de arena para que esto fuese posible.

Y agradezco a Dios por permitirme llegar a este punto de mi vida, y hoy cumplir uno de mis grandes sueños, el graduarme de la universidad.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Objetivo general.....	5
Objetivos específicos	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Lugar de estudio.....	6
Materiales y fuente de información.....	6
Metodología	6
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
El cultivo del tomate	7
Importancia del cultivo	7
El tomate en Chile.....	7
Polilla del tomate	8
Origen y distribución geográfica.....	9
Aspectos biológicos.....	10
Daños ocasionados	12
Métodos de control de <i>Tuta absoluta</i>	13
Control químico	14
Control biológico	15
Control microbiológico	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
Principales microorganismos utilizados en el control de <i>T. absoluta</i>	18
Bacterias entomopatógenas	18
<i>Bacillus thuringiensis</i> (<i>Bt</i>).....	19
Mecanismo de acción de <i>B. thuringiensis</i>	20
Plantas transgénicas o plantas <i>Bt</i>	23
Efectividad de las bacterias entomopatógenas sobre <i>T. absoluta</i>	25
Hongos entomopatógenos	26
<i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Beauveria bassiana</i>	27
Mecanismo de acción de los HEP.....	29
Efectividad de los HEPs sobre <i>T. absoluta</i>	30

Virus entomopatógenos	31
Los Baculovirus	32
Mecanismo de acción de los baculovirus.....	33
Efectividad de los virus entomopatógenos sobre <i>T.absoluta</i>	39
Nematodos entomopatógenos	37
Steinernematidae y Heterorhabditidae	37
Mecanismo de acción de los NEPs	38
Efectividad de los NEPs sobre <i>T. absoluta</i>	40
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43

RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es el cultivo hortícola de mayor importancia a nivel mundial, sin embargo, su rendimiento se ve constantemente afectado por el persistente ataque de plagas y enfermedades a lo largo de la temporada. Dentro de las plagas primarias que afectan al cultivo en Chile, la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick) es muy relevante, ya que puede ocasionar pérdidas cercanas al 90% en el rendimiento al no ser controlada. El principal método de control de este lepidóptero se ha restringido tradicionalmente al uso de plaguicidas de origen químico, práctica que en la actualidad está siendo fuertemente cuestionada debido al daño al ambiente, a insectos benéficos, a la salud humana, así como también por el desarrollo de resistencia a estos productos por parte de la plaga.

Por esta razón en las últimas décadas ha cobrado importancia el desarrollo de alternativas a los insecticidas como el control microbiológico de plagas. El objetivo de este estudio fue determinar el estado del arte en relación al control microbiológico de *Tuta absoluta* según la literatura científica nacional e internacional. Para ello, se buscó información respecto a aspectos biológicos y daños ocasionados por *T. absoluta*. Luego la búsqueda se centró en el tomate, dado que es el principal cultivo hospedero. Posteriormente, se procedió con la búsqueda de los distintos métodos de control existentes, señalando al control microbiológico como una alternativa al control químico, describiendo los principales microorganismos biocontroladores utilizados para el control de esta plaga.

Los resultados que se obtuvieron de la recopilación bibliográfica indican que trabajos realizados en Chile y el mundo, han demostrado el gran potencial de utilizar estos microorganismos en el control de *T. absoluta*, alcanzando mortalidad cercana al 90% en algunas evaluaciones. Actualmente, el microorganismo más utilizado a nivel mundial en el control de esta plaga es la bacteria *B. thuringiensis*, especie que ha mostrado actividad tóxica relevante contra larvas de polilla del tomate, al igual que las especies de nematodos entomopatógenos, tales como *Steinernema carpocapsae* y *S. feltiae*, los cuales alcanzan una mortalidad de larvas de hasta un 88% y 92%, respectivamente.

Cuando un microorganismo no logra por sí sólo controlar de forma eficiente a *T. absoluta*, se recomienda combinar todas las herramientas compatibles en un programa de manejo integrado de plagas (MIP), minimizando el uso de productos fitosanitarios y priorizando las prácticas culturales, físicas y biológicas.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, lepidóptero, microorganismos entomopatógenos, *Bacillus thuringiensis*, nematodos.

ABSTRACT

The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is the most important horticultural crop worldwide, however, their yield is constantly affected by the persistent pests and diseases throughout the season. Within the primary pests that affect the crop in Chile, tomato moth (*Tuta absoluta* Meyrick) is very relevant, because it can cause losses close to 90% in yield if it not being controlled. The main method of control of this lepidopteran has traditionally been restricted to the use of chemical pesticides, practice that is currently being strongly questioned due to damage to the environment, beneficial insects, human health, as well as the development of resistance by the pest populations.

For this reason, in recent decades it has become important the development of alternatives to insecticides such as microbiological control of pests. The objective of this study was to determine the state of the art in relation to the microbiological control of *Tuta absoluta* according to national and international scientific literature. For that, the information was sought respect to biological aspects and damage caused by *T. absoluta*. Then the search was focused in tomatoes, due it is the main host crop. Subsequently, the search proceeded with the different existing control methods, and pointing out the microbiological control as an alternative to chemical control, describing the main biocontrol microorganisms used to control this pest.

The results obtained from the bibliography review indicate that works done in Chile and in the world, have demonstrated the great potential of using these microorganisms in the control of *T. absoluta*, achieving mortality levels close to 90% in some evaluations. Nowadays, the microorganism most used worldwide in controlling this pest is the bacterium *B. thuringiensis*, species that has shown significant toxic activity against tomato moth larvae, as well as the specices of entomopathogenic nematodes, such as *Steinernema carpocapsae* and *S. feltiae*, which reach a larval mortality up to 88% and 92%, respectively.

When a microorganism is unable to control *T. absoluta* efficiently by itself, it is recommended to combine all compatible tools in a program of integrated pest management (IPM), minimizing the use of pesticides and prioritizing cultural, physical and biological practices.

Key words: *Solanum lycopersicum*, lepidopteran, entomopathogenic microorganisms, *Bacillus thuringiensis*, nematodes.

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.), es considerado la hortaliza más importante a nivel mundial, ocupando el primer lugar tanto en superficie como en volumen de producción (Flaño, 2014). Este cultivo se caracteriza por poseer una alta eficiencia productiva por unidad de superficie, sin embargo, su rendimiento se puede ver afectado por diversos factores, tanto bióticos como abióticos (Paniagua, 2002).

Dentro los factores bióticos que afectan a este cultivo, se encuentran las plagas, entre ellas, una de las más importante y de mayor consideración tanto a nivel nacional como internacional, corresponde a *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae), comúnmente denominada polilla del tomate. En Chile, esta especie es considerada plaga primaria para el cultivo, debido a que puede llegar a ocasionar pérdidas en el rendimiento del orden del 90% si no se realiza un control oportuno (Estay, 2000). La polilla del tomate, también puede afectar, pero con menor incidencia, a otras especies solanáceas como la papa, la berenjena, pepino dulce y malezas como el tomatillo y el chamico (Cáceres, 2004).

El daño causado por este lepidóptero es realizado por las larvas, las cuales una vez eclosadas, penetran las hojas nuevas y comienzan a alimentarse del mesófilo, formando galerías transparentes de distintos tamaños. También pueden afectar botones florales, flores y frutos, donde hacen galerías desde el extremo peduncular, favoreciendo la entrada de patógenos que causan pudriciones y caída de los mismos (Cáceres, 2004; Rodríguez et al., 2007). Marín et al. (2002) señalan que el daño provocado puede causar el rechazo de los frutos en el mercado debido a su desvalorización comercial completa. Además, destacan que se trata de una plaga cuarentenaria para el mercado de los Estados Unidos.

El hábito minador de la plaga, las altas densidades poblacionales y su incidencia directa sobre los frutos, han llevado a los productores a realizar hasta más de dos aplicaciones por semana sin un monitoreo previo que determine el estado en que se encuentra la plaga y el nivel de daño en el cultivo. Esta forma apresurada e indiscriminada de control, ha generado problemas de contaminación ambiental, muerte de insectos benéficos, residuos químicos en los frutos, intoxicaciones, y además, se ha detectado un aumento en el desarrollo de resistencia por parte de las plagas a los principios activos de los agroquímicos utilizados, fenómeno que ha sido documentado para esta especie en Chile, Argentina y Brasil (Lietti et al., 2005; Collavino y Giménez, 2008; Rifo, 2013).

Como resultado de esto, hoy se busca privilegiar el uso de estrategias más “limpias” de control, entre las que se encuentran el control biológico de plagas y enfermedades (France et al., 2008), el cual consiste en la utilización de organismos vivos (enemigos naturales) locales o introducidos, para mantener la población de la plaga por debajo del nivel de daño económico. Si bien el empleo de depredadores y parasitoides es ampliamente conocida, existe un área menos desarrollada en el control biológico, pero igual de efectiva, denominada control microbiológico de insectos. Como su nombre lo indica este último se basa en la utilización de microorganismos entomopatógenos, tales como bacterias, hongos,

virus y nematodos para reducir y controlar las poblaciones de insectos plaga (Sepúlveda et al., 2010). Estos patógenos de insectos generalmente tienen como efecto la muerte directa del organismo plaga, actuando como antagonistas, inhibiendo el desarrollo mediante sustancias que excretan (Rodríguez del Bosque y Arredondo, 2007).

Uno de los agentes microbiológicos más utilizados para el control de plagas, es la bacteria *Bacillus thuringiensis*, la cual libera proteínas Cry en forma de cristal que son consumidas por los insectos plaga, produciéndose en éstos un cese de la ingesta de alimentos, parálisis total y finalmente la muerte (Nicholls, 2008). Su especificidad contra insectos plaga representa una de las grandes ventajas de este biocontrolador, ya que resulta completamente inocuo para otro tipo de insectos, especialmente los benéficos, tales como depredadores, parasitoides y polinizadores, lo que le confiere una alta eficiencia ecológica (Sauka y Benintende, 2008).

Destacan también los hongos entomopatógenos (HEP), con más de 750 especies, entre los cuales resaltan los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*. En este caso el insecto se ve afectado al entrar en contacto con las esporas del hongo, las cuales se adhieren e invaden el cuerpo del insecto, germinando y penetrando dentro del mismo, hasta que ocurre la liberación de toxinas causándole la muerte (Sepúlveda et al., 2010). Nicholls (2008) plantea que los HEP tienen un potencial epizootico considerable, ya que pueden dispersarse a través de una población y provocar que ésta colapse en pocas semanas.

Respecto a los virus patógenos de insectos, estos tienen partículas cuya morfología es muy variable, tanto en forma como en tamaño y pueden presentar como genoma ADN o ARN, y de hebra simple o doble. Todos los virus entomopatógenos se agrupan en 15 familias y 33 géneros, destacando las familias Baculoviridae, Poxviridae y Reoviridae (Caballero y Williams, 2008).

En relación a los nematodos entomopatógenos (NEP), los géneros más utilizados en control microbiológico de *T. absoluta* corresponden a los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*. El nematodo se caracteriza por actuar en forma conjunta con una bacteria simbiote que porta en su intestino, la cual es liberada dentro del huésped generando su muerte (Hazir et al., 2004). Entre las características que poseen estos microorganismos está su habilidad de matar a su hospedero en 48 horas, además de no generar resistencia en el mismo (Nicholls, 2008).

Esta monografía tiene por finalidad entregar un enfoque actualizado del control microbiológico de *T. absoluta*, describiendo sus principales agentes biocontroladores, con sus respectivos modo de acción. Además, se describirá la efectividad de cada uno de estos biocontroladores sobre esta plaga, cuyo principal método de control en la actualidad es mediante el uso de agroquímicos, los cuales son cuestionados debido al desarrollo de resistencia por parte de la plaga, además, de la contaminación ambiental y daño a insectos benéficos (Rifo, 2013; Ruisánchez, 2013).

Objetivo general

- Determinar el estado del arte en relación al control microbiológico de *Tuta absoluta* (Meyrick) según la literatura científica nacional e internacional.

Objetivos específicos

- Recopilar información actualizada en la literatura científica nacional e internacional en relación a los géneros de bacterias, hongos, virus y nematodos más estudiados y utilizados para el control de *Tuta absoluta* (Meyrick).
- Describir la efectividad de cada uno de los agentes biocontroladores antes mencionados sobre el control de *Tuta absoluta* (Meyrick) de acuerdo a la literatura consultada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicado en la comuna de La Pintana, Región Metropolitana. El proceso de recopilación bibliográfica se realizó durante los meses de marzo 2014 y septiembre 2015. Posteriormente, el proceso de análisis de la información se llevó a cabo entre los meses de octubre y diciembre del 2015.

Materiales y fuente de información

La información necesaria para la realización del presente estudio se obtuvo de diversas fuentes bibliográficas. Entre ellas es posible mencionar las siguientes:

- Libros relacionados con el tema en estudio, obtenidos en bibliotecas y universidades.
- Memorias de título y tesis de posgrado de distintas universidades nacionales e internacionales con relación al control biológico de plagas.
- Artículos de revistas obtenidas en publicaciones periódicas tales como Chilean Journal of Agricultural Research, The Journal of Animal & Plants Sciences, Journal of Nematology, entre otros.
- Páginas de internet debidamente reconocidas en el ámbito científico, entre las cuales destacan, Elsevier, Springer, Intech, NCBI (National Center for Biotechnology Information), Scielo, entre otras de carácter científico.

Metodología

En cuanto a la metodología utilizada, en una primera etapa, se realizó una búsqueda de información sobre *T. absoluta*, enfocándose en su origen y expansión, aspectos biológicos y los daños ocasionados. Para aquello se utilizaron palabras claves en inglés tales como “Tomato borer”, “South American tomato moth” para facilitar su búsqueda. Posteriormente, se buscó información acerca del cultivo del tomate, dado que es su principal cultivo hospedero. Luego se procedió con la búsqueda de los distintos métodos de control sobre esta plaga, señalando las consecuencias negativas del uso de agroquímicos y las ventajas del control microbiológico, y describiendo los principales microorganismos biocontroladores utilizados para el control de esta plaga, señalando sus características, sus respectivos mecanismos de acción y la efectividad que posee cada uno de ellos sobre esta plaga.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El cultivo del tomate

Importancia del cultivo

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.), es una hortaliza que pertenece a la familia de las solanáceas. Su origen ha sido propuesto para la región andina de Perú, Bolivia, Ecuador y el norte de Chile. Actualmente es considerada la hortaliza más importante en el mundo, produciéndose hoy en día más de 150 millones de toneladas (Pinto, 2002; Tapia, 2013).

Entre sus características destacan sus propiedades nutricionales, siendo uno de los alimentos con mayor contenido de licopeno, potente antioxidante que contribuye a reducir la incidencia de enfermedades cancerosas y además es efectivo para disminuir la presión arterial. También es rico en vitaminas A, C y E y minerales como el calcio y fósforo (Tapia, 2013).

El tomate en Chile

Esta hortaliza es considerada una especie de estación cálida suficientemente tolerante al calor y a la sequía y muy sensible a las heladas. A pesar de esto último, el tomate de consumo fresco está presente en los mercados del país durante todo el año. El amplio rango de condiciones agroclimáticas que ofrece el país hace posible su cultivo desde la Región de Arica y Parinacota hasta la Región de los Lagos, destacando la V, RM, VI y VII región como las principales áreas de cultivo (Escalona et al., 2009).

Flaño (2014) señala que en Chile se cultivan actualmente más de 13.300 hectáreas de tomate, de las cuales, un 38% está constituido por plantaciones para consumo fresco y un 62% por plantaciones con destino agroindustrial.

El rendimiento potencial de tomate para consumo fresco cultivado al aire libre es de aproximadamente 80 ton/há y bajo invernadero debería superar los 120 ton/há (Escalona et al., 2009). Sin embargo, estos valores son complicados de alcanzar, ya que existen diversos factores que podrían llegar a afectar la productividad del cultivo, entre estos se encuentran los factores abióticos y los factores bióticos (Figura 1).

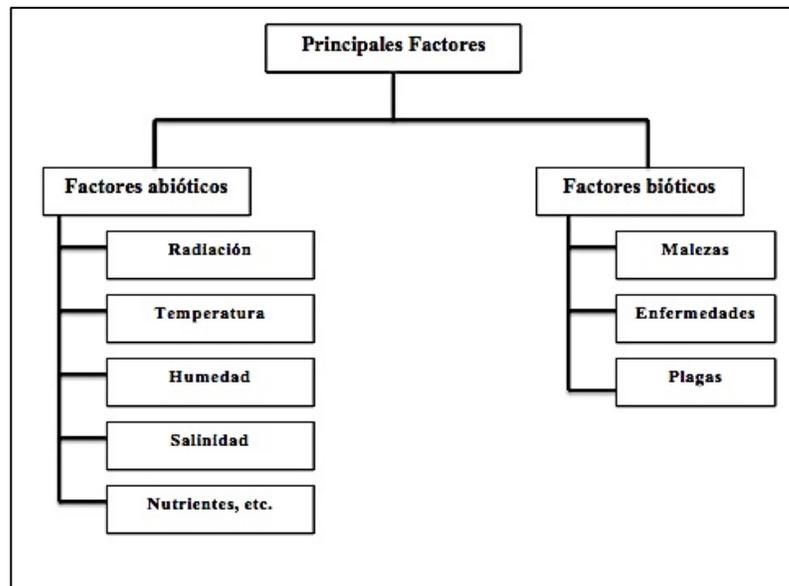


Figura 1. Factores que afectan la productividad del cultivo del tomate (Elaboración propia).

Dentro de los factores bióticos que afectan el desarrollo y la productividad del cultivo del tomate se encuentran las malezas, enfermedades y plagas, donde la mosquita blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) y la polilla del tomate (*Tuta absoluta*) son las principales plagas en Chile (Escalona et al. 2009).

La mosquita blanca está presente en todo el mundo, y su daño principal se relaciona al debilitamiento de las plantas, deterioro de la calidad de frutos por secreciones azucaradas que originan fumagina y la reducción de la capacidad fotosintética de las hojas (Estay, 2007b).

Polilla del tomate

La polilla del tomate *T. absoluta*, también conocida comúnmente como polilla perforadora, cogollero del tomate o gusano minador del tomate, pertenece al orden Lepidoptera y a la familia Gelechiidae. En Chile, esta especie es considerada plaga primaria del tomate tanto al aire libre como bajo invernadero, causando pérdidas en el rendimiento cercanas al 90% si no se controla oportunamente (Rifo, 2013). Además, puede afectar con menor incidencia a otras especies de la misma familia como la berenjena (*Solanum melongena* L.), la papa (*Solanum tuberosum* L.), el pepino dulce (*Solanum muricatum* L.) y el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (Ruisánchez, 2013). Otros hospederos de esta polilla son algunas malezas de la familia Solanaceae como el tomatillo, la hierba mora y el chamico (Paniagua, 2002).

A nivel agrícola, la infestación de plagas de lepidópteros en cultivos, es considerada una amenaza para los agricultores de todo el mundo. Estas plagas se caracterizan por ser

perjudiciales sólo en su fase larvaria, debido a que los adultos son inofensivos y en la mayoría de los casos se alimentan con su espiritrompa de los líquidos azucarados de las flores. Las larvas poseen un aparato masticador, con el cual suelen principalmente defoliar y perforar a los vegetales, causando enormes pérdidas económicas a la producción agrícola (Sowjanya y Varma, 2015).

Origen y distribución geográfica

La polilla del tomate es una plaga originaria de Sudamérica, endémica en la mayoría de las zonas productoras de tomate, donde representa uno de los problemas sanitarios más importantes del cultivo. Su distribución se extiende por Sudamérica en países como Argentina, Bolivia, Paraguay, Perú, Uruguay, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador y Venezuela (Ruisánchez, 2013). Cáceres (2004) indica que esta plaga fue descrita por primera vez en 1917 en Perú, e ingresó a Chile probablemente por el norte en el año 1955. En Chile afecta al cultivo del tomate en forma importante desde la I a la VII Región.

En 2006 se encontraron los primeros ejemplares de *Tuta absoluta* en España (Rifo, 2013). Luego en 2008, se registró la presencia de la plaga en otros países tales como Francia, Italia, Marruecos, Túnez, Libia, Argelia y en el año 2009 en Albania, Bulgaria, Chipre, Alemania, Malta, Portugal, Suiza, Holanda, Australia y Reino Unido (Shalaby et al., 2013) (Figura 2).

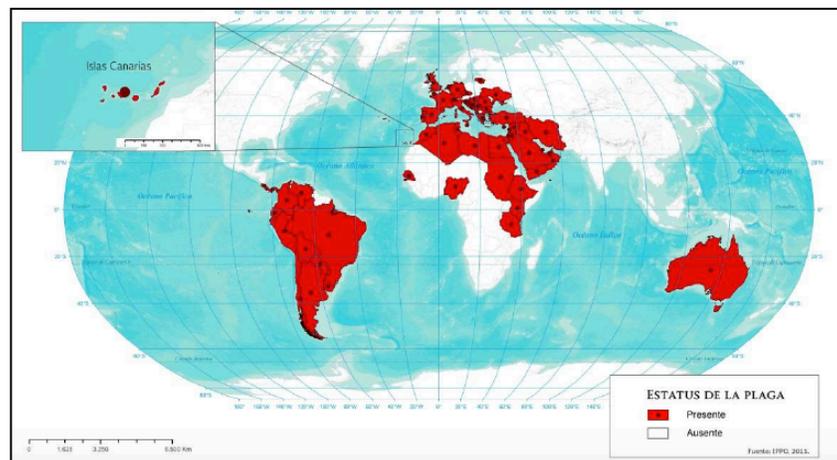


Figura 2. Distribución mundial de *T. absoluta* (SENASICA, 2015)

Aspectos biológicos

El ciclo biológico de esta plaga puede durar entre 24 y 76 días, dependiendo de las condiciones ambientales, especialmente de la temperatura, siendo el rango óptimo de 24 a 27°C (Urbina, 2009). La tasa de desarrollo se ve favorecida con el aumento de la temperatura, observándose que a 27 °C el ciclo se completa en 23,8 días (Estay, 2000; SENASICA, 2015) (Cuadro 3).

Cuadro 1. Duración promedio del ciclo de desarrollo de la polilla del tomate *T. absoluta* a 14, 20 y 27 °C.

Estado de desarrollo	Duración/días		
	14°C	20°C	27°C
Huevo	14,1	7,8	5,13
Estados larvarios (1-2-3-4)	38,1	19,8	12,2
Pupa	24,2	12,1	6,5
Total de Huevo - Adulto	76,4	39,7	23,8

Fuente: Estay, 2000.

Respecto a la ovoposición, la hembra adulta pone sus huevos al atardecer, de preferencia en el envés de las hojas, aunque también sobre tallos y frutos. Generalmente la postura de huevos se realiza en forma individual y rara vez un grupo sobrepasa el máximo de cinco huevos. Este comportamiento de oviposición aumenta el potencial daño de la plaga, ya que los huevos son colocados en un gran número de plantas (Delbene, 2003). Este proceso demora en promedio 4 - 6 días, período durante el cual la hembra puede poner alrededor de 40 - 50 huevos (Cáceres, 2004). Los huevos son muy pequeños y no se distinguen a simple vista y tienen una forma ovalada (Figura 3). Inicialmente, el huevo es de color blanco crema, luego se torna de un color amarillo anaranjado y cuando se aproxima la eclosión toma un color oscuro (Ripa et al., 1991).



Figura 3. Huevos de *Tuta absoluta* en el envés de una hoja (Anónimo, 2014).

Las larvas recién nacidas se alimentan inmediatamente del mesófilo, horadando la superficie de las hojas para introducirse en ésta, donde continúan alimentándose. La larva mantiene durante sus cuatro estadios larvarios una forma cilíndrica levemente aplastada. Es de color blanco y a medida que se alimenta toma un color verde y al acercarse a cada muda vuelve a tonalidad blanca, debido a que deja de comer y vacía sus intestinos (Cáceres, 2004). Luego de la tercera muda adquieren un color verde más intenso y presentan una mancha rojiza en el dorso (Figura 4). Cabe señalar que cuando la larva cambia de estadio, la mayoría de las veces sale de la galería en que se encuentra para ingresar en otras hojas aumentando así el daño en la planta. Este periodo dura entre 10 – 15 días (Ripa et al., 1991).



Figura 4. Larva de *T. absoluta* (Estay, 2000).

Una vez completada la fase de larva, éstas caen al suelo para pupar, aunque algunas lo hacen en distintas partes de la planta, especialmente en el envés de la hoja y junto al cáliz del fruto. La pupa es de color marrón y de forma cilíndrica. En la mayoría de las ocasiones suele estar cubierta por un capullo blanco sedoso (Cáceres, 2004). El periodo de pupación dura entre 10 y 12 días (Santos y Perera, 2010). En la Figura 5 se muestra un esquema resumido del ciclo biológico de la polilla del tomate.

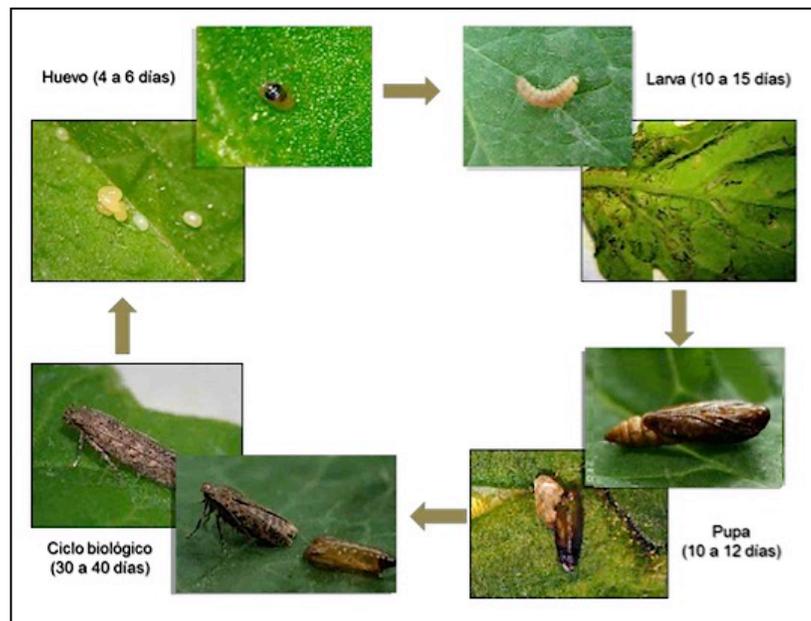


Figura 5. Ciclo biológico de *T. absoluta* (SENASICA, 2015)

Daños ocasionados

Los daños, estos son causados por las larvas, las cuales cambian generalmente de ubicación a medida que se desarrollan, de modo que son capaces de dañar a la planta en diversos puntos. El daño en las hojas se produce cuando la larva, recién eclosada, comienza a alimentarse del mesófilo, quedando protegida por la epidermis. A medida que se alimenta y desarrolla, va generando galerías transparentes de diferentes tamaños (Figura 6) (Cáceres, 2004). Al respecto, Larraín (1992) agrega que cuando se les termina el sustrato se dejan caer llegando a otra hoja o fruto que les servirá de hospedero. Este tipo de daño puede ocurrir desde el almácigo donde puede causar defoliación intensa, comprometiendo la síntesis de carbohidratos por parte de las plantas y además afecta la conducción de savia, con el consecuente envejecimiento prematuro e incluso la muerte de la planta (Urretabizkaya et al., 2010).

López (1991) señala que las larvas nacidas en brotes tiernos, atacan hojas en formación y racimos florales en inicios de desarrollo, pudiendo causar la pérdida de un racimo completo. Según Ripa et al. (1991) el ataque a brotes florales constituye uno de los daños más importantes provocados por la larva, ya que disminuye la floración y fructificación de la planta, perjudicando considerablemente el rendimiento.



Figura 6. Galerías transparentes en hoja de tomate (Santos y Perera, 2010)

El daño en tallos y brotes es menor que el daño causado en los folíolos y se origina en la inserción de las hojas o pedúnculos de los tomates donde las larvas producen galerías, las cuales se evidencian por la acumulación de excrementos de color negro en su exterior (figura 7 y 8) (Urretabizkaya et al., 2010).



Figura 7 y 8. Daño en tallos y brotes ocasionados por *T. absoluta* (Santos y Perera, 2010)

Las larvas de *T. absoluta* que provienen de huevos depositados sobre el cáliz del fruto, penetran directamente en los frutos y no salen al exterior durante sus primeros estadios larvales, lo que complica su control (Vercher et al., 2010). Éstas ocasionan un pequeño agujero al momento de entrar al fruto, luego se alimenta en el interior formando galerías dentro de ellos (Figura 9), las que son la fuente de entrada de otros patógenos que favorece su pudrición, haciendo que pierdan valor comercial (Rifo, 2013).



Figura 9. Frutos de tomates dañados por *Tuta absoluta* (Estay, 2000).

Métodos de control de *Tuta absoluta*

Control químico

Cabe mencionar que el uso de agroquímicos es considerado una herramienta muy práctica y ventajosa, debido a que sus efectos son más rápidos que cualquier otra forma de control, siendo además fáciles de emplear. De esta forma, han jugado un rol importante en el incremento de la productividad agrícola durante las últimas décadas (Glare et al., 2012). Sin embargo, su constante utilización a lo largo del tiempo, ha contaminado el agua, el aire y el ecosistema del suelo (Ahmed y Naqvi, 2011). Kaur-Grill y Garg (2014) estiman que sólo alrededor del 0,1% del volumen de plaguicidas aplicado llega a la plaga mientras que el resto del producto circula por el medio ambiente. Otro aspecto importante tiene relación con la salud humana. Al respecto, la Organización Mundial de la Salud estima que entre 500.000 y 1 millón de personas se intoxican con plaguicidas químicos anualmente y entre 5.000 y 20.000 mueren por esta razón (Hashmi y Khan, 2011).

Actualmente, el manejo de esta plaga se basa principalmente en aplicaciones semanales o quincenales de algún insecticida químico. Éstas son iniciadas en el momento en que aparecen los primeros adultos de la plaga o se detectan los primeros daños en las plantas (Paniagua, 2002). Los insecticidas que se utilizan para el control de esta plaga son de contacto, de acción translaminar y deben actuar por ingestión, como la abamectina, de modo que la larva se intoxique a medida que se alimenta del tejido vegetal asperjado (López 1991). El mismo autor indica que la elección del insecticida para el control de la polilla del tomate debe ser cuidadosa, debido a que en muchos casos el periodo de aplicaciones coincide con el de la cosecha, por lo que el producto debe poseer un periodo de carencia no mayor a tres días. Cabe señalar que el control químico de esta plaga se ve dificultado debido a la localización de las larvas, ya que éstas viven dentro de las hojas, frutos y tallos, quedando protegidas de las aplicaciones de plaguicidas, exigiendo un uso muy intensivo del mismo (Koud, 2014).

Además de los problemas ambientales y de salud, el uso permanente de agroquímicos ha provocado la eliminación de insectos benéficos y el desarrollo de insectos resistentes, situación que ha sido de gran relevancia en el control de la polilla del tomate, cuyo manejo se basa principalmente en el empleo de productos químicos, los que se han aplicado de forma indiscriminada e irracional debido al hábito minador de esta plaga, a sus altas densidades poblacionales y a su incidencia directa en los frutos (Riquelme et al., 2006). Al respecto, existen antecedentes de resistencia a insecticidas que tradicionalmente se utilizan para su control como los piretroides y organofosforados (Bielza, 2010).

Los primeros ensayos de resistencia a insecticidas en poblaciones de *T. absoluta* en Chile fueron realizados en los años setenta. Se trataba de insecticidas organoclorados, organofosforados y piretroides. Al respecto, Salazar y Araya (1997, 2001) indican que la utilización de diversas combinaciones de insecticidas, y en dosis cada vez más crecientes, estaría provocando un incremento de la tasa de aparición de insectos resistentes. Además señalan que existen antecedentes acerca del desarrollo de resistencia en algunas localidades

como Quillota, Ovalle y Azapa a estos insecticidas. Por esta razón, se han incorporado nuevos ingredientes activos, con modo de acción diferente, tales como abamectinas, nereistoxinas y espinosinas. Sin embargo, poblaciones resistentes a estos productos ya han sido reportadas en Brasil y Argentina (Rifo, 2013; Segovia, 2013).

De acuerdo con lo anterior, Segovia (2013) evaluó la efectividad de insecticidas de cinco grupos químicos sobre larvas de *T. absoluta*, provenientes de cultivos de tomates de distintas regiones de Chile. De la evaluación se observó que las menores mortalidades fueron obtenidas con productos que tradicionalmente se utilizan en el control de esta plaga, como los piretroides y organofosforados, para los cuales se registró un 90,9% y 87,5% de resistencia respectivamente de las poblaciones evaluadas. También se observó efectividad reducida con la utilización de espinosinas, registrándose un 62,5% de poblaciones resistentes.

En Argentina también se ha realizado estudios acerca de la toxicidad de los insecticidas sobre la polilla del tomate. Lietti et al. (2005) estudiaron la toxicidad de tres insecticidas frecuentemente utilizados en ese país para el control de esta plaga (abamectina, deltametrina y metamidofos) sobre tres poblaciones de larvas de tres localidades distintas (Castellar, Rosario y Bella Vista). De este estudio se registró un 68,4% de resistencia a la deltametrina por parte de las poblaciones provenientes de Rosario. Este valor, según los autores, podría deberse a la alta presión de selección ejercida por los piretroides en esa localidad. Respecto a la abamectina y metamidofos se observó una nula resistencia por parte de las tres poblaciones.

Segovia (2013) sostiene que actualmente, existe un significativo número de insecticidas que no son eficientes para el control de *T. absoluta* en Chile, a excepción de la abamectina por lo que es imprescindible utilizarlo de manera racional para no comprometer su durabilidad y así evitar el desarrollo de resistencia.

Lietti et al. (2005) señalan que para la reducción de estos productos es necesario encontrar alternativas de control más racionales desde el punto de vista de la sustentabilidad del ecosistema, resultando ser una alternativa a esta problemática el manejo integrado de plagas (MIP). El MIP se encuentra fundamentalmente encaminado en reducir el uso de insecticidas químicos, favorecer el uso de enemigos naturales, empleo de técnicas culturales, mecánicas y físicas. Riquelme et al. (2006) agrega que su manejo integrado debería incluir una selección de productos fitosanitarios que sean eficaces para su control y, al mismo tiempo, selectivos respecto de sus enemigos naturales. De igual manera, Arnó y Gabarra (2010) sostienen que para un eficaz control de la *T. absoluta* es primordial utilizar todos los métodos que estén al alcance, ya que ningún método de control por sí solo es suficiente.

Control biológico

Una alternativa al control químico es el control biológico, el cual se basa principalmente en la utilización de enemigos naturales para mantener la densidad de la población de un organismo plaga a un nivel más bajo del que ocurriría en su ausencia (Nicholls, 2008).

Los enemigos naturales de los insectos plaga se clasifican en tres grandes grupos: depredadores, parasitoides y patógenos. Los depredadores son individuos de vida libre a lo largo de todo su ciclo vital, suelen ser de mayor tamaño que su presa y requieren más de una presa para completar su desarrollo, por lo que son activos buscadores de alimento y poseen gran movilidad. Al alimentarse, los depredadores devoran a sus presas completamente o en forma parcial. Por otra parte, los parasitoides son insectos que se desarrollan dentro de un solo hospedero, al cual matan al término de su desarrollo larvario. El estado adulto es libre y muy móvil con el fin de localizar a sus hospederos y parasitarlos colocando huevos dentro o sobre ellos. En cuanto a los patógenos, se trata de microorganismos parasíticos que viven y se alimentan sobre o dentro de un organismo huésped al cual le origina la expresión de una enfermedad, siendo las bacterias, hongos, virus y nematodos los grupos de entomopatógenos más importantes utilizados en el control biológico de insectos plaga (Gerding, 2002; Ravensberg, 2011a).

Los principales enemigos naturales que se utilizan comercialmente para el control de *T. absoluta* corresponden a parasitoides de huevos. Estos están representados por especies de himenópteros o microavispa del género *Trichogramma*, las cuales oviponen en el interior de los huevos de los lepidópteros y al nacer la larva de la avispa, ésta se alimenta de la masa vitelina del huevo de la polilla causándole la muerte. Actualmente en Chile, INIA-Quilamapu produce varias especies de estos parasitoides, entre los cuales se han destacado *T. nerudai* y *T. petriusum* y *T. bactrae* (Estay, 2007a).

Además, en sectores donde no hay intervención con químicos, se ha observado la presencia del ectoparasitoide nativo *Dineulophus phthorimaeae* que tiene por hospedero el segundo y tercer estadio larvario de polilla del tomate. Evaluaciones de campo realizadas arrojaron un promedio de 39,5% de control efectivo de esta especie sobre larvas de *T. absoluta* (Estay, 2007a).

Por otro lado, en España se han encontrado diversos míridos depredadores de huevos de *T. absoluta* entre los cuales destacan *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus* (Hemíptera: Miridae). Ambas especies son capaces de depredar más de 30 huevos por día. Además, estudios demostraron que bajo condiciones de invernadero *N. tenuis* resultó ser altamente eficaz en el control de *T. absoluta*, con reducciones del 97% de infestación de foliolos. *M. pygmaeus* también redujo la infestación de *T. absoluta*, aunque en menos medida logrando un 76% de reducción de infestación en foliolos (Molla et al., 2010).

Santos y Perera (2010) afirman que a pesar de que esta plaga presente numerosos enemigos naturales en la naturaleza, éstos no son capaces de actuar eficazmente debido a que son perjudicados constantemente por el uso temprano y repetitivo de insecticidas.

En cuanto al uso de microorganismos patógenos para el control de esta plaga Usta (2013) indica que éstos se caracterizan por invadir y multiplicarse en el insecto, causando la muerte de éstos, para posteriormente dispersarse infectando a otros individuos de la población del insecto plaga.

A continuación se describen las principales características de esta área del control biológico basado en la utilización de patógenos de insectos como controladores biológicos.

Control microbiológico

Como la mayoría de los organismos, los insectos son susceptibles a una gran variedad de enfermedades causadas por entomopatógenos, los cuales pueden ser importantes en el corto plazo como reguladores de sus poblaciones (Nicholls, 2008). Los grupos de patógenos más importantes corresponden a las bacterias, hongos, virus y nematodos, los cuales ofrecen un método más sustentable y ecológicamente aceptable para la protección de cultivos en la agricultura moderna. Cabe señalar que hace más de un siglo existe interés de usar microorganismos patógenos como controladores biológicos debido a la posibilidad de desarrollar alternativas ecológicas a los insecticidas químicos, tales como bioplaguicidas (Ravensberg, 2011a).

Kaya y Lacey (2008) señalan que la principal característica de un bioplaguicida es que su ingrediente activo no es una molécula química como en los plaguicidas sintéticos, sino microorganismos vivos. Además, se diferencia en gran medida de los plaguicidas sintéticos por ser altamente específicos, es decir, sólo atacan a la plaga que se desea controlar y, esto los hace inocuos para los seres humanos, la fauna, medioambiente y organismos no-objetivo. Usta (2013) agrega que el riesgo de que los insectos generen resistencia es muy reducida en comparación a los insecticidas tradicionales. Cabe señalar también como otra característica positiva, que con su uso se evita el problema de residuos de plaguicidas en las cosechas.

A pesar de las ventajas antes mencionadas, los bioplaguicidas representan un pequeño, pero creciente, porcentaje del uso total de pesticidas agrícolas. Actualmente, el mercado global de bioplaguicidas se está expandiendo y se estima que este incremento exponencial continuaría durante los próximos años (Harper, 2013).

Además, Leppla et al. (2014) señalan que el control microbiológico posee ciertas desventajas en relación a los agroquímicos. Una de ellas es la alta sensibilidad a las condiciones ambientales, específicamente humedad, temperatura y radiación ultravioleta. Couch y Jurat (2014) agregan que parte de las investigaciones se han orientado hacia el desarrollo y evaluación de nuevas formulaciones, con el objetivo de proteger al bioplaguicida de la degradación ambiental a causa de la radiación ultravioleta. Al respecto, se ha utilizado la melanina como protector UV y formulaciones microencapsuladas.

También, puede ser percibido como inconveniente la elevada especificidad que poseen, ya que solamente son capaces de controlar una especie específica o grupos de insectos (Leppla et al. 2014). Los mismos autores agregan que su lenta velocidad de acción es considerada como desventaja si se compara con los insecticidas químicos y además, como son productos altamente específicos para ciertas especies de plagas, su mercado puede ser muy reducido, y además los costos de registros son elevados, lo que afecta fuertemente la probabilidad de desarrollar plaguicidas microbiales, especialmente para los mercados más pequeños

En el caso de Chile, a pesar de que actualmente no existe gran número de estos productos disponibles en el mercado, el país cuenta con un Banco de Recursos Genéticos Microbianos (BRGM), siendo el único país de la región de Latinoamérica y el Caribe que posee dicha colección. El BRGM se encuentra ubicado en las dependencias del Centro Regional de Investigación INIA Quilamapu, Chillán (CChRGM, 2015). Esta colección reúne más de dos mil microorganismos, entre los que se encuentran, principalmente, bacterias, hongos y nematodos. Dentro de éstos existen aproximadamente 200 especies que son entomopatógenos y que podrían eventualmente ser el ingrediente activo de un bioplaguicida para el control de plagas agrícolas (CChRGM, 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Principales microorganismos utilizados en el control de *T. absoluta*

Aunque exista un número importante de insecticidas químicos actualmente en uso para el control de la polilla del tomate, el aumento de resistencia en las poblaciones a estos productos es un problema significativo, además de la grave contaminación ambiental causada por los mismos. Al respecto, los investigadores han visto la necesidad de comenzar a buscar otras alternativas de control para resolver los problemas ambientales y de resistencia, como es el uso de insecticidas a base de microorganismos patógenos de insectos (Sowjanya y Varma, 2015).

A continuación se describen los principales microorganismos entomopatógenos utilizados para el control de *T. absoluta*, describiendo sus principales características, modo de acción y su efectividad sobre ésta:

Bacterias entomopatógenas

Corresponden a microorganismos unicelulares que carecen de organelos internos como núcleo y mitocondria. Su tamaño oscila entre 1 a 5 μm y se reproducen por fisión binaria

(Tanada y Kaya, 1993). Es posible encontrarlas prácticamente en todos los hábitats terrestres, debido a su diversidad metabólica (Coyne, 2000).

Dentro de la gran diversidad bacteriana, se conocen aproximadamente 90 especies de bacterias causantes de enfermedades infecciosas en los insectos, de las cuales sólo algunas tienen un alto potencial como biocontroladores (Ibarra, 2007).

Las bacterias entomopatógenas se clasifican en dos categorías (Carballo et al., 2004a):

- 1) **Bacterias esporulantes:** por su capacidad de formar esporas, poseen una alta persistencia en el ambiente, son altamente virulentas y tienen una gran capacidad invasiva y de producir toxinas que afectan a los insectos. Todas ellas pertenecen a la familia Bacillaceae. En este grupo se encuentran diversos géneros, destacando el género *Bacillus* que tienen forma de bastón e incluyen especies como *B. thuringiensis* (*Bt* subsp *kurstaki*, *Bt* subsp *israelensis*, *Bt* subsp *aizawi*); *B. popilliae* y *B. sphaericus*.
- 2) **Bacterias no esporulantes:** generalmente son comunes en el tracto digestivo de los insectos pero ocasionalmente tienen la capacidad invasiva de las anteriores. A este grupo, pertenecen las bacterias de la familia Pseudomonaceae, la familia Streptococcaceae y la Enterobacteriaceae.

Actualmente la mayoría de las bacterias que se utilizan y que están en desarrollo para su uso como biocontroladores son formadoras de esporas y pertenecen a la familia Bacillaceae y al género *Bacillus* (Nicholls, 2008).

Dentro del género *Bacillus* se encuentra la bacteria patógena de insectos más exitosa y extensamente utilizada a nivel mundial como agente biocontrolador, la especie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) (Bravo et al., 2011). Esta sección se centrará específicamente en esta especie, debido a que es la especie más estudiada y utilizada en el control de la polilla del tomate.

***Bacillus thuringiensis* (*Bt*)**

Corresponde a una bacteria ampliamente distribuida por todo el mundo, que ha sido aislada a partir de muestras de suelo, polvos de productos almacenados, ambientes acuáticos, insectos, hojas de plantas y otros hábitats (Ruíz de Escudero et al., 2004). Esta especie se ha utilizado para el control de lepidópteros, dípteros y coleópteros durante más de tres décadas (Kalha et al., 2014).

Esta bacteria es Gram positiva, esporulante y aeróbica que durante el proceso de esporulación produce un cuerpo parasporal formada por uno o más cuerpos cristalinos de naturaleza proteica que son tóxicos para distintos invertebrados, especialmente para las

larvas de insectos (Sauka y Benintende, 2008). El principal componente de dichos cuerpos son proteínas denominadas δ -endotoxinas también conocidas como proteínas Cry. La característica principal de estas proteínas es que son toxinas formadoras de poro, cuyo foco de acción es la membrana de las células epiteliales del intestino medio de los insectos (Díaz, 2006). Además, cabe señalar que éstas son las responsables de la patogenicidad del microorganismo y constituyen la base del insecticida biológico más difundido a nivel mundial. Las δ -endotoxinas suelen ser específicas para larvas de Lepidoptera, Coleoptera y Diptera (Aranson, 1993; Bravo y Soberón 2007).

Respecto a la clasificación de estas proteínas Cry, en una primera clasificación, Hofte y Whiteley (1989) se basaron en la similitud de su secuencia de aminoácidos y el rango de especificidad. Los genes conocidos hasta ese entonces se agruparon de la siguiente forma: CryI (toxinas para lepidópteros), CryII (toxinas para lepidópteros y dípteros), CryIII (toxinas para coleópteros) y Cry IV (toxinas para dípteros). Las clases V y VI, activas para nematodos, fueron consideradas posteriormente en la clasificación. Sin embargo, años más tarde se dieron cuenta que esta clasificación no era la adecuada, ya que se encontraron proteínas Cry que eran muy semejantes, pero con especificidad diferente o toxinas Cry con actividad dual hacia lepidópteros y coleópteros. En esta nueva nomenclatura los números romanos se reemplazaron por números arábigos (Bravo et al., 2013).

Mecanismo de acción de *B. thuringiensis*

El modo de acción de las toxinas Cry ha sido descrito principalmente en lepidópteros. Este proceso consta de varias etapas: solubilización de los cristales, procesamiento de las protoxinas, unión al receptor, formación de poros y lisis celular (Sauka y Benintende, 2008).

1) Solubilización de los cristales

El complejo espора-cristal de *Bt* requiere ser ingerido por el insecto para que lleve a cabo su efecto tóxico (Nicholls, 2008). Cabe destacar que la vida biológicamente activa de estos cristales es corta y si no son ingeridos por una larva, en pocos días se inactivan. Luego de que la larva susceptible ingiere de su alimento habitual las esporas y los cristales de *Bt*, éstos viajan a lo largo del aparato digestivo de la larva, hasta llegar al intestino medio. Allí, los cristales se solubilizan gracias a la participación de enzimas y a las condiciones de pH alcalino del intestino, característica que poseen la mayoría de los insectos (Carballo et al., 2004a).

2) Procesamiento de las protoxinas

Una vez disueltas las proteínas cristalinas, éstas son liberadas en forma de protoxinas. Éstas no producirán el daño, sino que deberán ser procesadas por proteasas intestinales del tipo tripsina y quimiotripsina para generar las toxinas activas: δ -endotoxinas también conocidas como proteínas Cry (De Maagd et al., 2001).

3) Unión al receptor

Una vez activadas las toxinas, éstas atraviesan la membrana peritrófica del intestino medio y se depositan sobre el epitelio intestinal del insecto. Además, adquieren una conformación tridimensional que le confiere gran especificidad para acoplarse a un componente glicoproteico (receptor) situado en las microvellosidades de las células epiteliales del intestino medio de las larvas de insectos susceptibles, generalmente lepidópteros, coleópteros y dípteros (Bravo et al., 2013; Portela et al., 2013).

4) Formación de poro y lisis celular

Esta unión es seguida de una oligomeración de la toxina, la cual desequilibra la estructura de la membrana, formándose un poro, el cual ayuda a que aumente la permeabilidad de la membrana de las células epiteliales, provocando una diferencia de potencial. A través del poro penetran iones, principalmente K, moléculas de mayor tamaño y agua (Bravo y Soberón, 2008). El exceso de agua en el citoplasma de las células epiteliales genera una distensión excesiva de los organelos membranosos, y de la propia célula en su totalidad, hasta que ésta estalla (lisis celular). Este estallamiento se manifiesta en huecos en el epitelio intestinal, por donde pasa el contenido altamente alcalino del intestino medio hacia la hemolinfa neutra del insecto y la hemolinfa hacia el lumen del intestino medio (Ibarra, 2007). Estos dos fenómenos traen consigo dos consecuencias dañinas para el insecto. Por un lado al aumentar el pH de la hemolinfa, la conducción nerviosa cesa y la larva se paraliza por completo. Esto implica que deja alimentarse y por lo tanto se detiene el daño a la planta atacada. Consecuentemente, la larva puede morir por inanición después de 3-5 días. Por otro lado, cuando las condiciones de alcalinidad del intestino medio tienden a la neutralidad con la entrada de la hemolinfa al lumen del intestino medio del insecto, se crea un ambiente favorable para la germinación de las esporas ingeridas junto con los cristales, iniciando la proliferación de las bacterias en el individuo paralizado, lo que puede provocar la muerte por septicemia, lo que incrementa el efecto de las toxinas insecticidas (Ibarra, 2007; Nicholls, 2008). El modo de acción de *Bt* se encuentra esquematizado en la Figura 10.

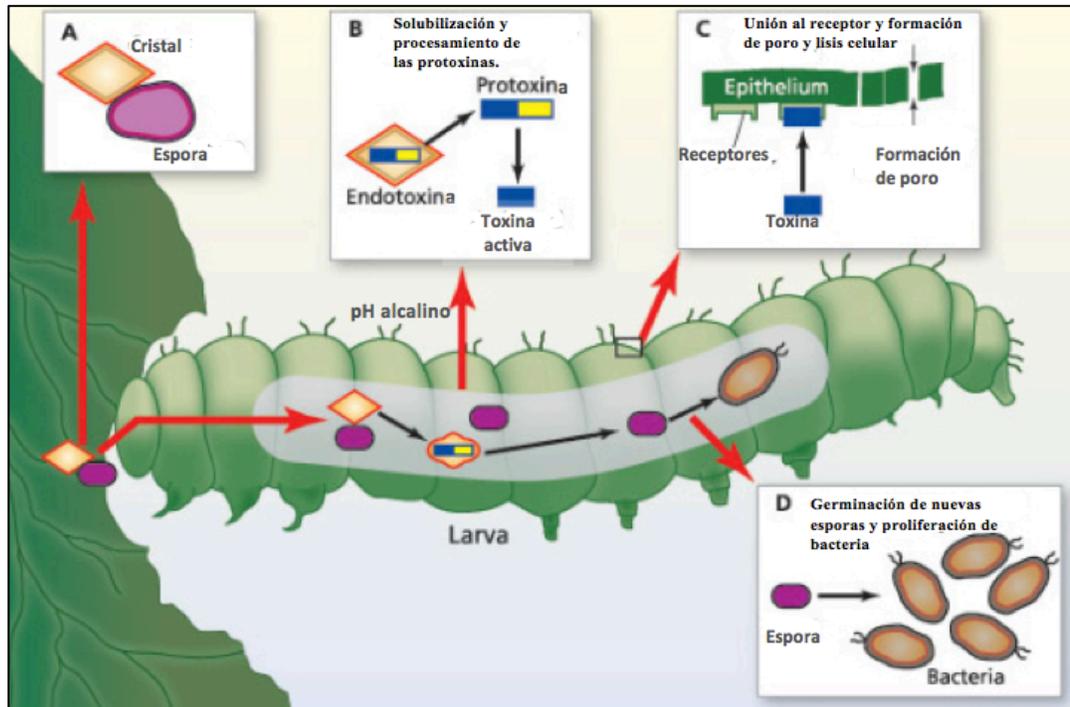


Figura 10. Mecanismo de acción de *Bacillus thuringiensis* (Anónimo, 2015). **A)** El proceso se inicia cuando una larva susceptible ingiere follaje contaminado con esporas y cristales de *Bt*. **B)** Luego, estos viajan por el sistema digestivo hasta llegar al intestino medio, donde se solubilizan gracias al pH alcalino y enzimas, liberándose las proteínas cristalinas en forma de protoxina, las cuales son procesadas para generar toxinas activas: δ -endotoxinas. **C)** Posteriormente, estas toxinas se unen a un receptor específico, produciéndose un desequilibrio de la estructura de la membrana, formándose un poro y la consecuente lisis celular. **D)** Se crea un ambiente favorable (neutro) para la germinación de esporas y posterior proliferación de bacterias.

Lamborot y Araya (1986) indican que las larvas afectadas por la toxina desarrollan diversos síntomas, como por ejemplo una disminución del apetito hasta dejar de alimentarse, permaneciendo inactivas e inmóviles. En este lapso de tiempo es cuando comienza un transcurso de vómitos y diarrea. Por su parte Bravo y Soberón (2008) señalan además que la larva se torna flácida, su tegumento pierde su brillo y se torna de color café oscuro como muestra la Figura 11.



Figura 11. Larvas afectadas por *Bacillus thuringiensis* (Bravo y Soberón, 2008)

Gracias a su capacidad de combatir plagas sin dañar el medio ambiente y no generar reacciones adversas en el ser humano u otros seres vivos, la utilización de productos a base de *Bt* ha aumentado, constituyendo el 2% del mercado global de insecticidas, dejando ganancias de 8 billones de dólares por año. Además, se considera que el 90% de los productos biológicos utilizados en la agricultura se basan en este microorganismo. Norte América es responsable de la producción del 50% de estos productos, principalmente Estados Unidos y Canadá, siendo el mayor volumen de aplicación en el área forestal y agrícola (Portela et al., 2013; Roh et al., 2007).

El éxito de las formulaciones basadas en esta bacteria se ha visto reflejada en diferentes productos comerciales existentes como: Dipel, Xentari y Turilav (Izquierdo, 2011). Por otro lado a nivel mundial, se han descrito cerca de 85 subespecies de *Bt*, las cuales se diferencian entre sí por su toxicidad y preferencia de los insectos huéspedes (Bravo y Soberón, 2008). Según Ravensberg (2011b) cuatro subespecies de *B. thuringiensis* han sido desarrolladas como insecticidas, pero sólo tres de éstas constituyen los patógenos más exitosos como agentes biocontroladores. Estas son: *Bt* var. *kurstaki*, capaz de controlar diferentes plagas de lepidópteros en la agricultura y silvicultura; *Bt* var. *israelensis*, se utiliza principalmente para el control de dípteros y *Bt* var. *tenebrionis* que tiene actividad tóxica contra coleópteros. Por su parte Sauka y Benintende (2008) agregan que *B. thuringiensis* subsp *kurstaki* HD-1 es por excelencia la cepa utilizada y estudiada para el control de lepidópteros considerados plagas, como el caso de *Tuta absoluta*.

Plantas transgénicas o plantas *Bt*

Bacillus thuringiensis, además de ser intensamente empleado en las formulaciones para la elaboración de bioplaguicidas, es empleado en el desarrollo de plantas transgénicas mediante metodologías de la ingeniería genética. Estas técnicas consisten en introducir uno o más genes de *Bt* a otra especie para que ésta exprese toxinas, con el objetivo de mejorar sus características nutricionales o productivas tales como resistencia a insectos o herbicidas

(Usta, 2013). Un claro ejemplo es el maíz *Bt*, el cual expresa la toxina Cry1Ab (procedente de la subespecie *kurstaki* de *B. thuringiensis*), proteína que posee efectividad insecticida principalmente contra larvas de lepidópteros (Bhalla *et al.*, 2005).

La transformación de las plantas, mediante la incorporación de genes codificadores de proteínas Cry, trae muchos beneficios: le provee una mayor protección hacia los insectos fitófagos a lo largo de la temporada del cultivo, reduce la necesidad de aplicar insecticidas químicos, y no genera un impacto ambiental perjudicial (Khetan, 2001; Portela *et al.*, 2013). No obstante, estas presentan una gran desventaja que consiste en la posible generación de resistencia en ciertas poblaciones naturales de insectos que se alimentan de ellas. Es importante mencionar que el mecanismo más común de resistencia a las toxinas Cry son mutaciones que afectan a los receptores proteínicos, lo que evita así la unión de la toxina a los receptores específicos del epitelio intestinal. Este fenómeno, determinaría la inutilización de determinadas proteínas Cry para su control, ya sea mediante su empleo en plantas transgénicas o bioinsecticidas que los contengan (Sauka y Benintende, 2008). Sin embargo, ya existen alternativas para contrarrestar este problema. Como por ejemplo la introducción de nuevas proteínas Cry que reconozcan diferentes receptores en los insectos objetivos, de manera que la resistencia a una toxina Cry, se puede evitar con la aplicación de otra toxina Cry que reconozca otros receptores en ese insecto (Bravo *et al.*, 2011; Usta, 2013). Cabe señalar también que las proteínas Cry no son capaces de proveer una protección total contra todos los grupos de insectos plaga perjudiciales en la agricultura. En vista de esta situación, recientemente se ha reportado otro factor de virulencia que tiene especificidad contra otros grupos de insectos que no se veían afectados por los cristales de *Bt*, estas nuevas proteínas son las proteínas VIP (Proteína insecticida vegetativa), las cuales se producen durante la fase de crecimiento vegetativo de la bacteria (Osman *et al.*, 2015).

Respecto a los cultivos transgénicos en nuestro país, de acuerdo a las normativas del Servicio Agrícola y Ganadero, no se permite el cultivo de Organismos Genéticamente Modificados (OGM) para su consumo en Chile. Sólo se permite el cultivo de éstos con fines experimentales y para la producción de semillas que han sido importadas expresamente para su multiplicación y posterior exportación al extranjero (Pertuzé, 2011). En relación a la superficie sembrada con semillas transgénicas, ésta ha crecido considerablemente desde el año 1992. En la temporada 2012/2013 de la superficie total de semilleros transgénicos en Chile (35.507 ha) (Figura 12), el 82% correspondió a semilleros de maíz (29.244 ha), el 12% a semilleros de canola (4.351 ha) y el 6% a semilleros de soja (1.907 ha). Otras semillas transgénicas que se sembraron en el país correspondieron a semillas de remolacha, tomate y mostaza parda, las cuales en total representaron menos del 0,0015% de la superficie total de semilleros transgénicos (ChileBio, 2013).

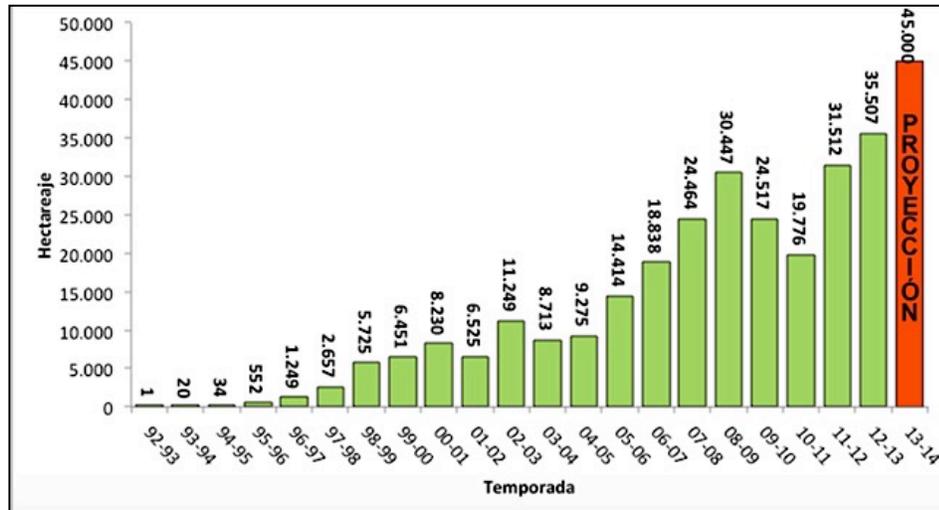


Figura 12. Evolución del hectareaje de semilleros transgénicos en Chile (Chilebio, 2013).

Efectividad de las bacterias entomopatógenas sobre *T. absoluta*

Como se mencionó anteriormente, los insecticidas basados en las toxinas *Bt* son utilizados mundialmente como bioplaguicidas y se producen comercialmente para el control de diversas plagas incluyendo lepidópteros, coleópteros y dípteros (Arthurs et al., 2008).

En relación a su efectividad, hay estudios que evidencian que pueden llegar a ser altamente efectivos contra *T. absoluta*. Por ejemplo Ramírez et al. (2010) realizaron un bioensayo bajo condiciones controladas de laboratorio, donde evaluaron cinco métodos para medir la toxicidad sobre larvas de *T. absoluta* de tres productos comerciales: Dipel, Xentary y Turilav, todas formulaciones en base a *Bt*. Del estudio se concluyó que los tres productos en concentración de 1,25 g/L causaron 80-100% de mortalidad entre los 2-8 días después de la aplicación, corroborando la actividad biológica de *B. thuringiensis* sobre este insecto plaga.

Así mismo, Niedmann y Meza (2006) evaluaron el potencial de 4 aislados nativos (LM-011, LM-012, LM-14 y LM-033) de *B. thuringiensis* colectados de muestras de suelo provenientes de la VII Región de Chile y de *B. thuringiensis* var. *Kurstaki* (Dipel), esta última utilizada como control, sobre larvas neonatas de *T. absoluta*. Del estudio se observó que todas las cepas nativas presentaron una mejor actividad biológica que el control *Bt* var. *Kurstaki* (Dipel), ya que los porcentajes de mortalidad obtenidos fueron superiores en todos los casos. En el caso de la cepa LM-011, la máxima mortalidad obtenida fue de un 90%, en contraste a la obtenida por el control que sólo alcanza un 40% de mortalidad. Los mismos autores sostienen que debido a la anatomía de las hojas es probable que no se haya logrado una distribución homogénea de la protoxina sobre la superficie de la hoja, por lo tanto si la larva ingresa a la hoja por un sector en donde no haya quedado protoxina, esta no será

ingerida, lo que traerá como consecuencia la sobrevivencia de la larva. Debido a esta situación los autores plantean recurrir al empleo de plantas transgénicas resistentes al empleo de plantas transgénicas que expresen el gen de la toxina en aquel tejido donde se alimenta esta plaga para así lograr un mejor control. Cabe indicar que las cepas mencionadas de *B. thuringiensis* fueron aisladas en una región donde frecuentemente se encuentra la plaga. Por lo que trabajar con entomopatógenos nativos, cuyo material genético está adaptado a las condiciones edafoclimáticas de la zona, puede resultar ser muy ventajoso (Delbene, 2003).

Es importante destacar el estudio realizado por Giustolin et al. (2001) en donde se evaluó la susceptibilidad de larvas de *T. absoluta* al ser tratadas con *Bt* var. *kurstaki* en dos variedades de tonate, una con genotipo resistente y otro susceptible a la plaga. Del estudio se observó que *Btk* ocasiona mortalidad en todos los estados de la plaga, y también se concluyó que el uso de *Btk* tiene un efecto sinérgico cuando éste es aplicado a plantas con genotipos resistentes, ya que aumenta la eficacia del entomopatógeno, por lo que el uso asociado de patógenos y de cultivares resistentes a los insectos puede ser utilizado como una técnica complementaria en programas de manejo integrado.

Igualmente con el fin de complementar el control biológico con el químico, se han realizado estudios para evaluar el efecto residual de insecticidas y de un bioplaguicida a base de *Bt* sobre un parasitoide de huevos de *T. absoluta*. En efecto, Riquelme et al. (2006) evaluaron la efectividad de 3 insecticidas (triflumurón, clorfenapir, abamectina) y una cepa experimental de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) sobre *T. absoluta*, y el poder residual de los mismos sobre el parasitoide *Trichogrammatoidea bactrae*. Del estudio se registró que todos los productos ocasionaron una mortalidad de *T. absoluta* mayor al 65% después de 12 días de aplicados. Además, el bioplaguicida (*Bt*) que fue el único insecticida que no afectó la supervivencia y el parasitismo de *T. bactrae* en comparación a los químicos utilizados en el estudio. Al respecto, González-Cabrera et al. (2010) agregan que la integración tanto de depredadores y parasitoides de huevos podría resultar una estrategia muy efectiva, ya que *Bt* actuaría sobre las larvas y los enemigos naturales atacarían a los huevos de *Tuta absoluta*.

Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos (HEP) corresponden a un diverso grupo de organismos eucariontes, heterotróficos, que presentan reproducción por esporas sexuales, asexuales o ambas y que se distinguen de otros organismos eucariontes por la presencia de una pared celular (Nicholls, 2008).

De los diferentes microorganismos empleados para el control de insectos, los HEP destacan por ser capaces de infectar y provocar enfermedades en éstos causándoles finalmente la muerte. Además, poseen mecanismos de invasión únicos que les permiten atravesar de

forma directa la cutícula de los insectos, siendo una herramienta con un gran potencial como agentes de control (Devotto et al., 2008; Téllez et al., 2009).

Alean (2003) indica que estos microorganismos poseen cualidades muy especiales de sobrevivencia, que van desde el parasitismo obligado hasta el parasitismo facultativos que pueden sobrevivir saprofiticamente sobre material vegetal en descomposición, es decir, en ausencia de un hospedante vivo. Este último puede dar como resultado la producción de conidióforos, conidias, y desarrollo micelial, lo cual permite que el hongo pueda ser cultivado en el laboratorio utilizando técnicas de producción en masa de bajo costo.

A nivel mundial se han aislado más de 750 especies de hongos entomopatógenos (HEP), pero poco más de 10 han sido empleadas para el control de insectos (Lacey et al., 2001; Szewczyk et al., 2006) y las especies de HEP más utilizados y estudiadas en el control de plagas están clasificadas en el filo Ascomycota, específicamente en la clase *Sordariomycetes*, orden Hypocreales (Cappello et al., 2010). Dentro de este grupo, existen 2 especies consideradas entre las más frecuentes y utilizadas en el control de *T. absoluta* debido a su eficiencia y facilidad de multiplicación, estas especies corresponden a *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Jaronski, 2014).

Por otro lado, cabe destacar que investigaciones realizadas por INIA- Quilamapu, en suelos del norte, centro y sur de Chile, han permitido establecer una colección de más de 600 aislaciones nativas de HEPs, entre los cuales destacan los géneros *Metarhizium* y *Beauveria* (Rodríguez et al., 2007).

Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana

Ambas especies se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y en las más diversas zonas climáticas (Alatorre-Rosas, 2007). Varias características hacen de estos hongos los más frecuentemente utilizados como biocontroladores. Entre ellas, destacan su especificidad, ya que afectan sólo una plaga o especie muy relacionada, ser relativamente fáciles de producir en forma masiva y por presentar una abundante producción de conidias desde los cadáveres de insectos parasitados, las que posteriormente son diseminadas quedando disponibles para iniciar un nuevo ciclo infectivo en nuevos individuos (Urtubia y France, 2007). Cabe señalar que los bioplaguicidas a base de estos HEP ya se han evaluado en diversos órdenes de insectos, incluyendo plagas de lepidópteros de importancia económica presentes en Chile (Sepúlveda et al., 2010).

Metarhizium anisopliae posee un amplio rango de hospederos, atacando alrededor de 300 especies de insectos de distintos órdenes, pero primariamente larvas de coleópteros y lepidópteros (Carballo et al., 2004b). Por otra parte, *B. bassiana* infecta a más de 700 especies de insectos de diferentes órdenes, destacando los mismos ordenes señalados para *M. anisopliae* (González-Castillo et al., 2012).

Ambas especies se caracterizan por ser específicas para cada plaga, no presentando efectos tóxicos sobre otros organismos. Además pueden establecerse en forma permanente en el

suelo, debido a su capacidad de renovar el inóculo sobre los insectos muertos (Federici, 2009).

Pueden infectar estadios como huevos, ninfas, pupas y adultos. Sin embargo el estado de larva es el más susceptible al ataque de la mayoría de los HEP. Las condiciones que favorecen la penetración e infección son temperaturas entre 22 a 30 °C y humedad relativa de 75% (Sepúlveda et al., 2010).

Respecto a los síntomas, los cadáveres de larvas infectadas por *M. anisopliae*, presentan en una primera etapa una coloración blanca debido al crecimiento micelial del hongo y, luego, producto de la esporulación del mismo, la larva adquiere una coloración verdosa. Estos signos son característicos de la enfermedad denominada muscardina verde, causada por este hongo. Esto puede transcurrir en un tiempo aproximado de 6 días después de la muerte del insecto (Figura 13) (Valencia et al., 2011).



Figura 13. Estados de esporulación de *Metarhizium* sobre larva de coleóptero. (a) Coloración blanquecina por crecimiento micelial. (b) Coloración verdosa debido a la esporulación del hongo (Valencia et al., 2011).

En cambio las larvas infectadas por *Beauveria bassiana*, presentan signos de la enfermedad conocida como muscardina blanca. Los cadáveres, muestran en su superficie una cubierta blanca muy densa formada por el micelio y esporulación del hongo (Figura 14), quedando generalmente, momificados y adheridos en la planta (Acosta, 2006; Carballo et al., 2004b).



Figura 14. Esporulacion de *B. bassiana* sobre larva de coleóptero (Acosta, 2006).

Es importante destacar que la capacidad de esporulación de un hongo entomopatógeno sobre su hospedero es fundamental para la diseminación de la enfermedad en condiciones de campo, ya que permite dar origen a un nuevo ciclo de infestación a partir de insectos parasitados (Rodríguez et al., 2005a).

Mecanismo de acción de los HEP

A pesar de la diversidad taxonómica de los hongos entomopatógenos, hay muchas similitudes en su modo básico de vida y ecología (De Albuquerque, 2009). Monzón (2001) señala que generalmente las fases que desarrollan los HEP sobre sus hospedantes son la adhesión y germinación de los conidios, formación de apresorios y estructuras de penetración, multiplicación y reproducción del hongo.

El proceso infectivo se inicia cuando los conidios se adhieren a la cutícula del insecto, gracias a las características físicas y químicas de las superficies de ambas. Posteriormente, la conidia germina y se produce un tubo germinativo y un apresorio, con el cual el hongo se fija a la cutícula y con el tubo germinativo (hifa de penetración) se da el ingreso al interior del cuerpo del insecto (Pucheta et al., 2006).

Las áreas más comunes de penetración son la abertura bucal, ano, regiones intersegmentales y tarsos (De Albuquerque, 2009). En el proceso de penetración participan 2 mecanismos: uno físico que consiste en la presión ejercida por la hifa, la cual rompe las áreas membranosas y poco esclerosadas de la cutícula; y otro químico que consiste en la acción enzimática, especialmente proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales facilitan la descomposición del tegumento (González-Castillo et al., 2012). Una vez dentro del insecto, comienza el proceso de multiplicación del hongo en el hemocele del insecto por medio de cuerpos hifales (blastosporas), los cuales se van diseminando y ramificando a través de éste, e invaden diversos tejidos musculares, cuerpos grasos, mitocondrias y hemocitos, ocasionando la muerte del insecto después de 3 a 14 días de iniciada la infección y la colonización completa del cuerpo del insecto requiere entre 7 a 10 días (Pucheta et al., 2006; Federici, 2009).

La muerte de los insectos se produce por agotamiento de los nutrientes de la hemolinfa, bloqueo o inmovilización de elementos del sistema inmune y/o por toxemia, causada por metabolitos tóxicos del hongo (St. Leger, 2007). Una vez muerto el insecto, el hongo inicia un crecimiento miceliar e invade todos los órganos del hospedero (Figura 15).

Finalmente, las hifas emergen del cadáver hacia la superficie iniciando la formación de conidias dependiendo este proceso de la humedad relativa (De Albuquerque, 2009). Una vez que las hifas atraviesan el tegumento, inician una fase de esporulación (fase reproductiva) dentro de 24 a 48 horas. Luego las hifas forman conidióforos que dan origen a nuevas conidias que se dispersan en el ambiente y dan origen a un nuevo ciclo si las condiciones ambientales son las adecuadas (Carruthers y Soper, 1987).

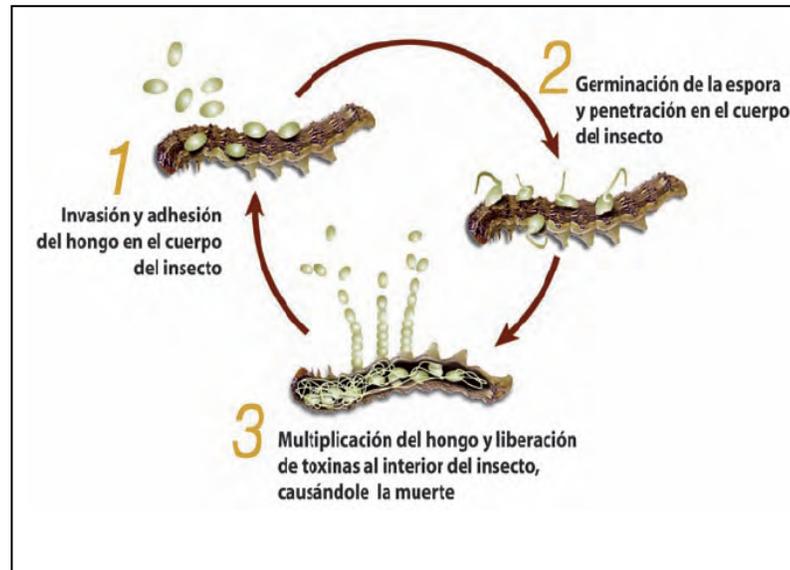


Figura 15. Fases que desarrollan los HEP sobre sus hospedantes (Sepúlveda et al., 2010)

Cabe destacar que durante la penetración del hongo desde la cutícula del insecto hasta el hemocele, la hifa queda inmersa en proteínas, quitina, lípidos, melanina, difenoles y carbohidratos, siendo algunos de ellos nutrientes para el patógeno. Sin embargo, otros compuestos pueden inhibir su crecimiento, ya que el insecto activa su sistema inmune a través de procesos como la melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento (Pucheta et al., 2006).

En este contexto, la habilidad de un HEP para superar los mecanismos de defensa de sus huéspedes se debe especialmente a la producción de toxinas, lo cual constituye uno de los componentes principales de patogenicidad. Dentro de estos metabolitos se destacan toxinas como destruxinas, citocalasina, beauvericina y metaricina, algunas de las cuales son específicas para algunos géneros de HEP (St Leger, 2007). Entre estas toxinas destacan las destruxinas producidas por *M. anisopliae*, las cuales han sido ampliamente estudiadas durante el último tiempo (De Albuquerque, 2009).

Efectividad de los HEPs sobre *T. absoluta*

En un estudio de laboratorio realizado por Rodríguez et al. (2005b) se evaluó la efectividad de dos especies de hongos entomopatógenos comúnmente utilizados para el control de esta plaga: *Metarhizium anisopliae* (Qu-M558) y *Beauveria bassiana* (Qu-B912). La primera evaluación fue mediante aplicación directa sobre las larvas observándose que ambas especies fueron patógenas, alcanzando mortalidades superiores al 90%. Si bien no se observaron diferencias en cuanto a la patogenicidad entre los aislamientos, el cálculo de las concentraciones letales indicó que se necesita una menor cantidad de inóculo de *B. bassiana* ($10^{4.4}$ y $10^{7.6}$ conidias mL^{-1}) que de *M. anisopliae* ($10^{5.4}$ y $10^{9.1}$ conidias mL^{-1}) para matar el 50 y 90% de la población de larvas. Dado que *B. bassiana* (Qu-B912) fue efectivo a menores concentraciones de inóculo, este HEP se seleccionó para un segundo

estudio donde la aplicación fue realizada directamente en la zona foliar, registrándose una disminución de los porcentajes de mortalidad, alcanzando un 68% a la máxima concentración de inóculo. Cabe señalar que la disminución del grado de patogenicidad de *B. bassiana* al ser aplicado directamente sobre la zona foliar, podría ser explicado por lo planteado por Tanada y Kaya (1993), los cuales señalan que las hojas de tomate presentan un alcaloide denominado tomatina que es conocido por sus propiedades antifúngicas, por lo que puede retardar la infección de *Beauveria*. Además estos autores agregan que la acción de la tomatina sobre *Beauveria* inhibe la formación y desarrollo *in vitro* de las colonias.

Shalaby et al. (2013) evaluaron bajo condiciones de laboratorio la eficacia tres agentes entomopatógenos (*Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* (Btk); *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*) utilizados en cuatro concentraciones (10^7 ; 10^8 ; 10^9 ; 10^{10} conidias mL^{-1}) sobre la polilla del tomate, en tres estados larvales (larva recién eclosionada, 2do y 3er instar). De los resultados del estudio se concluyó que el efecto de los patógenos depende del estadio de la larva, resultando el mayor porcentaje de mortalidad sobre la larva recién eclosionada para los tres agentes evaluados. Además, se registró que *B. bassiana* y *M. anisopliae* presentan mayor efectividad sobre larvas recién eclosionadas y *Btk* es efectivo, pero en menor grado, sobre larvas recién eclosionadas y el 3er instar. Con respecto a la concentración más efectiva de cada agente, se observó que la mayor concentración (10^{10} conidias mL^{-1}) es la que registró mayor mortalidad.

Por otra parte, Vega et al. (2012) indican que las principales líneas de investigación se centran en conocer con mayor profundidad las propiedades de las superficies de las esporas de estos microorganismos. Lo anterior, con el objetivo de lograr almacenar, formular y aplicar de manera más eficiente HEPs en terreno. Este esfuerzo, revelaría además información importante sobre los genes, proteínas involucradas en la virulencia y la biosíntesis de metabolitos. Finalmente otra área de suma importancia y de la cual no se conoce todavía, es la ecología de este tipo de organismo benéfico.

Virus entomopatógenos

Corresponden a microorganismos que causan enfermedades infecciosas que se multiplican en los tejidos de los insectos hasta causarles la muerte. Son patógenos obligados, ya que necesitan de un organismo vivo, el hospedante o insecto, para poder multiplicarse y diseminarse en el agroecosistema. En el ambiente pueden estar presentes naturalmente, enfermando a pocos insectos. Sin embargo, al utilizarlos como bioplaguicidas pueden ocasionar la muerte de grandes poblaciones de plagas de importancia económica (Rizo y Narváez, 2001).

Las familias de virus más utilizadas en el control de plagas son: Baculoviridae, que incluye virus de la poliedrosis nuclear que ataca lepidópteros e himenópteros; Poxviridae, que ataca lepidópteros y coleópteros; y Reoviridae, virus de la poliedrosis citoplasmática que ataca lepidópteros y dípteros (Badii y Abreu, 2006). La presencia de cuerpos de inclusión,

característica común de estas 3 familias, facilita su reconocimiento bajo el microscopio óptico y además lo protege de la degradación ambiental. Esta característica provee a estos virus la posibilidad de ser utilizados como bioplaguicidas (Ravensberg, 2011b). Sin embargo, en los baculovirus (Baculoviridae) existen otras dos características adicionales que permiten su desarrollo como insecticida más que cualquier otro grupo de virus entomopatógenos: 1) sólo se han aislado de especies del filo Arthropoda, mayoritariamente de la clase Insecta, lo cual representa un alto grado de bioseguridad, tanto para los seres humanos y otros vertebrados, como para la vida silvestre en general; y 2) tienen una elevada patogenicidad y virulencia para numerosas especies de insectos plaga (Caballero y Williams, 2008). Esta cualidad ha llevado a que la Organización Mundial de la Salud recomiende los baculovirus como el grupo de virus más seguro para el control de plagas (Nicholls, 2008).

Esta sección se centrará específicamente en los Baculovirus, ya que son los más utilizados e investigados en la actualidad en el control de *Tuta absoluta* y además porque presentan una elevada especificidad hacia sus huéspedes, resultando completamente seguro para los seres humanos, medio ambiente y organismos benéficos.

Los Baculovirus

Estos microorganismos han sido utilizados como controladores biológicos en la agricultura y silvicultura desde los inicios del siglo pasado (Ravensberg, 2011a). La mayoría ha sido aislado únicamente de invertebrados, especialmente de insectos (Kalha et al., 2014). Se han descrito infecciones de baculovirus en más de 600 especies, principalmente del orden Lepidoptera seguido de Hymenoptera, Diptera y Coleoptera, sin mostrar evidencias de resistencia (Martínez et al., 2012). Al igual que los demás virus, estos necesitan obligatoriamente de un huésped para multiplicarse, no pueden replicarse en medios sintéticos y requieren células vivas como hospederos (Ojeda et al., 2002). Actualmente, el baculovirus más estudiado es el virus de la poliedrosis nuclear de *Autographa californica* (Speyer) (Lepidoptera: Noctuidae) (AcVPN). Este fue uno de los primeros virus descritos y el interés en su estudio empezó cuando se observó que controlaba poblaciones de *A. californica*, las cuales destruían masivamente cultivos de alfalfa (Szewczyk et al., 2011)

La estructura de estos virus consiste de una capa interna de proteína llamada cápside que protege al ácido nucleico, en este caso, es el ADN. A todo este conjunto se le conoce como nucleocápside, la cual puede o no estar envuelta por una capa lipoprotéica, conformando la unidad infectiva del virus denominado virión. (López et al., 2004). Estos además pueden estar embebidos en una matriz proteica que se denomina cuerpo de oclusión (OBs), que los protege de las condiciones ambientales (Rizo y Narváez, 2001). Los viriones se presentan en dos formas importantes: viriones derivados de cuerpos de oclusión (ODV) y viriones brotados (BV), ambos son similares en la estructura de su nucleocápside pero difieren en su origen, composición de las envolturas y rol en el ciclo infectivo del virus (Miller, 1997). En la Figura 16 se observa las estructuras de un baculovirus.

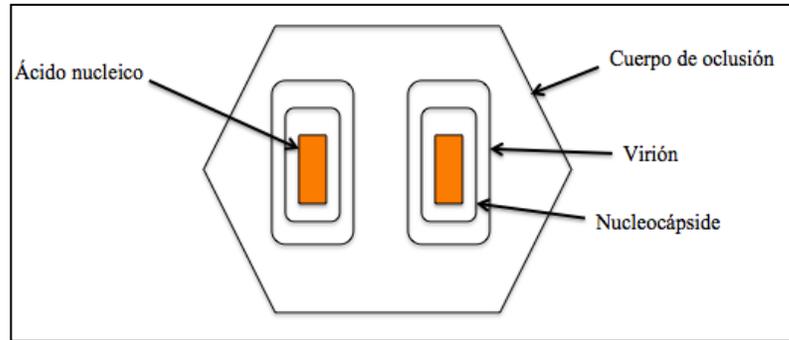


Figura 16. Detalle de la estructura de un Baculovirus (López et al., 2004)

Cabe señalar que años atrás, la familia Baculoviridae estaba compuesta por dos géneros. Sin embargo, recientemente sobre la base del conocimiento de secuencias genómicas baculovirales y sus relaciones filogenéticas, se ha sugerido la división de esta familia en cuatro géneros, dentro de los cuales se destacan dos grupos: los nucleopoliedrovirus (NPV) y los granulovirus (GV) (Cuadro 2) (Martínez et al., 2012). Los GV son patógenos específicamente de insectos del orden Lepidoptera y generalmente atacan solo a una o dos especies; mientras que los NPV han sido aislados de otros órdenes como dípteros, e himenópteros, presentando de esta manera un mayor rango de hospederos (Valderrama y Villamizar, 2013).

Cuadro 2. Géneros actuales de la familia Baculoviridae con sus respectivas características (Martínez et al., 2012).

GÉNEROS	CARACTERÍSTICAS
<i>Alphabaculovirus</i>	Incluye a los nucleopoliedrovirus (NPV) específicos para lepidópteros
<i>Betabaculovirus</i>	Incluye a los granulovirus (GV) específicos para lepidópteros
<i>Gammabaculovirus</i>	Incluye a los NPVs específicos para himenópteros fitófagos
<i>Deltabaculovirus</i>	Incluye a los NPVs específicos para dípteros

Mecanismo de acción de los baculovirus

El ciclo de los baculovirus se divide en dos etapas: la infección primaria y la infección secundaria. De acuerdo con la figura 17 el proceso se inicia cuando la larva ingiere follaje

contaminado con cuerpos de oclusión (OBs) (Martínez et al., 2012). Una vez que los OBs entran al insecto, éstos llegan al intestino medio de su hospedero, donde debido a las condiciones alcalinas del medio (pH 9,5-11,5) se degradan liberando viriones derivados de la oclusión (ODV), los cuales atraviesan la membrana peritrófica a través de sus poros naturales (1) y se unen a las microvellosidades del epitelio intestinal mediante la fusión de sus membranas (2), permitiendo que las nucleocápsides contenidas en su interior sean liberadas en el citoplasma (3) y se dirigen al núcleo donde se inicia el primer ciclo de replicación o infección primaria (4) (Ojeda et al., 2002). Una vez replicado el material genético (ADN) y formadas las nuevas nucleocápsides éstas salen del núcleo (5) y son transportadas a la membrana celular, donde la atraviesan formando los viriones brotados (BVs) (6) (López et al., 2004).

En el hemocele, los BV llevan a cabo la segunda fase del proceso infeccioso infectando las células de los órganos y tejidos por endocitosis (7). Las nucleocápsides forman nuevamente BVs y OBs, favoreciendo la dispersión de la infección (8). Los millones de OBs producidos se liberan luego de la muerte y ruptura del tegumento del hospedante (9) contaminando así el follaje de las plantas permitiendo de esta manera la transmisión horizontal de la infección cuando las larvas de insectos susceptibles ingieren alimento contaminado (Rohrmann, 2013).

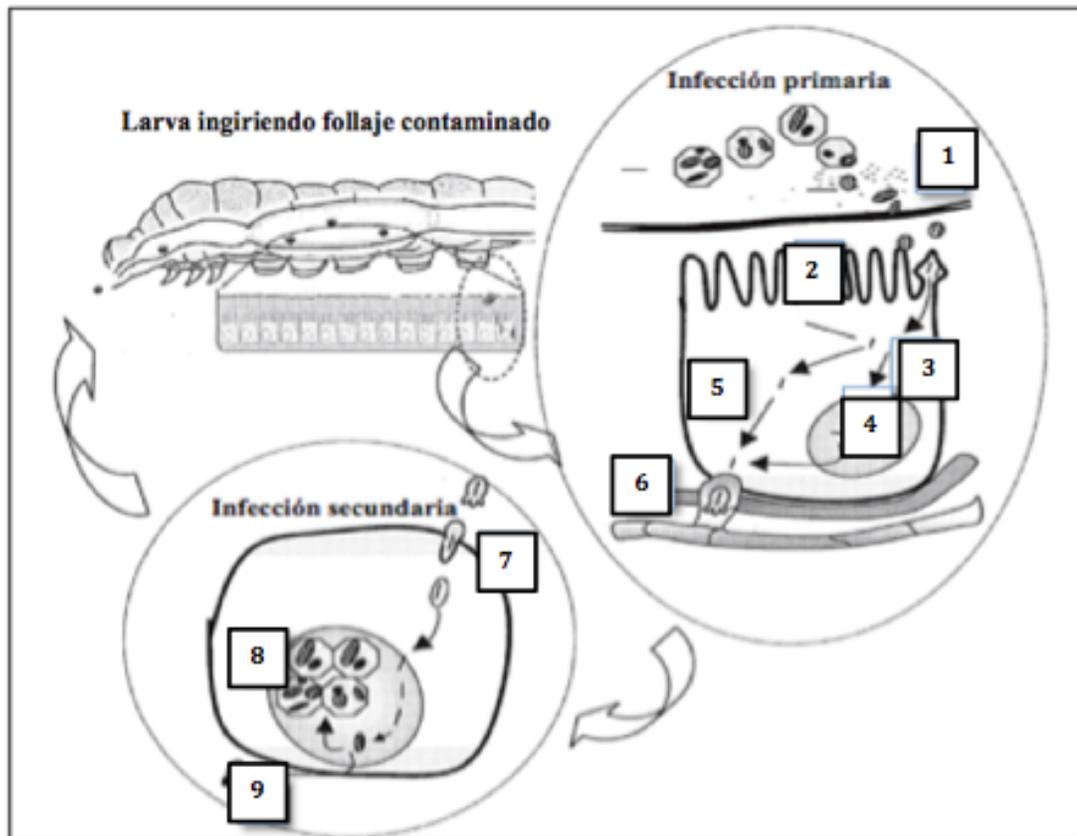


Figura 17. Mecanismo de acción de los Baculovirus (Caballero et al., 2009)

Vale mencionar que el principal reservorio de los cuerpos de oclusión (OBs) es el suelo, ya que pueden persistir por periodos más o menos largos aunque se pueden ver afectados por factores como valores extremos de pH, altas temperaturas y elevada humedad (Rizo y Narváez, 2001). Dentro de este contexto, para que tenga lugar la transmisión del virus es necesario que haya un transporte de los OBs desde el suelo hasta la superficie foliar, donde son ingeridos por insectos susceptibles, lo cual puede ocurrir gracias a la acción del viento o la lluvia (Beas et al., 2014).

En las larvas infectadas con baculovirus normalmente los síntomas aparecen después del tercer o cuarto día de la ingestión del virus (López et al. (2004) Estos signos incluyen un cambio gradual de color del integumento y el reblandecimiento del mismo, el cual se torna blanquecino, se rompe, y se libera un fluido blanco-grisáceo, que contiene millones de OBs dando origen a un nuevo ciclo de infección. También se observa un cambio del comportamiento de las larvas, ya que reducen su movilidad, dejan de alimentarse y su crecimiento se detiene (Del Rincón–Castro, 2007). Previo a la muerte, la larva se desplaza a la parte aérea de la planta donde muere colgada generalmente de las propatas en una posición de V invertida, lo cual favorece la posterior dispersión del virus en el medio ambiente cuando una larva sana se alimenta de ella (Figura 18) (Martínez et al., 2012). Finalmente, el integumento se degrada y se liberan millones de nuevos OBs dando origen a un nuevo ciclo de infección.

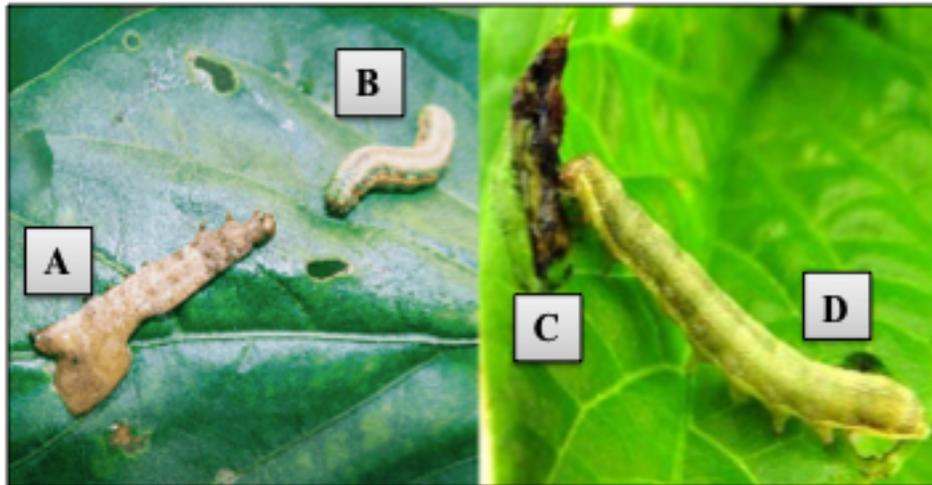


Figura 18. A) Larva de lepidóptero muerta, liberando OBs. B) Larva sana de lepidóptero en dirección hacia la larva infectada. C) Larva muerta. D) Larva sana se alimenta de los restos de un cadáver infectado con nucleopoliedrovirus (transmisión horizontal) (Williams, 2008).

Efectividad de los virus entomopatógenos sobre *T. absoluta*

Es importante señalar que la selección de un baculovirus como insecticida se hace en función de la especie o especies de insectos que se quieren controlar. Cada especie fitófaga suele ser más susceptible a baculovirus específicos, pero también puede serlo, en mayor o menor grado, a los baculovirus de otras especies de insectos (Caballero y Williams 2008).

En este contexto, actualmente, existe escasa documentación acerca de la efectividad de los baculovirus sobre la polilla del tomate, dado que aún no se ha aislado una cepa específica para esta plaga. Sin embargo, Moura et al. (2010) evaluaron la virulencia de una cepa de granulovirus, PhopGV aislada de la polilla de la papa (*Phthorimaea operculella*) (Gelechiidae) sobre larvas de *T. absoluta*. Del estudio se concluyó que la mortalidad de las larvas era directamente proporcional a la concentración de patógenos. El porcentaje de larvas infectadas recuperadas de las hojas de tomate aumentaron considerablemente en relación a las concentraciones de virus, alcanzando el máximo valor (94,4%) a una concentración de $1,1 \times 10^7$ OBs/mL. En cambio, cuando se realizó una aplicación a $1,1 \times 10^3$ OBs/mL se obtuvieron 3,3% de larvas infectadas. Además, los mismos autores señalan que, como efectos subletales, este granulovirus (PhopGV) retrasa considerablemente el crecimiento de las larvas de *T. absoluta* a concentraciones de $1,1 \times 10^7$ y $5,5 \times 10^7$ OBs/mL.

Al respecto, Mamani (2008) sostiene que al igual que la mayoría de los baculovirus, PhopGV presenta un rango específico de hospederos, ya que solamente *P. operculella* y ciertas especies en la misma familia (Gelechiidae) como *Tuta absoluta* y *Tecia solanivora* son susceptibles a este virus pero en niveles inferiores que los obtenidos sobre *P. operculella*.

Por otro lado, dada la lenta velocidad de acción de los baculovirus, las actuales investigaciones, se han basado especialmente en la obtención de baculovirus recombinantes, los cuales se han modificado genéticamente con el fin de lograr un incremento en su velocidad de acción. Estas modificaciones consisten en la introducción de genes foráneos dentro del genoma de los baculovirus. Los principales genes que se introducen pertenecen a toxinas de escorpiones o arañas. Estos virus modificados paralizan y matan el insecto huésped en 1 - 2 días de iniciar la infección, disminuyendo así el grado de daño al cultivo por parte de la plaga (Beas et al., 2014; Ojeda et al., 2002). Sin embargo, hasta la fecha, estos bioplaguicidas tienen una baja influencia en el mercado de todo el mundo, representando aproximadamente el 0,5% del mercado total de plaguicidas (Moscardi et al., 2011).

Nematodos entomopatógenos

Los nematodos parásitos de insectos se conocen desde el siglo XVII, pero solamente a comienzos de 1930 se inicia su investigación como posibles agentes controladores de insectos, sin embargo, el desconocimiento de la interacción del nematodo con su bacteria simbiote produjo resultados desalentadores lo que derivó a una pérdida de interés. No obstante, los estudios se retomaron en la década de los ochenta cuando los aislamientos de dos géneros de nematodos demostraron que se comportaban mejor que otros estudiados con anterioridad. En la década de los noventa, gracias a los avances tecnológicos y a estudios más profundos, convirtieron a estos microorganismos en un área promisoriosa y con un gran potencial para el control de muchas plagas de insectos de importancia económica (Melo et al., 2010).

Los nematodos son gusanos circulares con simetría bilateral, no segmentados, translúcidos y por lo general alargados, con extremos redondeados o terminados en punta (López, 2004). Presentan sistemas excretor, nervioso, digestivo, reproductivo y muscular completo, y carece de sistema respiratorio y circulatorio. Su tracto digestivo consta de una boca seguido de la cavidad bucal o estoma, el esófago, intestino, el recto y el ano (Stock y Goodrich-Blair, 2012).

Se han descrito aproximadamente 25.000 especies y se estima que existen entre 500.000 – 100.000.000 de especies en todo el mundo (Stock y Goodrich-Blair, 2012), siendo en la actualidad más de 40 familias de nematodos asociadas a insectos, sin embargo, sólo 9 de ellas presentan especies con potencial como agentes de control biológico: Tetradonematidae, Mermithidae, Phaenopsitylenchidae, Iotonchiidae, Allantonematidae, Parasytylenchidae, Sphaerulariidae, Steinernematidae y Heterorhabditidae (López, 2004). No obstante, la mayor atención se centra en las últimas dos familias, las cuales se caracterizan por tener una relación mutualista con una bacteria simbiote que provee de alimento al nematodo y ayuda a matar al insecto huésped (Nicholls, 2008). Esta sección se enfocará en los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* debido a que poseen gran eficacia en el control biológico de larvas de lepidópteros y además son los únicos NEPs en los cuales se han desarrollado métodos de producción masiva y que han sido vendidos con fines biocontroladores (Shapiro-Ilan et al., 2014).

Steinernematidae y Heterorhabditidae

Los nematodos entomopatógenos (NEP) de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae están ubicados en el filo Nematoda, clase Secernentea y orden Rhabditida (Sáenz, 2005). Estas dos familias han demostrado ser las más efectivas en control biológico de plagas, especialmente para controlar aquellas subterráneas (Miles et al., 2012). Shapiro-Ilan et al. (2014) indican que a la fecha han sido descritos 75 especies de steinernemátidos y 18 de heterorhabdítidos. Las especies del género *Steinernema* presentan una relación simbiótica con una especie de bacteria del género *Xenorhabdus* (López, 2004). Cabe señalar que una especie de *Xenorhabdus* puede estar asociada con más de una especie

de nematodo (Nicholls, 2008). En cambio en la familia Heterorhabditidae, la mayoría de las especies de NEP existentes tienen relación con la bacteria *Photorhabdus luminescens* como simbiote (López, 2004).

Las especies más importantes de la familia Steinernematidae son: *S. carpocapsae*, *S. feltiae* y *S. glaseri*. Y en la familia Heterorhabditidae la especie con mayor importancia corresponde a *H. bacteriophora* (Miles, 2012).

La principal diferencia entre steinernemátidos y heterorhabdítidos, consiste en que las especies del primer grupo presentan machos y hembras por lo que se reproducen sexualmente, mientras que los del segundo grupo son hermafroditas en la primera generación, pero se reproducen sexualmente en las siguientes generaciones. Por lo tanto, los steinernemátidos requieren de un juvenil infectivo hembra y uno macho para invadir un insecto huésped y producir progenie. Sin embargo, para matar al hospedero sólo es necesaria la entrada de una forma infectiva, que iniciará la infección bacteriana aunque no pueda reproducirse. Por otro lado, los heterorhabdítidos necesitan solamente la entrada de un juvenil infectivo que provocará la muerte del insecto dando como resultado adultos autofecundados (Hazir et al., 2004).

Mecanismo de acción de los NEPs

Los NEPs tienen un ciclo de vida que incluye el huevo, cuatro estados juveniles y adulto. El tercer estado juvenil, también llamado como juvenil infectivo, larvas *dauer* o J3, es el único estado del ciclo de vida que se encuentra fuera del insecto huésped, específicamente en el suelo (García del Pino, 1994). En este estado infectivo, el nematodo no se alimenta sino que utiliza las reservas de energía que almacenó previamente, lo que le permite sobrevivir largos períodos en el suelo hasta que encuentre un insecto huésped. Además, tiene la función de transportar en su intestino a la bacteria simbiote y de localizar e invadir al hospedero (Merino y France, 2009).

La localización del insecto huésped por parte de los J3 se produce de forma activa como respuesta a diversos estímulos físicos y químicos generados por el insecto, dentro de los cuales destacan los gradientes de CO₂ y temperatura (Caccia et al., 2014). Una vez que J3 encuentra su hospedante apropiado, éste ingresa al insecto a través de aberturas naturales (boca, espiráculos, ano) o áreas delgadas de la cutícula como el caso de los heterorhabdítidos, penetrando al interior del hemocele del huésped (Sáenz, 2005).

Una vez en el hemocele, se produce la liberación de la bacteria simbiote que el nematodo llevaba en su intestino, la que ocurre a través del ano, en el caso de los steinernemátidos; o por la boca en los heterorhabdítidos (López, 2004). Luego la bacterias se multiplican causando la muerte del hospedante por septicemia dentro de 48 horas, y produciendo también sustancias que protegen el cadáver del insecto de la posible colonización de otros microorganismos (Sáenz, 2005). Nicholls (2008) señala que en el inicio de la infección de la bacteria, ésta recibe la ayuda de productos de excreción del nematodo que reprimen el

sistema inmunitario del insecto, inhibiendo la acción de enzimas antibacterianas lo que permite su rápida multiplicación. Posteriormente, los nematodos inician su desarrollo, se alimentan de células bacterianas y de los tejidos del insecto. Dentro del hospedero pueden producirse dos o tres generaciones del nematodo, dependiendo del tamaño del insecto huésped. Y cuando el alimento es escaso o se acaba, emergen los juveniles infectivos (150.000 ó más) desde la larva muerta hacia el suelo en busca de nuevos hospederos (Merino y France, 2009) (Figura 19). Lewis y Clarcke (2012) señalan que el ciclo de vida desde la infección del huésped por juveniles infectivos hasta el abandono del mismo por la nueva generación infectiva es entre 7 y 10 días.

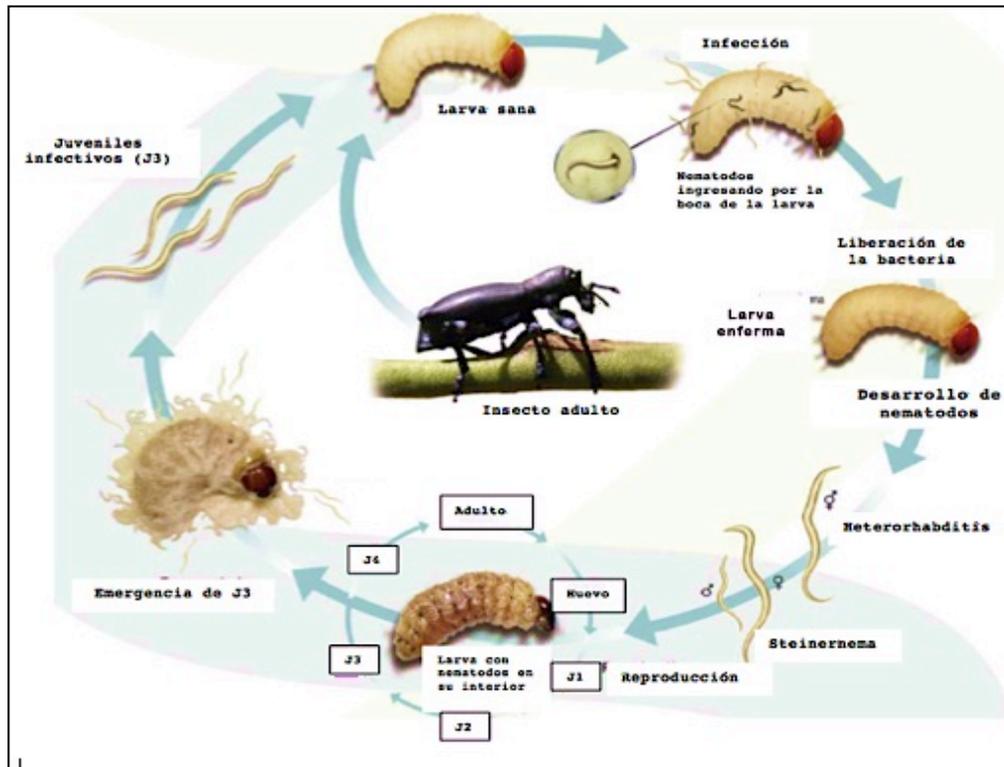


Figura 19. Ciclo de vida de los nematodos entomopatógenos (Merino y France, 2009).

Es importante mencionar que los NEPs J3, presentan comportamientos característicos al momento de localizar e infectar al huésped. Existen los emboscadores, también llamados *ambushers*, que se caracterizan por ser poco móviles, esperan que pase el insecto, generalmente están en la superficie o cerca de ella y tienen la tendencia de localizar e infectar insectos móviles. Dentro de este grupo se encuentra la especie *S. carpocapsae* (Saenz, 2005). El otro comportamiento es conocido como navegantes (*crusiers*), los cuales son muy móviles y buscan activamente a su huésped, generalmente se ubican a mayor profundidad del suelo e infectan huéspedes sedentarios y son atraídos por sustancias volátiles de este. En este grupo destacan las siguientes especies: *S. glaseri*, *S. cubanum* y *H.*

bacteriophora. También existen especies de situación intermedia, como *S. feltiae* y *S. kraussei* (Lewis y Clarke, 2012).

Efectividad de los NEPs sobre *T. absoluta*

Gracias a la capacidad que poseen los nematodos entomopatógenos de moverse a través del agua libre en el suelo, el control de plagas, especialmente las subterráneas, se ve favorecido en comparación a los agroquímicos. El uso de estos organismos antagonistas se ha mantenido estable y es posible que se incremente en los años venideros (Van Drieshe et al., 2007).

Batalla-Carrera et al. (2010) evaluaron bajo condiciones de laboratorio, la efectividad de tres especies de NEPs (*Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*) sobre larvas de polilla del tomate demostrando a través de bioensayos foliares que estos microorganismos son capaces de emboscar, buscar y matar las larvas ubicadas en las hojas de los tomates a pesar de la ubicación de éstas (dentro o fuera de las hojas). Como seguimiento de esta actividad, los mismos autores indican que los NEPs son capaces de penetrar dentro de las galerías de las hojas y causar una mortalidad de larvas de *T. absoluta* de un 76,3% utilizando *H. bacteriophora* y un 88,6% y 92% con *S. carpocapsae* y *S. feltiae*, respectivamente. También se observó que en condiciones de invernadero, a través de aplicaciones foliares de NEPs, éstos pueden alcanzar una mortalidad de larvas de *T. absoluta* entre un 87,6 - 95%. Cabe destacar lo señalado por Delbene (2003) quien indica que la especie *Steinernema carpocapsae*, NEP que posee el más amplio rango de hospederos descrito, logra un 100% de control de *T. absoluta* en pruebas de laboratorio. Además, el ciclo de vida de este NEP es corto y su reproducción y almacenaje son de fácil manejo, factores que lo convierten en un excelente controlador potencial de esta plaga.

Es importante tener en cuenta que dado el hábito minador de la polilla del tomate, la principal forma de aplicación de los biocontroladores es directamente en la zona foliar de las plantas, existiendo mayor exposición a diversos factores climáticos como por ejemplo las altas temperaturas y la radiación UV, elementos que afectan negativamente la persistencia de la mayoría de éstos en el medio ambiente. Sin embargo, es necesario considerar que las galerías realizadas por las larvas de *T. absoluta* provee a los NEPs de un hábitat protegido que les permite evadir los factores ambientales adversos dada su capacidad de penetrar dentro de las galerías de las hojas, por lo que pueden ser considerados candidatos ideales para el control biológico de esta plaga y su utilización complementaria en programas de manejo integrado (Batalla-Carrera et al., 2010; Leppla et al., 2014).

Además, Batalla-Carrera et al. (2010) señalan que en forma complementaria a la aplicación foliar de los NEPs, la aplicación de estos entomopatógenos en el suelo controlaría también eficazmente el último estado larval, es decir, cuando las larvas caen desde las hojas hacia el suelo para pupar.

Sobre la base de las ideas expuestas, cabe destacar que el potencial del control microbiológico de plagas es enorme, ya sea con bacterias, hongos, virus o nematodos, es promisorio, ya que constituyen una alternativa al uso de productos químicos, siendo más armónico con el medio ambiente y mucho más específico al momento de la aplicación y además disminuye el riesgo de desarrollo de resistencia por parte de la plaga y no afecta a los insectos benéficos (Harper, 2013). No obstante, es probable que los bioplaguicidas presenten ciertas desventajas en relación a los agroquímicos, debido a su lenta velocidad de acción o su elevada sensibilidad al medioambiente, pero colocando a ambos en una balanza, se observa que el control microbiológico posee un rango de mortalidad de insectos plaga muy similares a los obtenidos con el uso de insecticidas. Al respecto es posible considerar la idea de combinar las medidas de control culturales, físicas, biológicas, químicas, mecánicas e incluso el uso de plantas resistentes a las plagas, es decir, implementar un manejo integrado, con el fin de mantener la densidad poblacional de la plaga por debajo del nivel de daño económico, reduciendo al mismo tiempo las aplicaciones de químicos, y consecuentemente disminuyendo las posibilidades de daño tanto al medioambiente, insectos benéficos, a salud de los seres humanos, y el desarrollo de resistencia por parte de la plaga (Leppa et al., 2014; Fischbein, 2012).

CONCLUSIONES

El control químico de *Tuta absoluta* es deficiente debido a que gran parte del desarrollo de las larvas de esta plaga tiene lugar principalmente en el interior de las hojas o frutos, dificultando la acción de los insecticidas. Además, debido al elevado potencial reproductivo de la plaga, se tiende a aumentar la aplicación de agroquímicos, aumentando el riesgo de desarrollo resistencia de estos, situación que ha sido documentada para esta especie.

Según la literatura consultada, se puede considerar que los nematodos entomopatógenos, especialmente las especies *Steinernema feltiae* y *Steinernema carpocapsae*, pueden ser considerados candidatos ideales para ser utilizados como base de bioplaguicidas y en programas de manejo integrado, ya que poseen la capacidad de introducirse dentro de las galerías realizadas por las larvas de *T. absoluta* y localizar al insecto huésped. Respecto a su efectividad, estos pueden alcanzar una mortalidad entre un 87,6 - 95% en condiciones de invernadero. Además, cabe señalar que la capacidad de penetrar las galerías les provee a estos un excelente hábitat para eludir factores ambientales adversos, los cuales afectan considerablemente la persistencia de los microorganismos entomopatógenos.

Por otro lado, las bacterias entomopatógenas, especialmente la especie *B. thuringiensis*, también puede ser considerada como un buen agente biocontrolador sobre la polilla del tomate, ya que estudios realizados han demostrado una eficiencia cercana al 90% de mortalidad de larvas. Sin embargo, es importante mencionar que este microorganismo debe ser consumido por la larva para que poder ejercer su acción, por lo que es aconsejable utilizarla en conjunto con plantas de genotipo resistente al ataque de la plaga, debido a que favorece la eficacia del entomopatógeno. Además, la integración con otros métodos de control biológico como la liberación de enemigos naturales (míridos y parasitoides) podría resultar una estrategia muy efectiva, ya que *Bt* actuaría sobre las larvas y los parasitoides atacarían preferentemente a los huevos.

Respecto a los hongos y virus entomopatógenos, estos pueden ser utilizados en el control de *T. absoluta*, sin embargo, existen ciertas características que los hace menos atractivos. En el caso de los hongos, su eficiencia se puede ver afectada y retardada por la presencia de un alcaloide con acción antifúngica presente en hojas, tallos y frutos de tomate, denominado tomatina. En cuanto a los virus entomopatógenos, su principal obstáculo para su uso comercial a gran escala es la inhabilidad de multiplicarlos en medios sintéticos, es decir, necesitan de un organismo vivo para multiplicarse, lo que dificulta su producción.

Finalmente, la literatura recomienda utilizar todos los métodos de control que se encuentren disponibles para así lograr un control eficaz de *T. absoluta*, minimizando el uso de productos fitosanitarios y priorizando las prácticas culturales, físicas y biológicas, en definitiva aplicar una estrategia de control integrado.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, J. 2006. Evaluación de Hongos Entomopatógenos como controladores biológicos de *Scutigerella immaculata*. Memoria Microbiólogo Agrícola y Veterinario. Bogotá, Colombia: Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. 79p.

Ahmed, M and S. Naqvi. 2011. Pesticide Pollution, Resistance and Health Hazards. (chap. 1, pp. 1-24). In: Stoytcheva, M (ed). The Impacts of Pesticides Exposure. Intech. Rijeka, Croatia. 445p.

Alatorre- Rosas, R. 2007. Hongos entomopatógenos. (Cap.9, pp.127-143). En: Rodríguez, L. y H. Arredondo (eds.) Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303 p.

Alean, I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos Entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* (Homoptera: *Aleyrodidae*) bajo condiciones de invernadero. Memoria Microbiólogo Agrícola y Veterinario. Bogotá, Colombia: Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. 107h.

Anónimo. 2014. Tuta absoluta : Control Biológico. [en línea]. España. Recuperado en: <<http://www.ecoterrazas.com/blog/tuta-absoluta-control-biologico/>>. Consultado el 17 de diciembre 2014.

Anónimo. 2015. Poisonous Plants. [en línea]. Brisbane, Australia. Recuperado en: <<http://directcompostsolutions.com/poisonous-plants/>>. Consultado el: 26 de noviembre de 2014.

Arnó, J. and R. Gabarra. 2010. Controlling *Tuta absoluta*, a new invasive pest in Europe. Barceolna, Spain.

Arthurs, S.; L. Lacey.; J. Pruneda and S. Rondon. 2008. Semi-field evaluation of a granulovirus and *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* for season-long control of the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*. The Netherlands Entomological Society. Netherland. 129: 276-285.

Badii, M. y J. L. Abreu. 2006. Control biológico una forma sustentable de control de plagas. International Journal of Good Conscience (1): 82-89.

- Batalla-Carrera, L.; A. Morton and F. García del Pino. 2010. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. In: *Biocontrol*, 55(4): 523-530.
- Beas, A.; A. Sánchez.; F. García.; A. Contreras and E. Molina. 2014. Baculovirus Biopesticides: An Overview. *The Journal of Animal & Plants Sciences*. 24(2): 362-373.
- Bhalla, R.; M. Dalal.; S. Panguluti.; B. Jagadish.; A. Mandaokar.; A. Singh et al. 2005. Isolation, characterization and expression of a novel vegetative insecticidal protein gene of *Bacillus thuringiensis*. *FEMS Microbiology Letters*. 243 (2): 467-472.
- Bielza, P. 2010, mar. La resistencia a insecticidas en *Tuta absoluta* Meyrick. *Tuta absoluta* la polilla del tomate, un grave problema en expansión, 217: 103-106.
- Bravo, A. y M. Soberón. 2008. Las toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis*: modo de acción y consecuencias de su aplicación. In: López-Munguía, A. Una ventana al quehacer científico. Instituto de Biotecnología, Universidad Autónoma Nacional de México, Distrito Federal, México. 303-314.
- Bravo, A.; I. Gómez.; H. Porta.; B. García-Gómez.; C. Rodríguez-Almazan.; L. Pardo and M. Soberón. 2013. Evolution of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins insecticidal activity. *Microbial Biotechnology*. 6(1): 17-26.
- Bravo, A.; S. Likitvivatanavong.; S. Gill and M. Soberón. 2011. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 41: 423-431.
- Caballero, P y T. Williams. 2008. Virus Entomopatógenos. (cap. 8, pp.121-135). En: Jacas, J y A. Urbaneja. *Control Biológico de Plagas Agrícolas*. Phytoma-España.
- Caballero, P.; R. Murillo.; D. Muñoz y T. Williams. 2009. El nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) como bioplaguicida: un análisis de avances recientes en España. *Rev. Colomb. Entomol. Bogotá, Colombia.* 35 (2): 105-115.
- Caccia, M.; Caccia, M.; E. Del Valle.; M. Doucet. And P. Lax. 2014. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa gelotopoen* (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomopathogenic nematodes *Steinernema diaprepesi* (Rhabditida: Steinernematidae) under laboratory conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research*. Santiago, Chile. 74 (1): 123-126.

Cáceres, R. 2004. Recopilación de antecedentes de biología y daño de las principales plagas de artrópodos que afectan a los cultivos anuales más importantes en Chile. Memoria Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 232 p.

Cappello, S.; M. García.; J. Leshner y R. Molina. 2010. Hongos entomopatógenos como una alternativa en el control biológico. División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México. 4p.

Carballo, M.; E. Hidalgo y A. Rodríguez. 2004b. Control biológico de insectos mediante hongos entomopatógenos. (Cap.3, pp. 33-58). En: Carballo, M y F. Guharay (eds.). Control biológico de plagas agrícolas. 1era ed. Managua, Nicaragua. CATIE. 232 p. (Serie N° 53).

Carballo, M.; E. Hidalgo y J.A. López. 2004a. Control biológico de insectos mediante bacterias. (Cap. 3, pp. 33-58). En: Carballo, M. y F. Guharay (eds.). Control biológico de plagas agrícolas. 1era ed. Managua, Nicaragua. CATIE. 232 p. (Serie N°53).

Carruthers, R y S. Soper. 1987. Diseases group: Fungal diseases. (chap. 13, 357-417). In: J. Fuxa and Y. Tanada. (Eds.) Epizootiology of Insects Diseases. New York, United States. 533p.

CChRGM (Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos). 2015. Centro Regional de Investigaciones INIA-Quilamapu, Chillán, Chile. [en línea]. Recuperado en: <<http://www.cchrgm.cl/img/CChRGM.pdf>>. Consultado el: 23 de marzo de 2015.

ChileBio. 2013. Plantas transgénicas: Situación en Chile. [en línea]. Santiago, Chile. Recuperado en: <http://www.chilebio.cl/pt_situacion_chile.php>. Consultado el: 24 de marzo 2015.

Collavino, M y R. Giménez. 2008. Efecto del imidacloprid en el control de la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick). (Vol 26 (1): 65-72). [en línea]. Recuperado en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S071834292008000100009&lng=es&nrm=iso&tlng=es>. Consultado el: 22 de mayo de 2015.

Couch. T and J. Jurat. 2014. Commercial Production of Entomopathogenic Bacteria. (chap.12, pp. 415-435). In Morales, J.; Rojas. M and D. Shapiro-Ilan. (Eds.). Mass Production of Beneficial Organisms: Invertebrates and Entomopathogens. United States. 742p.

Coyne, M. 2000. Microbiología del suelo: Un enfoque exploratorio. Ed. Paraninfo. Madrid, España. 416p.

De Albuquerque. 2009. Hongos entomopatógenos: importante herramienta para el control de “moscas blancas” (Homoptera: *Aleyrodidae*). Academia Pernambucana de Ciencia Agronómica. Brasil. 40(5): 209-242.

De Maagd, R.; A. Bravo and N. Crickmore. 2001. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. Trends in Genetics. 17(4): 193-199.

Del Rincón-Castro. 2007. Bioinsecticidas Virales. (Cap.11, pp.160-178). En: Rodríguez, L. y H. Arredondo (eds.). Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303 p.

Delbene, J. 2003. Evaluación de cepas nativas de los hongos entomopatógenos *Beauveria* sp. y *Metarhizium* sp., sobre el control de polilla del tomate *Tuta absoluta* Meyrick. Memoria Ingeniero Agrónomo. Valparaíso, Chile: Escuela de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 41h.

Devotto L.; M. Gerding. y A. France. 2008. Hongos Entomopatógenos: una alternativa para la obtención de biopesticidas. [en línea]. Centro Regional Quilamapu, Chillán, Chile. Recuperado en: <<http://www2.inia.cl/medios/quilamapu/pdf/bioleche/BOLETIN23.pdf>>. Consultado el 25 de marzo de 2014.

Díaz, M. 2006. Proteasas digestivas del tipo tripsina del taladro del maíz (*Sesamia nonagrioides*) Lepidoptera: Noctuidae: Caracterización e interacción con la proteína insecticida Cry1Ab. Tesis Doctoral Ing. Agr. Madrid, España: Universidad Politécnica de Madrid. 176h.

Escalona, V.; P. Alvarado.; H. Monardes.; C. Urbina y A. Martin. 2009. Manual de Cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Nodo Hortícola. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 60 p.

Estay, P. 2000. Polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). [en línea]. Santiago, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Recuperado en: <<http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/informativos/NR25648.pdf>>. Consultado el: 26 de Enero de 2015.

Estay, P. 2007a, sep.-oct. Control Biológico de Plagas Claves del Tomate: Polilla del Tomate. Revista Tierra adentro. Santiago, Chile. 40- 41p.

Estay, P. 2007b, sep.-oct. Control Biológico de Plagas Claves del Tomate: Mosquita blanca de los invernaderos. Revista Tierra adentro. Santiago, Chile. 36- 39p.

Federici, B. 2009. Pathogens of Insects. (pp. 757-765). In: Resh, H and R. Carde (eds.) Encyclopedia of Entomology (Elsevier Sciences, Amsterdam, Holland. 1132h.

Fischbein, D. 2012. Introducción a la teoría del control biológico de plagas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires, Argentina. 15: 1-21.

Flaño, A. 2014. El mercado del tomate para consumo fresco. ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). [en línea]. Santiago, Chile. Recuperado en: <http://www.odepa.cl/wp-content/files_mf/1418996964tomate2014.pdf>. Consultado el 25 junio de 2015.

France, A.; M. Gerding y M. Gerding. 2008. Hongos Entomopatógenos. Nueva Alternativa para el Control Biológico de Plagas Agrícolas. Informativo Agropecuario. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional Quilamapu, Chillán, Chile.

García del Pino, F. 1994. Los Nematodos Entomopatógenos (Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae) presentes en Cataluña y su utilización para el control biológico de insectos. Universidad Autónoma de Barcelona, España. 383p.

Gerding, M. 2002. Agentes de Control Biológico de Plagas. [en línea]. INIA Quilamapu. Chillán, Chile. Recuperado en: <<http://www2.inia.cl/medios/quilamapu/pdf/bioleche/BOLETIN16.pdf>>. Consultado el 15 de junio de 2015.

Giustolin, T.; J. Vendramin.; S. Alves y S. Viera. 2001. Patogenicidade de Beauveria bassiana sobre Tuta absoluta Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) criada em dois genotipos de tomateiro. Neotropical Entomology 30: 417-421.

Glare, T.; J. Caradus.; W. Gelernter.; T. Jackson.; N. Keyhani.; J. Kohl et al. 2012. Have biopesticides come of age?. Trends Biotechnol. 30: 250-258.

González-Cabrera, J.; O. Mollá.; H. Montón y A. Urbaneja. 2010, mar. Control biológico de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) con *Bacillus thuringiensis* (Berliner). *Tuta absoluta*: La polilla del tomate, un grave problema en expansión. 217: 69-73.

González-Castillo, M.; C. Noé y R. Rodríguez. 2012. Control de insectos –plaga en la agricultura utilizando hongos entomopatógenos: retos y perspectivas. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, México*. 4(8): 42-55.

Harper, D. 2013. *Biological Control By Microorganisms*. [en línea]. Chichester, England. Recuperado en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470015902.a0000344.pub3/pdf>. Consultado el 12 de julio de 2015.

Hashmi, I. and D. Khan. 2011. Adverse Health Effects of Pesticides Exposure in Agricultural and Industrial Workers of Developing Country. (Chap.8 pp.156-178). In: Stoytcheva, M (ed). *The Impacts of Pesticides Exposure*. Intech. Rijeka, Croatia. 445p.

Hazir, S.; H. Kaya; N. Keskin and Stock, P. 2004. Entomopathogenic Nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for Biological Control of Soil Pests. *The Turkish J. Biol.* 27: 181- 202.

Hofte, H and H.R. Whiteley. 1989. Insecticidal cristal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.* 53(2): 242-255.

Ibarra, J. 2007. Uso de bacterias en el control biológico. (cap. 10, pp. 144-159). En: Rodríguez, L. y H. Arredondo (eds.) *Teoría y Aplicación del Control Biológico*. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303 p.

Izquierdo, L. 2011. Actividad de las toxinas de *Bacillus thuringiensis* para la efectividad de *Tuta absoluta*. Tesis Doctoral en Biotecnología Molecular y Celular de Plantas. Universidad de Valencia, España. 55h.

Jaronski, S. 2014. Mass Production of Entomopathogenic Fungi: State of the Art. (chap. 11, pp. 357-413). In:) In: Morales, J.; Rojas. M and D. Shapiro-Ilan. (Eds.). *Mass Production of Beneficial Organisms: Invertebrates and Entomopathogens*. United States. 742p.

- Kalha, C.S.; P.P. Singh.; M.S Hunjan.; V. Gupta and R. Sharma. 2014. Entomopathogenic Viruses and Bacteria for Insect – Pest Control. (chap.12, pp. 225-244). *In*: Abrol, D.P. (ed). Integrated Pest Management: Current Concepts and Ecological Perspective. California, United States. 561p.
- Kaoud, H. 2014. Alternative methods for the control of *Tuta absoluta*. *Glob. J. Mul. App. Sci.* Cairo, Egypt. 2(2): 41-46.
- Kaur-Gill, H and H. Garg. 2014. Pesticides: Enviromental Impacts and Management Strategies. (chap. 8, pp. 188-230). *In*: Larramendy, M and S. Soloneski (eds). Pesticides: Toxic Aspects. United States, 238p.
- Kaya, H. y L. Lacey. 2008. Introduction to Microbial Control (chap. 1, pp 3-7). *In*: Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and evaluation of Pathogens for Control of Insects and other Invertebrate Pests, 2nd ed., Holland, 868p.
- Khetan, S. 2001. Bacterial insecticide: *Bacillus thuringiensis*. (chap.1, pp. 11-14). *In*: Khetan, S. Microbial Pest Control. United States. 295p.
- Lacey, L.; R. Frutos.; H. Kaya and P. Vail. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?. *Biological Control*. 21: 230-248.
- Lambrot, L., y J. Araya. 1986. Antecedentes sobre *Bacillus thuringiensis*, una bacteria selectiva para controlar insectos. *Acta Entomol. Chil.* 13:183-189.
- Larraín, P. 1992. Plagas en cultivos bajo plástico. *Investigación y Progreso Agropecuario*. INIA- La Platina, Santiago, Chile 73: 41-52.
- Leppla, N.; J. Morales-Ramos.; D. Shapiro- Ilan and M. Rojas. 2014. Introduction (chap.1, pp. 3-16). *In*: Morales, J.; Rojas. M and D. Shapiro-Ilan. (Eds.). Mass Production of Beneficial Organisms: Invertebrates and Entomopathogens. United States. 742p.
- Lewis, E and D. Clarcke. 2012. Nematode Parasites and Entomopathogens. *In*: Vega, F and H. Kaya. *Insect Pathology*. 2nd edition. San Diego, United States.
- Lietti, M.; E. Botto and R. Alzogaray. 2005. Insecticide Resistance in Argentina Populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotrop. Entomol.* 34(1): 113-119.

López, E. 1991. Polilla del tomate: problema crítico para la rentabilidad del cultivo de verano. *Empresa y Avance Agrícola* 1: 6–7.

López, J. 2004. Control Biológico de insectos mediante nematodos entomopatógenos. *En: Carballo, M. y F. Guharay (eds.). Control biológico de plagas agrícolas.* 1era ed. Managua, Nicaragua. CATIE. 232 p. (Serie N°53).

López, J.; C. Narváez y C. Rizo. 2004. Control biológico de insectos mediante virus entomopatógenos. (Cap. 3, pp. 33-58). *En: Carballo, M. y F. Guharay (eds.). Control biológico de plagas agrícolas.* 1era ed. Managua, Nicaragua. CATIE. 232 p. (Serie N°53).

Mamani, D. 2008. Control biológico e interacción de baculovirus PoGV, y *Bacillus thuringiensis* var *Kurstaki* sobre polilla de la papa: *Phthorimaea operculella* (Zeller) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen) [Lepidoptera: Gelechiidae]. Tesis doctoral Biotecnología. Lima, Perú, España: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 146h

Marín, M.; E. Díaz.; M. Quercetti y A. Caballero. 2002. *Tuta absoluta*: Cría en condiciones de laboratorio. *Rev. FCA UNCuyo.* N°2. Mendoza, Argentina. 6p.

Martínez A.; S. Pineda.; J. Figueroa.; J.M. Chavarrieta y T. Williams. 2012. Los baculovirus como bioinsecticidas: evaluación de un nucleopoliedrovirus para el combate de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en México y Honduras. *Ciencia Nicolaita.* Ciudad de México, México. 56: 35-46.

Melo, E.; C. Ortega; A. Gaigl y A. Belloti. 2010. Evaluación de nematodos entomopatógenos para el manejo de *Phyllophaga bicolor* (Coleoptera: Melolonthidae). *Rev. Colomb. Entomol.* Bogotá, Colombia. 36(2): 207-212.

Merino, L y A. France. 2009, may.-jun. Nematodos Entomopatógenos: Control biológico de insectos plaga de importancia económica. *Revista Tierra Adentro*, 93: 24-25.

Miles, C.; C. Blethen.; R. Gaugler.; D. Shapiro-Ilan and T. Murray. 2012. Using Entomopathogenic Nematodes for Crops Insect Pest Control. Washington, United States. 9p.

Miller, L (Ed.). 1997. *The Viruses: The Baculoviruses.* New York: United States. Plenum Press. 433p.

Molla, O.; M. Alonso.; H. Montón.; F. Beitia.; M. Verdú.; J. González-Cabrera y A. Urbaneja. 2010, mar. Control biológico de *Tuta absoluta*: Catalogación de enemigos naturales y potencial de los míridos depredadores como agentes de control. *Tuta absoluta*: La polilla del tomate, un grave problema en expansión, 217: 42-26.

Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 63: 95-103.

Moscardi, F.; M. De Souza.; M. Castro.; M. Lara and B. Szewczyk. 2011. Baculovirus Pesticides: Present State and Future Perspectives. (chap. 16, pp. 416-445). In: Ahmad, I and J. Pitchel (eds.). Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Application. 516p.

Moura, G.; S. Batista.; F. Rampelotti.; M. Ragassi.; C. Borges and I. Delalibera. 2010. Potential of granulovirus isolate to control *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). In: BioControl. 55(5): 657-671.

Nicholls, C. 2008. Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia. 277p.

Niedmann, L y L. Meza. 2006. 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. [en línea]. Chillán, Chile, Agric Téc. 66(3): 235-246. Recuperado en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0365-28072006000300002&script=sci_arttext>. Consultado el: 28 marzo de 2015.

Ojeda, Z.; P. Rocha y H. Calvache. 2002. Baculovirus como insecticida biológico. Palmas, España. 23 (4): 27-37.

Osman, G.; A. Rasha.; A. Assaedi.; S. Organji.; D. El- Ghareeb.; H. Abulreesh and S. Althubiani. 2015. Bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* a Comprehensive Review. Egypt J Biol P Co. 25(1):271–288.

Paniagua, A. 2002. Prospección y aislamiento de cepas de entomopatógenos para control biológico de la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick). Memoria Ingeniero Agrónomo. Valparaíso, Chile: Escuela de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 62h.

Pertuzé, R. 2011. Las Plantas Transgénicas en Chile. [en línea]. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Recuperado en: <<http://www.agronomia.uchile.cl/extension/opinion/73018/prof-ricardo-pertuze-las-plantas-transgenicas-en-chile>>. Consultado el: 23 de marzo de 2015.

Pinto, A. 2002. Evaluación de trampa de luz como método de captura de polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick). Memoria Ingeniero Agrónomo. Valparaíso, Chile: Escuela de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 41h.

Portela, D.; A. Chaparro y S. López. 2013. La biotecnología de *Bacillus thuringiensis* en la agricultura. Bogotá, Colombia. 11(20): 87-96.

Pucheta M.; A. Flores.; S. Rodríguez y M. de la Torre. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. Red de Revistas Científicas de América latina, el Caribe, España y Portugal. Asociación Interencia, Venezuela. 31 (12): 856-860.

Ramírez, L.; N. Ramírez.; L. Stella.; J. Jiménez y J. Hernández. 2010. Estandarización de un bioensayo y evaluación preliminar de tres formulaciones comerciales de *Bacillus thuringiensis* sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Rev. Colomb. Biotecnol. 7(1): 12-21.

Ravensberg, W. 2011a. General Introduction and Outline. (chap.1, pp. 1-18). In: A Roadmap to the Successful Development and Commercialization of Microbial Pest Control Products for Control of Arthropods. Springer. Holland. 383p.

Ravensberg, W. 2011b. Mass Production and Product Development of a Microbial Pest Control Agent (chap.3, pp. 59-117). In: A Roadmap to the Successful Development and Commercialization of Microbial Pest Control Products for Control of Arthropods. Springer. Holland. 383p.

Rifo, V. 2013. Actividad enzimática y susceptibilidad a cartap y abamectina en poblaciones de campo de *Tuta absoluta* (Meyerick) (Lepidoptera:Gelechiidae). Memoria Ingeniero Agrónomo. Valdivia, Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 37h.

Ripa, R.; S. Rojas y F. Rodríguez. 1991. Consideraciones sobre el control de la polilla del tomate. Investigación y Progreso Agropecuario. La Platina, Santiago, Chile. 68: 20-24.

Riquelme, M.; E. Botto y C. Lafalce. 2006. Evaluación de algunos insecticidas para el control de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) y su efecto residual sobre el parasitoide *Trichogrammatoidea bactrae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). [en línea]. Mendoza, Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argent. 65(3-4): 57-65. Recuperado en: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0373-56802006000200009&script=sci_arttext>. Consultado el: 11 de marzo de 2015.

Rizo, C. y C. Narváez. 2001. Uso y producción de Virus de la Poliedrosis Nuclear en Nicaragua. Revista de Manejo Integrado de plagas (Costa Rica) 61: 90-96.

Rodríguez del Bosque, L. y H. Arredondo (eds.). 2007. Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303p.

Rodríguez, M.; A. France y M. Gerding. 2005a, may.-jun. Control biológico de plagas del suelo con hongos entomopatógenos. Chillán, Chile. Revista Tierra Adentro. 54: 12-13.

Rodríguez, M.; Gerding, M. y A. France. 2005b. Efectividad de Aislamientos de Hongos Entomopatógenos sobre Larvas de Polilla del Tomate, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). [en línea]. Chillán, Chile. Agric. Téc, 66(2): 159-165. Recuperado en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072006000200006> Consultado el: 23 de marzo de 2015.

Rodríguez, M.; M. Gerding y A. France. 2007. Hongos entomopatógenos para el control de polilla del tomate. Revista Horticultura Internacional 60: 28- 30.

Roh, JY.; J. Choi.; M. Li.; B. Jin and Y. Je. 2007. *Bacillus thuringiensis* as a Specific, Safe, and Effective Tool for Insect Pest Control. J. Microbiol. Biotechnol. 17(4): 547–559.

Rohrmann, G. 2013. Introduction to the baculoviruses, their taxonomy, and evolution. (Chap. 1, pp. 1-26). In: Baculovirus Molecular Biology. Third edition. [en línea]. Oregon, United States. Recuperado en: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138298/?report=reader>>. Consultado el: 16 de marzo de 2015.

Ruisánchez, Y. 2013. La palomilla del tomate (*Tuta absoluta*): una plaga que se debe conocer en Cuba. Revista de Fitosanidad. La Habana, Cuba. 17(3): 171-181.

Ruíz de Escudero, I.; I. Ibáñez.; M. Padilla.; A. Carnero y P. Caballero. 2004. Aislamiento y caracterización de nuevas cepas de *Bacillus thuringiensis* procedentes de muestras de

tierra de Canarias. Boletín Sanidad Vegetal. 30: 703-712.

Sáenz, A. 2005. Importancia de los nematodos entomopatógenos para el control biológico de plagas en palma de aceite. Palmas, Colombia. 26(2): 41-56.

Salazar, E. y J. Araya. 1997. Detección de resistencia a insecticidas en la polilla del tomate. Simiente 67:8-22.

Salazar, E y J. Araya. 2001. Respuesta de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick), a insecticidas en Arica. Agric. Téc. 61:429- 435.

Santos, B. y S. Perera. 2010. Medidas de control de la polilla del tomate (*Tuta absoluta*). Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Tenerife, España. 11p.

Sauka, D. y G. Benintende, 2008. *Bacillus thuringiensis*: generalidades. Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. Revista Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina. 40: 124-140.

Segovia, P. 2013. Estado de la Resistencia a Insecticidas en Poblaciones Chilenas de *Tuta absoluta*. [en línea]. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Recuperado en: <<http://www.agrarias.uach.cl/2013/04/24/estado-de-la-resistencia-a-insecticidas-en-poblaciones-chilenas-de-tuta-absoluta/>>. Consultado el: 12 de abril de 2015.

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2015, jul. Palomilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick). (Fic. Tec. N°28). Distrito Federal, México. Recuperado en: <<http://senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento=27889&IdUrl=76628&down=true>>. Consultado el 14 de junio de 2015.

Sepúlveda, M.; M. Gerding y A. France. 2010. Control de Plagas con Hongos Entomopatógenos. [en línea]. INIA Quilamapu. Chillán, Chile. Recuperado en: <<http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/bioleche/NR37160.pdf>>. Consultado el 14 de noviembre de 2014.

Shalaby, H.; F. Faragalla.; H. El-Saadany and A. Ibrahim. 2013. Efficacy of three entomopathogenic agents for control the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Dokki, Egypt. Nature and Science, 11(7): 63-72.

Shapiro-Ilan, D.; R. Han and X. Qiu. 2014. Production of Entomopathogenic Nematodes. (chap.10, pp. 321-355) In: Morales, J.; Rojas, M and D. Shapiro-Ilan. (Eds.). Mass Production of Beneficial Organisms: Invertebrates and Entomopathogens. United States. 742p.

Sowjanya, K and A. Varma (Eds.). 2015. An introduction to Entomopathogenic Microorganisms (chap. 1, pp 1- 10). In: Biocontrol of Lepidopteran Pests: Use of Soil Microbes and their Metabolites. Switzerland: Springer. 344p.

St. Leger, R. 2007. *Metarhizium anisopliae* as a Model for Studying Boinsecticidal Host Pathogen Interactions. (cap. 9, pp. 179-205). In: Vurro, M y J. Gressel. Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management. Gualdo Tadino, Italy: Springer. 369p.

Stock, P and Goodrich-Blair, H. 2012. Nematodes parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance, (chap 12. pp. 373 – 426). In: Lacey, L. 2012. Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. 2nd ed. Washington, United States. 484p.

Szewczyk, B.; L. Hoyos-Carvajal.; M. Paluszczek.; I. Skrzecz.; and M Lobo do Souza. 2006. Baculoviruses: reemerging biopesticides, *Biotechnology Advances* 24: 143–160.

Szewczyk, B.; M. Lobo de Souza.; M. Batista de Castro; M. Lara and F. Moscardi. 2011. Baculovirus Biopesticides (chap.2, pp. 25 – 36). In: Stoytcheva, M (Ed.). *Pesticides - Formulations, Effects, Fate*. [en línea]. Rijeka, Croatia: Intech. 822p. Recuperado en: <<http://www.intechopen.com/books/pesticides-formulations-effects-fate/baculovirus-biopesticides>> Consultado el: 12 de diciembre de 2014.

Tanada, Y and H. Kaya. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press, Inc. New York, Estados Unidos. 666p.

Tapia, B. 2013. La industria de la pasta de tomate. ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). [en línea]. Santiago, Chile. Recuperado en: <<http://www.odepa.cl/odepaweb/publicaciones/doc/11024.pdf>>. Consultado el: 22 de mayo de 2015.

Téllez, A.; M. Cruz.; Y. Mercado.; A. Asaff y A. Arana-Cuenca. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología*. 30: 73-80.

Urbina, C. 2009. Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades. *En*: Escalona et al. Manual de Cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Nodo Hortícola. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 60 p.

Urretabizkaya, N.; N. Vasicek y E. Saini. 2010. Insectos Perjudiciales de Importancia Agronómica: Lepidópteros. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires, Argentina. 77p.

Urtubia, I y A. France. 2007, nov.-dic. Formulaciones de hongos entomopatógenos para control de plagas en agricultura. *Tierra Adentro*, 77: 46-49.

Usta, C. 2013. Microorganisms in Biological Pest Control - A Review (Bacterial Toxin Application and Effect of Environmental Factors). (chap. 13, pp. 287 – 317). *In*: Current Progress in Biological Research. Intech. Rijeka, Croatia. 385p.

Valderrama, J y L. Villamizar. 2013. Baculovirus: Hospederos y especificidad. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Bogotá, Colombia. 15(2): 143-155.

Valencia, C.; S. Mayerly.; R. Aldana.; E. Mesa y H. Gomes de Olivera. 2011. Patogenicidad de hongos entomopatógenos del género *Metarhizium* sobre larvas de *Strategus aloeus* L. (Coleóptera: *Scarabaeidae*), en condiciones de laboratorio. *Palmas*, Colombia. 32 (4): 30-40.

Van Driesche, R, M. Hoddle and T. Center. 2007. Control de plagas y malezas por enemigos naturales. Washington, United States. 751p.

Vega, E.; N. Meyling.; J. Luangsa-ard and M. Blackwell. 2012. Fungal Entomopathogens, (chap, 6, pp. 173 – 220). *In*: Vega, F and H. Kaya. *Insect Pathology*. 2nd Edition.. United States. 490p.

Vercher, R.; Calabuig, A y C. Felipe. 2010, mar. Ecología, muestreos y umbrales de *Tuta absoluta* (Meyrick). *Tuta absoluta* la polilla del tomate, un grave problema en expansión, 217: 23-26.

Williams, T. 2008. Insecticidas basados en los Baculovirus. [en línea]. Veracruz, México. Recuperado en: <http://www.trevorwilliams.info/Virus_insecticidas_es.htm>. Consultado el 12 de junio de 2015.