

# Factibilidad técnica de variedades de algodón expresando proteínas Cry tóxicas contra *Anthonomus grandis* en el Valle del Sinú, Colombia

## *Technical feasibility of genetically engineered cotton varieties expressing Cry proteins against Anthonomus grandis in the Sinú Valley, Colombia*

Fecha de recepción: 14 de marzo de 2018  
Fecha de aprobación: 18 de junio de 2018

Lorena Osorio-Almanza<sup>1</sup>  
Oscar Burbano-Figueroa<sup>2</sup>  
Antonio Martinez-Reina<sup>3</sup>

DOI: <http://doi.org/10.19053/01228420.v15.n2.2018.8395>

### Resumen

*Anthonomus grandis* y *Spodoptera frugiperda* son las principales plagas del algodón en la región Caribe de Colombia, la principal productora de algodón del país. El control de *A. grandis* representa el 20 % de los costos de producción. Las proteínas Cry disponibles en los algodones transgénicos no son útiles para el control de estas plagas; sin embargo, nuevas proteínas Cry han demostrado, en pruebas *in-vitro* e *in-planta*, tener efecto tóxico sobre *A. grandis* y *S. frugiperda*. Los genes que codifican estas proteínas pueden ser insertados en plantas de algodón, produciendo una nueva generación de plantas transgénicas de gran valor para aquellas regiones severamente afectadas por el picudo del algodón. El propósito de este estudio fue evaluar la factibilidad técnica de la incorporación y desarrollo de cultivares transgénicos de algodón para el control de *A. grandis* y *S. frugiperda*. Cuatro escenarios tecnológicos de desarrollo de los cultivares transgénicos con proteínas Cry han sido propuestos; estos escenarios fueron desarrollados a partir de evidencia experimental publicada, y el impacto en la estructura de costos fue estimado con base en la información recogida durante un panel con agricultores. En consideración al nivel de control obtenido y al desarrollo tecnológico actual, se considera viable el desarrollo de materiales transgénicos

1 Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) (Cereté-Córdoba, Colombia). ORCID: 0000-0002-7520-4716.

2 Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) (Cereté-Córdoba, Colombia). ORCID: .0000-0002-6604-7333.

3 Ph. D. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) (Cereté-Córdoba, Colombia). [amartinezr@corpoica.org.co](mailto:amartinezr@corpoica.org.co). ORCID: 0000-0002-9312-842X.



expresando la proteína Cry11a12. Dadas las condiciones ambientales del Valle del Sinú, la inclusión de esta proteína reduciría los costos de manejo de plagas en más del 40 %.

**Palabras clave:** *Anthonomus grandis*; costos de producción; economía agrobiotecnológica; plagas del algodón; proteínas Cry; *Spodoptera frugiperda*.

### Abstract

*Anthonomus grandis* and *Spodoptera frugiperda* are the main cotton pests in the Colombian Caribbean, the main producer in the country. Control of *A. grandis* accounts for 20% of the production costs. Available Cry proteins in transgenic cotton cultivars are not effective for controlling the populations of these pests. However, new discovered Cry proteins exhibit a toxic effect on *A. grandis* and *S. frugiperda* under in-vitro and in-planta conditions. Genes encoding these proteins can be inserted in cotton plants producing a new generation of transgenic plants highly useful in the regions severely affected by the cotton boll weevil. The purpose of this study was to estimate the technical feasibility and challenges of developing new genetically engineered cotton varieties for controlling *A. grandis* and *S. frugiperda*. Four different technological scenarios for incorporating transgenic plants expressing Cry proteins with different pest control levels are proposed. These scenarios were built using published experimental evidence of Cry proteins and cost structure. Cost structure of cotton production was estimated with data provided by farmers. Development of transgenic cultivars expressing the Cry11a12 protein is the most cost-effective option. Considering the environmental conditions of the Sinu Valley, Cry11a12 insertion would reduce pest management costs in more than 40%.

**Keywords:** *Anthonomus grandis*; cotton pests; production costs; *Spodoptera frugiperda*; technological scenarios.

### Para citar este artículo:

Osorio-Almanza L., Burbano-Figueroa O., Martínez-Reina A. Factibilidad técnica de variedades de algodón expresando proteínas Cry tóxicas contra *Anthonomus grandis* en el Valle del Sinú, Colombia. *Ciencia y Agricultura*. 2018; 15(2): 47-60.

## I. Introducción

El algodón (*Gossypium hirsutum*) es una planta perenne de distribución cosmopolita que, generalmente, es cultivado por los agricultores como una planta anual (1). El cultivo enfrenta serias limitantes sanitarias que ocasionan pérdidas de rendimiento y producción. En Sudamérica, las principales limitantes sanitarias son el picudo del algodnero *Anthonomus grandis* y el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (2). Hasta inicios de los noventa, el desarrollo económico de Colombia estuvo íntimamente ligado al sector agrícola, como principal fuente de divisas, y el cultivo del algodón era una de las principales actividades generadoras de riqueza y empleo rural (3). Los inadecuados manejos fitosanitarios ocasionaron incrementos considerables en la presencia de las poblaciones de *A. grandis* y *S. frugiperda*; estas plagas son uno de los factores responsables en la reducción de la superficie sembrada de algodón en el país en las últimas décadas. El picudo es la plaga más virulenta del país, se considera un evento de endemia en las regiones productoras (4-6). La Región Caribe colombiana es una de las más afectadas, con la presencia de la plaga tanto en la parte seca (departamentos de la Guajira, Magdalena, Atlántico, Bolívar norte y centro, Cesar y Sucre) como en sus zonas húmedas (departamentos de Córdoba, Bolívar sur y Cesar) (2).

El departamento de Córdoba es el primer productor de algodón a nivel nacional; el 19 % de su territorio es apto para las actividades agrícolas, del cual los cultivos transitorios ocupan el 79.6 %, distribuidos en maíz, arroz y algodón (7). El cultivo de algodón ocupa aproximadamente 30.000 ha y es responsable de la generación de un significativo número de empleos directos e indirectos. El Valle del Sinú es la zona productora de algodón en Córdoba; se

encuentra bajo la influencia de la zona de convergencia intertropical, que define dos temporadas de lluvia durante el año. Los agricultores prefieren el establecimiento de los cultivos de algodón durante el segundo período de lluvias, comprendido entre los meses de septiembre y octubre (8). El Valle del Sinú se caracteriza por presentar precipitaciones entre los 1000 y los 2000 mm y temperaturas iguales o superiores a los 28 °C. La cuenca del Sinú y sus afluentes es de especial relevancia para el territorio, y, en consideración a la fertilidad de sus suelos, de gran importancia económica, especialmente, para la cadena del algodón (9).

El desarrollo de cultivos transgénicos, específicamente la inserción de los genes *cry* provenientes de *Bacillus thuringiensis* para el control de lepidópteros, coleópteros y otras plagas (10), es una de las estrategias más efectivas en el control de plaga tanto en el aspecto económico como ambiental (Tabla I). La inserción del gen *cry* en el genoma de la planta permite la producción de una proteína cristalina inocua para la planta, pero tóxica para los insectos. Este efecto provoca una reducción en la población de los insectos capaces de atacar esta planta, y, en consecuencia, una disminución del número de aplicaciones de insecticidas para su control y de los costos de producción e incrementos en el rendimiento (11). Los genes *cry* insertados en el algodón permiten el control de lepidópteros y, junto con los genes de tolerancia a herbicidas, son las principales características de los variedades de algodón transgénicas comerciales (12). Ninguna de las variedades transgénicas comerciales contiene genes de resistencia a *A. grandis* o *S. frugiperda*. Sin embargo, varias proteínas Cry exhiben actividad biológica contra estas plagas (Tabla I) y al menos una de ellas, la proteína Cry1Ia12, ha sido insertada en plantas de algodón, confiriendo resistencia parcial a estas plagas (11, 13).

**Tabla I.** Escenarios de tecnología de cultivos transgénicos con resistencia a *Anthonomus grandis* y *Spodoptera frugiperda*.

Cry proteins	Nombre Comercial	Propietario	Organismo objetivo	Referencia
<b>Escenario 1</b>				
Cry1Ac	Bollgard	Monsanto	Lepidopteros	(14)
Cry1Ac + cry2Ab	Bollgard II	Monsanto	Lepidopteros	(15)
Cry1Ac + cry1F	Widestrike	Dow Agros-ciencias	Lepidopteros	(16)
Vip3A	VipCot	Singenta	Lepidopteros	(17, 18)
<b>Escenario 2</b>				
Cry1Ia12	<i>In planta</i>		<i>A. grandis</i> y <i>S. frugiperda</i>	(19)
<b>Escenario 3</b>				
Cry10Aa	Proteína experimental	Embrapa	<i>A. grandis</i> y <i>S. frugiperda</i>	(20)
Cry8ka	Proteína experimental	Embrapa	<i>A. grandis</i> y <i>S. frugiperda</i>	(20)
Cry1Ia	Proteína experimental	Embrapa	<i>A. grandis</i> y <i>S. frugiperda</i>	(21, 22, 23)
Cry1Ba6	Proteína experimental	Embrapa	<i>A. grandis</i> y <i>S. frugiperda</i>	(23)
<b>Escenario 4</b>				
Proteína diseñada	Proteína diseñada		<i>A. grandis</i> y <i>S. frugiperda</i>	(24, 25, 26)

En este contexto, es necesario considerar alternativas técnicas y económicas que permitan disminuir las pérdidas y los crecientes costos de producción asociados al manejo de plagas, y permitir en el largo plazo la viabilidad de este cultivo. Una de las opciones técnicas por considerar es el desarrollo e incorporación en el sistema productivo de cultivos transgénicos con resistencia a *A. grandis* y *S. frugiperda*, las plagas más limitantes del cultivo. En este momento el control químico es la única opción disponible, llegando con frecuencia a ser necesario emplear hasta 15 aplicaciones por ciclo de cultivo. Además de los costos económicos, el uso masivo de insecticidas requerido para controlar la plaga tiene un enorme impacto ambiental en la región y en la salud de los trabajadores rurales dedicados a este cultivo.

Sin embargo, el desarrollo de cultivos transgénicos para control de *A. grandis* y *S. frugiperda* se encuentra en diferentes niveles de avance, y las proteínas transgénicas evaluadas experimentalmente ofrecen únicamente resistencia parcial a estas plagas (Tabla I). El propósito de este estudio es estimar el efecto en el sistema productivo del algodón en el Valle del Sinú, de la incorporación de materiales transgénicos de algodón expresando proteínas Cry con efecto tóxico sobre *A. grandis* y *S. frugiperda*. Para alcanzar este propósito, fueron

planteados los siguientes objetivos específicos: 1) desarrollar escenarios de desarrollo tecnológico para la generación de cultivos transgénicos de algodón conteniendo proteínas transgénicas activas contra *Anthonomus grandis* y *Spodoptera frugiperda*, con base en la evidencia experimental disponible, especialmente la relacionada con las toxinas Cry; y, 2) estimar el impacto en la estructura de costos de producción de la incorporación de estos nuevos materiales transgénicos.

En este enfoque, fueron propuestos cuatro escenarios de desarrollo tecnológico en los que se describen cultivos transgénicos que contienen proteínas Cry con diferentes niveles de control sobre *A. grandis* y *S. frugiperda*.

## II. Materiales y métodos

### A. Consolidación de información en taller con productores

La estructura de costos que se presenta en la Tabla II fue elaborada a partir de la información provista en encuestas sobre el sistema productivo de algodón desarrollado en el Caribe colombiano. Fueron entrevistados 45 agricultores ubicados en los municipios de Valencia, Cereté, San Pelayo, Cotorra, Loricá, Los Palmitos, Codazzi, Bosconia, La Paz,

Aguachica, San Juan y Villanueva. La estructura de costos obtenida inicialmente fue validada en un taller desarrollado con 20 agricultores a mediados del 2016, en el municipio de Cereté –Centro de Investigación Corpoica-Turipaná–. El consenso de estos agricultores permitió estimar la estructura tipo de los costos de producción basada en la optimización de las labores y la obtención de los mayores rendimientos posibles.

**Tabla II.** Costos de producción de una hectárea de algodón convencional.

Estructura de costos	Unidad	Valor unitario	Cantidad	Valor Total
<b>Actividades</b>				
<b>Costos directos</b>				\$ 4.012.900
<b>Mano de obra</b>				\$ 1.431.000
Preparación suelos	Hectárea	\$ 0	1,0	\$ 0
Siembra	Hectárea	\$ 80.000	1,0	\$ 80.000
Resiembra	Jornal	\$ 10.000	3,0	\$ 30.000
Raleo	Jornal	\$ 10.000	5,0	\$ 50.000
Control manual de malezas (1ra limpia + desbejuque)	Jornal	\$ 10.000	0,0	\$ 0
Aplicación de herbicidas bomba (2 aplicaciones)	Jornal	\$ 12.000	6,0	\$ 72.000
Primera aplicación de herbicida con máquina (Quema)	Hectárea	\$ 25.000	1,0	\$ 25.000
Aplicación insecticida para áfidos	Jornal	\$ 12.000	1,0	\$ 12.000
Aplicación insecticidas para chinche	Jornal	\$ 12.000	1,0	\$ 12.000
Aplicación insecticidas mosca blanca	Jornal	\$ 12.000	2,0	\$ 24.000
Aplicación insecticidas spodoptera	Jornal	\$ 12.000	2,0	\$ 24.000
Aplicación insecticidas picudo	Jornal	\$ 12.000	10,0	\$ 120.000
Aplicación fungicidas ramularia	Jornal	\$ 12.000	2,0	\$ 24.000
Aplicación fungicidas antracnosis	Jornal	\$ 12.000	4,0	\$ 48.000
Aplicación fungicidas alternaria	Jornal	\$ 0	0,0	\$ 0
Aplicación de fertilizantes edáficos	Jornal	\$ 10.000	6,0	\$ 60.000
Aplicación de reguladores de crecimiento	Jornal	\$ 12.000	4,0	\$ 48.000
Recolección manual	Jornal	\$ 10.000	60,0	\$ 600.000
Transporte interno	Tonelada	\$ 15.000	2,0	\$ 30.000
Cargue y descargue	Tonelada	\$ 8.000	4,0	\$ 32.000
Transporte a la desmotadora	Tonelada	\$ 40.000	2,0	\$ 80.000
Destrucción de socas	Hectárea	\$ 60.000	1,0	\$ 60.000
Otras	Jornal		0,0	\$ 0
<b>Insumos</b>				\$ 2.581.900
Semilla de algodón	Kilo	\$ 15.000	15,0	\$ 735.000
Herbicida glifosato (quema-presiembra)	Litro	\$ 12.000	5,0	\$ 60.000
Herbicida Finale (glifosinato de amonio)	litro	\$ 45.000	4,0	\$ 48.000
Herbicida Diuron	Kilo	\$ 45.000	0,0	\$ 0
Fertilizante 10-30-10	Litro	\$ 0	0,0	\$ 0
Fertilizante UREA	Bulto/50kg	\$ 70.000	5,0	\$ 350.000

Fertilizante DAP	Bulto	\$ 0	0,0	\$ 0
Fertilizante KCL	Bulto/50 kg	\$ 70.000	2,0	\$ 140.000
Elementos menores	Bulto/20 kg	\$ 100.000	0,5	\$ 50.000
Fertilización foliar	Litro	\$ 30.000	1,5	\$ 45.000
Insecticida Cypermetrina	Litro	\$ 17.000	2,0	\$ 34.000
Insecticida Proteus -picudo	Litro	\$ 108.000	0,8	\$ 86.400
Insecticida Fipronil -picudo	Litro	\$ 90.000	3,3	\$ 297.000
Insecticida Proclain -Spodoptera	Kilo	\$ 300.000	0,4	\$ 120.000
Insecticida Epingle -Mosca blanca	Litro	\$ 280.000	0,5	\$ 140.000
Fungicida Amistar top	Litro	\$ 180.000	0,5	\$ 90.000
Fungicida Benlate	Kg	\$ 45.000	0,5	\$ 22.500
Fungicida Carbendazym	Litro	\$ 30.000	1,0	\$ 30.000
Pegante - Natural Oil	Litro	\$ 18.000	5,0	\$ 90.000
Desfoliante Dropp	Kilo	\$ 700.000	0	\$ 70.000
Regulador de crecimiento PIX	Litro	\$ 120.000	1	\$ 120.000
Lona y cordeles	Unidad	\$ 9.000	6	\$ 54.000
<b>Costos indirectos</b>				\$ 1.578.448
Arriendo de terreno	Hectárea	\$ 400.000	1,00	\$ 400.000
Asistencia técnica	Hectárea	\$ 90.000	1,00	\$ 90.000
Desmote	Toneladas	\$ 170.000	2,00	\$ 340.000
Aporte Fondo de Fomento Fibra	Tonelada	\$ 5.045.000	0,70	\$ 17.658
Aporte Fondo de Fomento Semilla	Tonelada	\$ 500.000	1,00	\$ 5.000
Aporte Conalgodon	Tonelada	\$ 35.000	0,70	\$ 24.500
Comercialización	Tonelada	\$ 150.000	2,00	\$ 300.000
Costos Financieros (Como prop. de costos directos)		\$ 0	0,00	\$ 321.032
Imprevistos		\$ 0	0,00	\$ 80.258
Subtotal costos indirectos		\$ 0	0	\$ 801.290
<b>Total costos</b>				\$ 5.591.348
Rendimiento algodón semilla t/ha	Tonelada		2	
Rendimiento algodón fibra t/ha	Tonelada	\$ 5.045.000	0,7	\$ 4.031.500
Ingreso por algodón semilla	Tonelada	\$ 500.000	1	\$ 500.000
Ingreso por algodón fibra	Tonelada	\$ 5.045.000	0,7	\$ 3.531.500
<b>Ingreso total</b>				\$ 4.031.500
Costo Unitario tonelada/algodón Fibra	Tonelada			\$ 7.487.639
Precio tonelada algodón fibra				\$ 5.045.000
Beneficio/Costo				0,90
Ingreso Neto				-\$ 1.559.848
Rentabilidad				-27,90
Punto de equilibrio				1,11
<b>Costos variables</b>				
Costos manejo plagas				\$ 797.400
Costos manejo enfermedades				\$ 214.500

## B. Diseño y análisis de escenarios

Los escenarios para la evaluación de daño por plagas (*A. grandis* y *S. frugiperda*) en el cultivo de algodón se diseñaron teniendo como base principal el máximo daño que pueden llegar a ocasionar las plagas en el cultivo. Basado en el número de aplicaciones de cada plaga, la proporción de daño provocado por *A. grandis* es al menos 6 veces mayor que el ocasionado por *S. frugiperda*. Tal relación se ha mantenido constante para todos los escenarios, con el control de *A. grandis* como el objeto principal de análisis. En los escenarios se ha asumido un rendimiento fijo de 2 t fibra ha<sup>-1</sup>, que es el máximo rendimiento alcanzado en la región, y como cultivar-tipo, una variedad transgénica con genes de resistencia a lepidópteros (variaciones de Cry1 y Cry2) y de tolerancia a herbicidas.

En el Valle del Sinú, el no control del picudo durante una temporada de siembra estándar lleva a pérdida total de la productividad, lo que obliga a los agricultores a hacer aplicaciones semanales de insecticidas. Datos de campo revelan una acumulación lineal de individuos de picudo una vez que la producción de botones ha comenzado; bajo esta consideración, se utilizó una relación lineal entre las aplicaciones de insecticidas, la mortalidad y el nivel daño (Tabla III). Tal relación se extrapoló al efecto de las proteínas Cry, aunque su carácter residual provoca mayor número de muertes en las generaciones posteriores. Los escenarios dos a cuatro se crearon con base en la información reportada para expresión *in-planta* de la proteína Cry11a12, una mortalidad del 60 % para *A. grandis* y del 40 % para *S. frugiperda*. Los escenarios se describen a continuación y en la Tabla III.

**1) Escenario 1.** Este escenario representa la situación actual del cultivo, en la cual, sin aplicación de insecticidas (5), el tamaño posible de la población de *A. grandis* alcanza el máximo, provocando pérdida total del cultivo. Su control requiere por lo

menos 10 aplicaciones de insecticidas durante el ciclo total del cultivo para el manejo de *A. grandis*, y dos aplicaciones para *S. frugiperda*. Algunos agricultores reportan haber llegado a usar entre 15 y 20 aplicaciones para control de *A. grandis*. Las proteínas transgénicas disponibles en el mercado no tienen efecto alguno sobre *A. grandis*, y un efecto parcial sobre *S. frugiperda*, limitándose al control de otros lepidópteros (14-18).

**2) Escenario 2.** En este se logra realizar un control significativo del daño generado por las plagas mencionadas, gracias a la inserción del gen Cry11a12, provocando mortalidad y efectos detrimentales en las larvas de *S. frugiperda* y *A. grandis* (11). Esta proteína ha sido evaluada *in planta* sin que se cuente con datos experimentales en pruebas de campo abierto.

**3) Escenario 3.** Este escenario considera que un incremento en la resistencia parcial a estas plagas requiere fundamentalmente la inserción en la planta de una de estas tres proteínas: Cry11a, Cry1Ba6 y Cry8Ka. Estas manifiestan tener una composición similar al contener el gen *cry* y una alta toxicidad en las plagas objeto de estudio, cuando fueron usadas como proteínas de origen bacteriano (19-24). Esta nueva generación de transgénicos resistentes al picudo contendría apiladas dos proteínas Cry.

**4) Escenario 4.** El último escenario hipotético considera un desarrollo tecnológico sin ninguna evidencia experimental disponible para *A. grandis*. En este escenario, el daño causado por el picudo (*A. grandis*) es reducido en su totalidad, y el del gusano cogollero (*S. frugiperda*) en una cuarta parte, aproximadamente. Esto significa un uso mínimo de insecticidas y el más bajo costo posible de manejo de plagas (Tabla I). Este escenario solo es posible creando una proteína sintética de alta especificidad para *A. grandis* y con suficiente efecto tóxico contra la población de *S. frugiperda* (25-27).

**Tabla III.** Descripción de los escenarios con incorporación de transgenes con diferentes niveles de control de *Anthonomus grandis* y *Spodoptera*

Parámetros	Escenarios			
	Esc 1	Esc 2*	Esc 3	Esc 4
<b>Rendimiento (t/ha)</b>	2	2	2	2
<b>Supervivencia (%)</b>				
<i>Anthonomus grandis</i>	100.00	40.00	20.00	0.00
<i>Spodoptera frugiperda</i>	100.00	60.00	46.64	33.30
<b>Mortalidad (%)</b>				
<i>Anthonomus grandis</i>	0.00	60.00	80.00	100.00
<i>Spodoptera frugiperda</i>	0.00	40.00	53.36	66.70
<b>Daño esperado (%)</b>				
<i>Anthonomus grandis</i>	100.00	40.00	20.00	0.00
<i>Spodoptera frugiperda</i>	100.00	60.00	46.64	33.30
Total**	100.00	43.33	24.44	5.50
<b>Número de aplicaciones</b>				
<i>Anthonomus grandis</i>	10.00	4.00	2.00	0.00
<i>Spodoptera frugiperda</i>	2.00	1.20	0.93	0.66
Total	12.00	5.20	2.93	0.66
* El escenario 2 describe la actual tecnología disponible para el control del picudo, aún no liberada comercialmente. Este escenario corresponde al control ejercido por la incorporación del gen Cry1Ia12 (de Oliveira et al., 2016).				

\*\* Daño total estimado en proporción al número de aplicaciones usadas para controlar cada una de las plagas. Las aplicaciones están programadas por los agricultores con la intención de limitar el tamaño de la población de los insectos por debajo del umbral de daño económico y así minimizar el impacto sobre el rendimiento.

Una variante de la proteína Cry2A fue modificada sintéticamente para incrementar su actividad entomocida (26); se denomina Cry2Aa (D42/K63F/K64P) y fue obtenida por eliminación de 42 residuos de aminoácidos del extremo N-terminal del péptido seguido por el reemplazo de residuos Lys por aminoácidos no polares en la región putativa transmembranal, incluyendo la introducción de Pro. Estos cambios incrementan la toxicidad de la proteína de 4.1 a 6.6 veces contra tres lepidópteros plagas. Cry2Aa (D42/K63F/K64P) representa una nueva generación de proteínas transgénicas modificadas sintéticamente con alta actividad tóxica específica, lo que permite que, aunque sea expresada en bajos niveles dentro de la planta, estos sean efectivos para el control del insecto objetivo. La incorporación de esta proteína en plantas de tabaco otorga resistencia completa contra *Spodopte-*

*ra littoralis* y niveles significativos de resistencia a *Helicoverpa almigera*, para los cuales la proteína original Cry2A no tiene efecto alguno (27).

## IV. Resultados y discusión

### A. Costos de producción para el cultivo del algodón

La tecnología comercializada por Monsanto como Bollgard II® en el caso del Valle del Sinú tiene un valor por kg de semilla de \$49 000 COP. Estas semillas transgénicas tienen un costo por hectárea de \$735 000 COP, mientras que en sus contrapartes convencionales es de \$225 000 COP, una diferencia de \$510 000 COP por hectárea. Las aplicaciones de agroquímicos representan el 47 % del total de los costos por hectárea, con \$2 565 900 COP.



Dentro de las plagas que afectan el cultivo del algodón y que son controladas por insecticidas, el picudo del algodonoero es la más importante; su control representa el mayor valor entre los insecticidas usados, con un valor de \$503 400 COP del total del costo de insecticidas, que en este caso son \$869 400 COP. Los fertilizantes, por su parte, son el segundo mayor rubro con participación en los costos de insumos, por detrás de los insecticidas, con \$550 000 COP. El fertilizante urea representa el 64 % del total de los costos de fertilizantes, con \$350 000 COP; seguido del control de malezas, con \$427 000 COP, y de enfermedades, con \$214 500 COP (Tabla II).

Los altos costos totales en que se incurre en el cultivo de algodón están influenciados, principalmente, por el incremento en el uso de insumos para el control de plagas, enfermedades y malezas, siendo esta una de las razones por la que gran parte de los agricultores usan semilla genéticamente modificada. La resistencia a plagas y la tolerancia a herbicidas facilitan el manejo del cultivo y disminuyen los costos al reducir aplicaciones y mano de obra.

### **B. Escenarios tecnológicos para el control del picudo (*A. grandis*) y el gusano cogollero (*S. frugiperda*) usando plantas genéticamente modificadas para expresar proteínas Cry activas contra estas plagas**

Una vez establecida la estructura de costos para el cultivo de algodón en el Valle del Sinú, se evaluó el efecto de incorporar genes transgénicos cry (plantas Bt) con actividad sobre *A. grandis* y *S. frugiperda*. La eliminación de los riesgos asociados al mal manejo de plagas permitiría alcanzar el máximo rendimiento actual, establecido en 2 t fibra/ha, de manera rutinaria y, así, contribuir al cierre de la actual brecha de rendimiento. Los agricultores de algodón en el Valle del Sinú son en su mayoría pequeños y no propietarios de la tierra, y, en consecuencia, se encuentran expuestos a iliquidez;

en estas condiciones, cada decisión de manejo del cultivo no está solo condicionada a valoración técnica, sino a la disponibilidad de dinero para llevarla a cabo en los tiempos propuestos. Estas condiciones son extrapolables a las decisiones de desarrollar o no una aplicación para controlar *A. grandis* o *S. frugiperda*, y en múltiples ocasiones la decisión es excluyente con relación a otras decisiones de manejo del cultivo.

Cuatro escenarios para la incorporación de estas variedades transgénicas fueron evaluados con base en los siguientes parámetros: rendimiento, supervivencia, mortalidad, daño esperado y número de aplicaciones. El costo del manejo de plagas, en jornales e insumos agrícolas (insecticidas) empleados en el cultivo, fue agregado con el propósito de obtener los costos totales (total manejo de plagas y costo total de una hectárea de algodón) y el porcentaje de participación (costos para manejo de plagas y costos totales). Es evidente una diferenciación de costos en los cuatro escenarios (Tabla IV). En resumen, en el primer escenario la supervivencia de las dos plagas es del 100 %, siendo necesario realizar hasta 12 aplicaciones de insecticidas para evitar pérdidas de rendimiento en el cultivo. El segundo escenario describe el desarrollo de transgénicos expresando la proteína Cry11a12, que limita la supervivencia de las plagas al 40 % y 60 %, respectivamente para picudo y gusano cogollero; las aplicaciones en este escenario se reducen a 5.20 durante la época de cultivo. En el tercer escenario, la incorporación de varias proteínas Cry tóxicas provoca que la supervivencia del picudo se reduzca considerablemente, hasta a un 20 %, y la del gusano cogollero a un 46.64 %, con un número de aplicaciones alrededor de 2.93. El cuarto escenario planteado requiere del diseño de una nueva hipotética proteína Cry que sea capaz de controlar totalmente el picudo y disminuir el daño por gusano cogollero a un 33.30 %, siendo necesarias una sola aplicación (0.66) (Tabla III).

**Tabla IV.** Descripción de los costos para el manejo del *Anthonomus grandis* y *Spodoptera* en diferentes niveles de control provistos por materiales transgénicos de algodón.

Parámetros	Escenarios			
	Esc 1	Esc 2	Esc 3	Esc 4
<b>Daño esperado</b>				
<i>A. grandis</i>	<b>100</b>	<b>40</b>	<b>20</b>	<b>0</b>
<i>S. frugiperda</i>	<b>100</b>	<b>60</b>	<b>47</b>	<b>33</b>
<b>Valor jornal para manejo de plagas (\$)</b>				
<i>Aplicación para el manejo de plagas (jornales)</i>	\$48,000	\$48,000	\$48,000	\$48,000
<i>Aplicación para el manejo de Anthonomus (jornales)</i>	\$120,000	\$48,000	\$24,000	\$0
<i>Aplicación para el manejo de Spodoptera (jornales)</i>	\$24,000	\$14,400	\$6,768	\$2,233
<b>Valor insecticida (\$)</b>				
<i>Insecticida Cypermtrina - Anthonomus y Spodoptera</i>	\$34,000	\$20,400	\$9,588	\$3,164
<i>Insecticida Proteus - Anthonomus</i>	\$86,400	\$34,560	\$6,912	\$0
<i>Insecticida Fipronil - Anthonomus</i>	\$297,000	\$118,800	\$23,760	\$0
<i>Insecticida Proclaim - Spodoptera</i>	\$120,000	\$72,000	\$33,840	\$11,167
<i>Insecticida Epingle - Bemisia tabaci</i>	\$140,000	\$140,000	\$140,000	\$140,000
<b>Costos totales (\$)</b>				
<i>Total manejo de plagas (\$)</i>	\$869,400	\$496,160	\$292,868	\$204,565
<i>Costo total de 1 ha de algodón</i>	\$5,591,347	\$5,591,347	\$5,591,347	\$5,591,347
<b>Participación (%)</b>				
<i>% de participación sobre costos para manejo de plagas</i>	100.00%	57.07%	33.69%	23.53%
<i>% de participación sobre costos totales</i>	15.55%	8.87%	5.24%	3.66%
* La evaluación de costos para el insecticida Cypermtrina está basada en los escenarios diseñados para <i>Spodoptera</i> , puesto que es la plaga más difícil de controlar aun en materiales que incorporan resistencia específica a esta plaga.				

El segundo escenario plantea la incorporación en el sistema de cultivo de algodón de una nueva variedad transgénica Bt, que expresa la proteína Cry1Ia12. En bioensayos con botones florales provenientes de plantas de algodón expresando la proteína Cry1Ia12 se ha observado una mortalidad del 60 % para *A. grandis*, y en bioensayos con hojas, una mortalidad del 40 % para *S. frugiperda* (28). Solo considerando la mortalidad provocada por la expresión de esta proteína en las plantas de algodón, la supervivencia y el porcentaje de daño (comparado con el nivel actual) esperado por *A. grandis* sería del 40 %, y por *S. frugiperda*, del 60 %, respectivamente. Bajo esas consideraciones, 5.20 aplicaciones serían necesarias para mantener los actuales niveles de daño de las plagas mencionadas. El daño final y la supervivencia de las siguientes generaciones de

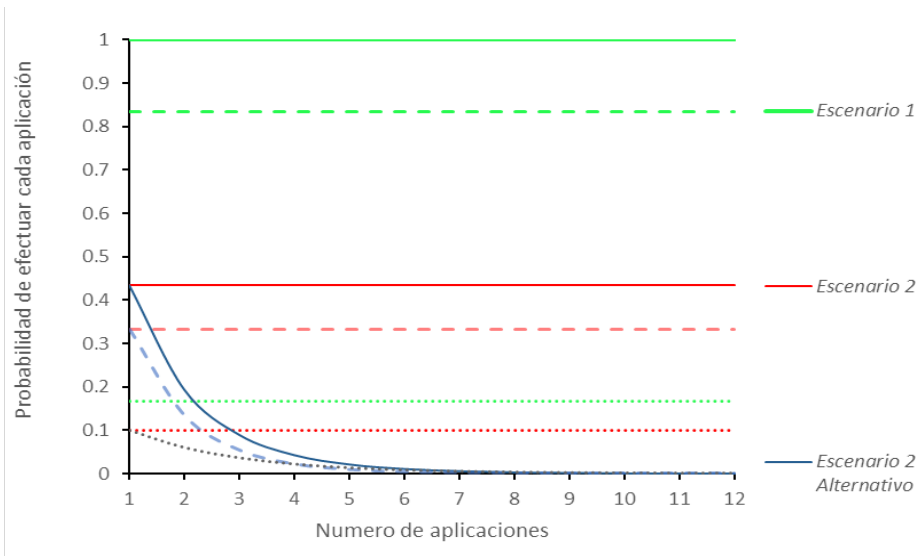
estas plagas en el cultivo pueden ser aún menores a los valores de supervivencia descritos experimentalmente. Los individuos adultos alimentados con plantas transgénicas son significativamente mucho más pequeños y más débiles que los alimentados con material convencional (11, 13). Este segundo escenario describe una tecnología que se encuentra disponible y validada técnicamente para el control del picudo *in-planta*, pero que aún no ha sido validada en pruebas de campo ni liberada en el mercado. En este escenario, los costos para el manejo de plagas se reducen en \$496 160 COP (un 57.07 %), con un porcentaje de participación sobre los costos totales del 8.87 %. Este escenario ha sido diseñado considerando una presión constante de las poblaciones de *A. grandis* y *S. frugiperda* provenientes de hospederos alternos.

Sin embargo, existe un segundo escenario alternativo, si consideramos que el algodón es el principal hospedero para estas plagas; tal afirmación es cierta para las poblaciones de *A. grandis* que sufren de diapausa en condiciones adversas, como en este caso, ausencia de una fuente apropiada de alimento; en el caso de *S. frugiperda*, el algodón no representa la única fuente de alimento, pero es el preferido si el cultivo vuelve a predominar en la región, como hace un par de décadas. En este contexto, la población original migra por completo hacia los campos de algodón al inicio de la temporada y es incapaz

de seguirse multiplicando eficientemente en las nuevas variedades Bt (Tabla V). La población de insectos que emerge de estos cultivos es cada vez más pequeña, hasta finalmente ser controlada por aplicaciones tempranas de insecticidas o el daño económico provocado ignorado (Figura 1). Bajo estas consideraciones, el escenario dos ofrece una reducción considerable en los costos de manejo de plagas, mientras la tecnología ya se encuentra validada experimentalmente y puede estar disponible en el mercado en el corto plazo.

**Tabla V.** Descripción de un escenario 2 alternativo, donde las poblaciones de *Anthonomus grandis* y *Spodoptera frugiperda* dependen exclusivamente del algodón o el algodón representa el cultivo predominante en la región. Un escenario de dependencia exclusiva del algodón es el aceptado actualmente para *A. grandis*.

Número de aplicaciones en el ciclo completo del cultivo	Escenario 1	Escenario 2	Escenario 2 Alternativo
<i>Anthonomus grandis</i>	10.00	4.00	0.56
<i>Spodoptera frugiperda</i>	2.00	1.20	0.25
Total	12.00	5.20	0.81



**Fig. 1.** Probabilidades de efectuar aplicaciones de insecticidas para el control de *Anthonomus grandis* y *Spodoptera frugiperda* en cultivos de algodón.

\*Variedades sin resistencia transgénica (Escenario 1), variedades con incorporación del gen Cry11a12 enfrentando presión constante de las poblaciones de *A. grandis* y *S. frugiperda* provenientes de hospederos distintos al algodón (Escenario 2) o poblaciones de estas plagas dependiendo exclusivamente del algodón (Escenario 2 Alternativo). Este último escenario es considerado el más probable para *A. grandis*.

Los escenarios tres y cuatro requieren una considerable inversión, y aunque técnicamente son factibles no existe evidencia experimental de su posible desarrollo en el corto plazo.

En el tercer escenario planteado sería necesario emplear variedades que exhiben resistencia adicional, incorporando proteínas adicionales tóxicas a estas plagas. Esta variedad contendrá la proteína Cry11a12 más una de las siguientes proteínas candidato: Cry11a, Cry1Ba6, Cry8Ka y Cry10Aa. En este escenario, varias configuraciones de plantas Bt son posibles. Las plantas Bt con la tecnología Bollgard II® (Cry1Ac + Cry2Ab) son efectivas en el Caribe colombiano para el control del gusano rosado colombiano (*Pectinophora gossypiella*) y de *Heliothis*. El gusano rosado colombiano, prácticamente, ha desaparecido de la región como efecto de la siembra predominante de materiales transgénicos Bollgard II®, y ni siquiera es una amenaza para los cultivos convencionales (datos sin publicar). En consideración al control ejercido por esta tecnología y al efecto específico de cada proteína, la alternativa de planta más obvia contendría un apilamiento de múltiples genes transgénicos: *cry1Ac* + *cry2Ab* + *cry11a12* + Candidato *cry* complementario a *cry11a12* y uno o dos genes de tolerancia a herbicidas. Una solución como esta ha sido previamente implementada comercialmente en el cultivo de maíz. Una variedad de maíz expresando múltiples proteínas transgénicas fue liberada en el 2007 como una solución a múltiples problemas de plagas y control de malezas. Esta variedad contiene los genes: *cry34Ab1* + *cry35Ab1* + *cry3Bb1* modificada para control de lepidoptera + *cry1F* + *cry1A.105* + *cry2Ab2* más 2 genes de tolerancia a herbicidas (glifosato y glufosinato) (29).

Una solución óptima, en términos de expresión de proteínas, es disminuir al máximo el número de proteínas necesarias para el control de las plagas objetivo. En el caso de las proteínas Cry1Ac + Cry2Ab, esta última ofrece una toxicidad a insectos mucho menor que la Cry1Ac, aunque su rango de insectos objetivo sea mayor (26). La proteína Cry2Ab podría ser descartada si la proteína Cry, complementaria a Cry11a12, puede ejercer un efecto amplio sobre otras plagas objetivo. En esta

variedad con tres genes Cry apilados estos tendrán los siguientes objetivos: Cry1Ac ejerce un efecto principal de control sobre gusano rosado y *Heliothis*, Cry11a12 controla *A. grandis* y *S. frugiperda*, mientras una tercera proteína provee de resistencia adicional general y con baja toxicidad sobre *A. grandis*, *S. frugiperda*, gusano rosado y *Heliothis*. La combinación de proteínas Cry usando este enfoque, tal como la tecnología Bollgard II®, ha demostrado ser efectiva en el control de las plagas objetivo y una estrategia adecuada para limitar el surgimiento de resistencia a las proteínas Cry. En un ejemplo específico a las plagas aquí analizadas, previamente se ha demostrado que los individuos de gusano rosado resistentes a Cry1Ac no son resistentes a Cry2Ab y que la probabilidad de desarrollar resistencia combinada es bastante baja (30).

El último escenario planteado, o escenario ideal, está diseñado bajo la consideración de usar una variedad con resistencia completa a *A. grandis*, logrando eliminar por completo la presencia y supervivencia de esta plaga y el daño asociado. En el momento no existe ninguna evidencia experimental de que esto sea posible o de que se están desarrollando trabajos de investigación para alcanzarlo (Tabla IV).

## V. Conclusión y recomendaciones

En el Valle del Sinú, el manejo de las principales plagas del cultivo representa alrededor del 15 % de los costos totales de producción. Cuatro escenarios de desarrollo tecnológico fueron considerados con base en la evidencia experimental disponible de proteínas Cry.

El escenario dos describe el desarrollo tecnológico más avanzado con el gen *cry11a12* insertado en plantas. Este escenario, el más probable de todos, reduciría los costos de manejo de plagas a cerca de la mitad del valor actual, y los costos totales en un 7 %. Sin embargo, este escenario requiere de las siguientes medidas que faciliten su implementación: a) la evaluación en ensayos de campo de los niveles de daño observados bajo condiciones controladas, b) el desarrollo de estrategias de refugios y control químico complementarias que garanticen el control efectivo de estas plagas y eviten el sur-

gimiento de resistencia a la proteína Cry11a12, c) la incorporación de los nuevos genes transgénicos en variedades regionales y d) la disponibilidad de semilla en el mercado.

Finalmente, es necesario clarificar algunos problemas de pasadas introducciones de materiales transgénicos. Los reportes de los agricultores coinciden en que la introducción en el Valle del Sinú de variedades con el gen *cry11a12* no incrementó los rendimientos, sino que los disminuyó, especialmente en los primeros años. Los problemas no estaban asociados a la tecnología transgénica *per se*, sino a los materiales vegetales en los cuales los genes se encontraban insertados. Las variedades transgénicas previamente incorporadas en el Valle del Sinú, que es una región tropical, son genotipos de algodón de climas secos subtropicales que fueron plantadas allí durante la estación húmeda. En este caso, la incorporación de los genes transgénicos en variedades regionales permitiría tener lo mejor de ambos mundos: una tecnología moderna para controlar *A. grandis* y la genética de materiales adaptados al trópico húmedo.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con fondos del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) (C07365. Desarrollo de estudio de prefactibilidad técnico-económica para la producción de variedades transgénicas con tolerancia al picudo del algodón) y el apoyo logístico del Centro de Investigación Turipaná, y de la Red de Cultivos Transitorios y Agroindustriales - Corporación Colombiana de Investigaciones Agropecuarias (CORPOICA).

## Referencias

- (1) Lange D., Moriya K. Experiencias en Paraguay. El algodón en la agricultura de conservación de los pequeños agricultores. Asunción, Paraguay: FAO - GTZ; 2004.
- (2) Nãñez LC. Manejo fitosanitario del cultivo del algodón (*Gossypium Hirsutum*). Bogotá: ICA - MADR; 2012.
- (3) Perfetti JJ., Balcázar Á., Hernández A., Leibovich J. Políticas para el desarrollo de la agricultura en Colombia. Bogotá, Colombia: Fedesarrollo; 2013.
- (4) Rendon F., Cardona C., Revelo R. Entomología del algodón. Bases técnicas para el cultivo del algodón en Colombia. *Federación Nacional de Cafeteros*; 1978: 259-376, 1978.
- (5) Chegwin J. Valoración económica de la implementación de tecnología transgénica en el cultivo de algodón versus la tecnología convencional para el departamento de Córdoba. Tesis de grado. Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia, 2016.
- (6) Negrete Barón FM., Morales Angulo JG., Martínez Ramos LF. Buenas prácticas agrícolas para el cultivo de algodón en el departamento de Córdoba. Boletín técnico. Montería, Córdoba, 2009.
- (7) Departamento Nacional de Planeación. Agenda interna para la productividad y la competitividad. 2007.
- (8) Espinal CF., Martínez Covalada H., Pinzón Ruíz N., Barrios Urrutia C. La cadena de algodón en Colombia: una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Banco de la República. Bogotá, 2008. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/handle/11348/6113>.
- (9) De La Hoz JV. La economía del departamento de Córdoba: ganadería y minería como sectores clave. Banco de la República. Centro de Estudios Económicos Regionales, Bogotá, 2004.
- (10) Bravo A., Soberón M. How to cope with insect resistance to Bt toxins?. *Trends Biotechnol*; 2008; 26 (10): 573-579. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.06.005>.
- (11) De Oliveira RS., Oliveira-Neto OB., Moura HFN., de Macedo LLP., Arraes FBM., Lucena WA., et al. Transgenic Cotton Plants Expressing Cry11a12 Toxin Confer Resistance to Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*) and Cotton Boll Weevil (*Anthonomus grandis*). *Front Plant Sci*; 2016; 19 (7): 165. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00165>.
- (12) James C. ISAAA Briefs No. 49: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, Ithaca, NY; 2014.
- (13) Ribeiro TP., Arraes FBM., Lourenço-Tessutti IT., Silva MS., Lisei-de-Sá ME., Lucena WA., et al. Transgenic cotton expressing Cry10Aa toxin confers high resistance to the cotton boll weevil. *Plant Biotechnol J*; 2017; 15 (8): 997-1009. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbi.12694>.
- (14) Olsen KM., Daly JC., Holt HE., Finnegan EJ. Season-long variation in expression of Cry1Ac gene and efficacy of *Bacillus thuringiensis* toxin in transgenic cotton against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*; 2005; 98(3): 1007-1017. DOI: <https://doi.org/10.1603/0022-0493-98.3.1007>.
- (15) Sivasupramaniam S., Moar WJ., Ruschke LG., Osborn JA., Jiang C., Sebaugh JL., et al. Toxicity and characterization of cotton expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry2Ab2 proteins for control of lepidopteran pests. *Journal of Economic Entomology*; 2008; 101(2): 546-554. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/101.2.546>.
- (16) Adamczyk JJ., Gore J. Laboratory and field performance of cotton containing Cry1ac, Cry1f, and both Cry1ac and Cry1f (widestrike®) against beet armyworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*; 2004; 87(4): 427-432. DOI: [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2004\)087\[0427:LAFPOC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2004)087[0427:LAFPOC]2.0.CO;2).
- (17) Ali MI., Luttrell RG. Susceptibility of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) to Vip3A insecticidal

- protein expressed in VipCot™ cotton. *Journal of Invertebrate Pathology*; 2011; 108 (2): 76-84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2011.06.013>.
- (18) Bommireddy PL., Leonard BR. Survivorship of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* on Cotton Plant Structures Expressing a *Bacillus thuringiensis*. *Vegetative Insecticidal Protein*; 2008; 101 (4):1244-1252
- (19) De Souza Aguiar RW., Martins ES., Ribeiro BM., Monnerat RG. Cry10Aa protein is highly toxic to *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), an important insect pest in Brazilian cotton crop fields. *Bt Research*; 2012; 3 (1).
- (20) Oliveira GR., Silva MC., Lucena WA., Nakasu EY., Firmino AA., Beneventi MA., et al. Improving Cry8Ka toxin activity towards the cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*). *BMC biotechnology*; 2011; 11 (1): 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/1472-6750-11-85>.
- (21) Grossi-de-Sa MF., Quezado de Magalhaes M., Silva MS., Silva SMB., Dias SC., Nakasu EYT., et al. Susceptibility of *Anthonomus grandis* (cotton boll weevil) and *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm) to a cry11a-type toxin from a Brazilian *Bacillus thuringiensis* strain. *J Biochem Mol Biol*; 2007; 40(5): 773-782. DOI: <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2007.40.5.773>.
- (22) Martins ES., Aguiar RWDS., Martins NF., Melatti VM., Falcão R., Gomes ACMM., et al. Recombinant Cry11a protein is highly toxic to cotton boll weevil (*Anthonomus grandis* Boheman) and fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *J Appl Microbiol*; 2008; 104 (5): 1363-1371. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03665.x>.
- (23) Martins ES., Monnerat RG., Queiroz PR., Dumas VF., Braz SV., de Souza Aguiar RW., et al. Midgut GPI-anchored proteins with alkaline phosphatase activity from the cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*) are putative receptors for the Cry1B protein of *Bacillus thuringiensis*. *Insect Biochem Mol Biol*; 2010; 40 (2): 138-145. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2010.01.005>.
- (24) Silva CR., Monnerat R., Lima LM., Martins ÉS., Melo Filho PA., Pinheiro MP., et al. Stable integration and expression of a cry11a gene conferring resistance to fall armyworm and boll weevil in cotton plants. *Pest Manag Sci*; 2016; 72 (8): 1549-1557. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4184>.
- (25) Deist BR., Rausch MA., Fernandez-Luna MT., Adang MJ., Bonning BC. Bt toxin modification for enhanced efficacy. *Toxins (Basel)*; 2014; 6 (10): 3005-3027. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins6103005>.
- (26) Mandal CC., Gayen S., Basu A., Ghosh KS., Dasgupta S., Maiti MK., et al. Prediction-based protein engineering of domain I of Cry2A entomocidal toxin of *Bacillus thuringiensis* for the enhancement of toxicity against lepidopteran insects. *Protein Eng Des Sel*; 2007; 20 (12): 599-606. DOI: <https://doi.org/10.1093/protein/gzm058>.
- (27) Gayen S., Mandal CC., Samanta MK., Dey A., Sen SK. Expression of an engineered synthetic cry2Aa (D42/K63F/K64P) gene of *Bacillus thuringiensis* in marker free transgenic tobacco facilitated full-protection from cotton leaf worm (*S. littoralis*) at very low concentration. *World J Microbiol Biotechnol*; 2016; 32 (4): 62. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2013-8>.
- (28) Oliveira MAC., Duarte JB., Morello CL., Suassuna ND., Oliveira AB. Mixed inheritance in the genetic control of ramulosis (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*) resistance in cotton. *Genet Mol Res*; 2016; 15(3). DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr.15038667>.
- (29) Gatehouse JA. Biotechnological prospects for engineering insect-resistant plants. *Plant Physiol*; 2008; 146 (3): 881-887. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.107.111096>.
- (30) Tabashnik BE., Dennehy TJ., Sims MA., Larkin K., Head GP., Moar WJ., et al. Control of resistant pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) by transgenic cotton that produces *Bacillus thuringiensis* toxin Cry2Ab. *Appl Environ Microbiol*; 2002; 68 (8): 3790-3794. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3790-3794.2002>.