



**COECYTJAL**  
Consejo Estatal de Ciencia  
y Tecnología de Jalisco

# TÓPICOS DE HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA

Topics of Biotechnological Tools for Agricultural Development



# Tópicos de Herramientas Biotecnológicas para el Desarrollo Agrícola

## Topics of Biotechnological Tools for Agricultural Development

### EDITOR

José Juvencio Castañeda Nava

### AUTORES

Janet María León Morales

Soledad García-Morales

Antonia Gutiérrez Mora

José Juvencio Castañeda-Nava

Prasad Rout Nutan

José Manuel Rodríguez Domínguez

Julio A. Massange Sánchez

Rodrigo Barba González

Jhony Navat Enriquez Vara

Gabriel Rincón Enríquez



## AGRADECIMIENTOS

El libro “Tópicos de Herramientas Biotecnológicas para el Desarrollo Agrícola” fue apoyado por el programa 2020 Programa de Difusión y Divulgación de la Ciencia, Tecnología e Innovación (DyD) del Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología de Jalisco (COECYTJAL).

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Laboratorio Nacional PlanTECC por el apoyo económico otorgado en el proyecto “Mantenimiento de la infraestructura del Laboratorio Nacional PlanTECC” con número 315918 en el año 2021.

“Tópicos de Herramientas Biotecnológicas para el Desarrollo Agrícola”

© Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.

Av. Normalistas # 800

Col. Colinas de la Normal

C.P. 44270

Guadalajara, Jalisco, México.

[www.ciatej.mx](http://www.ciatej.mx)

Año de edición 2021

Primera edición impresa 2021

Número Internacional Normalizado del Libro impreso (ISBN): 978-607-8734-32-0

Número Internacional Normalizado del Libro digital (ISBN): 978-607-8734-35-1

Fotografía de la Portada: José Juvencio Castañeda-Nava

Diseño de portada: Karen Elizabeth Pérez Beltrán

# Capítulo IX

## Control Biológico de Plagas con Microorganismos Entomopatógenos

### Biological Control of Insect Pest by Entomopathogenic Microorganisms

Jhony Navat Enriquez Vara<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>CONACYT- Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Camino Arenero 1227, El Bajío, Zapopan, Jalisco, México, CP 45019. \*Autor de correspondencia: jenriquez@ciatej.mx

#### Introducción

La producción de alimentos en el siglo pasado y en el presente ha sido intensiva debido principalmente al aumento de la población. Para mantener o en su caso aumentar los rendimientos de los cultivos agrícolas se ha requerido del uso de insecticidas. En la producción agrícola la pérdida directa del rendimiento de los cultivos es por fitopatógenos, insectos y malezas que representa del 20 al 40 % de la productividad, y en parte los pesticidas han ayudado a mantener los rendimientos de los principales cultivos [1]. Sin embargo, el uso excesivo de los insecticidas ha conducido a un daño considerable al medio ambiente, pérdida de la biodiversidad, resistencia de los insectos a los principales ingredientes activos de los plaguicidas, aparición de nuevas plagas, contaminación de los suministros de agua dulce, así como daños a la salud de los trabajadores y consumidores de los productos agrícolas [2, 3].

Para revertir las desventajas que tiene el uso inadecuado de los insecticidas, se han desarrollado alternativas amigables con el medio ambiente mediante el uso de enemigos naturales para el control biológico de plagas. Dentro de este grupo se encuentran algunas especies de bacterias, hongos, nematodos y virus entomopatógenos. Es importante resaltar que el control biológico es regular las poblaciones de las plagas, no de erradicarlas, de tal manera que la densidad de la población de insectos plaga, no afecte el rendimiento de los cultivos agrícolas.

En condiciones naturales, es común encontrar a las larvas y adultos de los insectos infectados con bacterias, hongos, virus y nematodos entomopatógenos, que representan un factor importante en la regulación ecológica de las poblaciones de los insectos [4, 5]. El uso de estos agentes de control biológico causantes de enfermedades en los insectos o productos derivados de estos (enzimas, toxinas) y su aplicación como bioinsecticidas para reducir la densidad de los insectos plaga se llama "control microbiano" [6]. El control microbiano de plagas se ha utilizado como parte del manejo integrado de plagas de cultivos agrícolas a cielo abierto, invernaderos, huertos, ornamentales, céspedes, granos almacenados, bosques, y en la reducción de plagas y vectores de insectos de importancia veterinaria y médica [7]. Dentro de las ventajas que ofrece el uso de

#### Introduction

Food production has been intensive since the last century and currently mainly because of population increase. To maintain or in its case increase agricultural crop yield, the use of pesticides has been required. In agriculture production the direct loss of crop yield is by phytopathogens, insects, and weeds, which represent from 20 to 40% of production, and in a way pesticides have helped to maintain yield of the main crops [1]. However, their excessive use has led to a considerable damage to the environment, biodiversity loss, insect resistance to the main active ingredients of pesticides, emergence of new pests, contamination of fresh water supply, as well as health damage to workers and consumers of agricultural products [2, 3].

To reverse the disadvantages that inadequate pesticide use has, environmental-friendly alternatives have been developed by means of using natural enemies for biological pest control. Within this group, some species of entomopathogenic bacteria, fungi, nematodes and virus are found. Thus the need to highlight that the purpose of biological control is to regulate pest populations rather than eradicate them, in such a way that insect pest population density does not affect agricultural crop yield.

In natural conditions, insect larvae and adults infected with bacteria, fungi, virus, and nematodes are commonly found, representing an important factor in ecological regulation of insect populations [4, 5]. The use of these biological control agents that cause diseases in insects or products derived from them (enzymes, toxins) and their application as biopesticides to reduce pest insects is called microbial control [6]. Microbial control of pest has been used as part of integrated pest management of field crops, greenhouse, orchards, ornamentals, grasses, grain storage, forests, and in reduction of insect pests and vectors of veterinarian and medical importance [7]. Within the advantages offered by using entomopathogenic microorganisms are that they are specific, safe for humans and other non-objective

microorganismos entomopatógenos es su especificidad, son seguros para los humanos y otros organismos no objetivo, contribuyen a la disminución de residuos de insecticidas en los alimentos, preservación de los enemigos naturales y aumento de la biodiversidad en los agroecosistemas.

El uso de microorganismos para el control biológico de insectos no es un tema nuevo. En 1835, Agostino Bassi fue uno de los primeros científicos en demostrar que el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* provocaba la enfermedad conocida como “muscardina blanca” en el gusano de seda. También, Louis Pasteur logró demostrar que el gusano de seda se enfermaba por el microsporidio *Nosema bombycis*. Desde entonces se estableció que los microorganismos son capaces de provocar enfermedades en los insectos. Por otra parte, en 1879 Elie Metchnikoff cultivó por primera vez al hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en un medio artificial después de aislarlo del insecto *Anisoplia austriaca*, y sugirió su uso como agente de control microbiano de insectos plaga. Sin embargo, *M. anisoplia* fue evaluado como agente de control biológico hasta 1888 [8]. A partir de estos años fue que se desarrollaron una multitud de microorganismos entomopatógenos como agentes de control microbiano de plagas, sin embargo, fue a mediados del siglo XX que se comercializaron y aplicaron productos bioinsecticidas para el control de insectos plaga.

Existen tres maneras de usar a los microorganismos entomopatógenos como agentes de control biológico de plagas, la primera es la estrategia de control microbiano clásico que consiste en introducir un entomopatógeno nativo de una plaga invasora para disminuir las poblaciones de los insectos a largo plazo. La segunda estrategia es por conservación, básicamente consiste en mantener el hábitat lo menos perturbado para favorecer la persistencia e incremento de los microorganismos entomopatógenos que ocurren en forma natural en un agroecosistema. La tercera estrategia es por aumento, la cual se divide en inoculativa e inundativa. La estrategia inoculativa o de autodiseminación es la aplicación de pequeñas cantidades de unidades infectivas (conidios, esporas, blastosporas, viriones, juveniles infectivos J3) de los entomopatógenos en las poblaciones de insectos con el objetivo de incrementar la densidad de los entomopatógenos por sí solos. En esta estrategia los propios insectos pueden transmitir sus propias enfermedades, comúnmente los insectos son atraídos a trampas con feromonas de agregación o sexuales y en el interior de las trampas se impregnan los entomopatógenos para que los propios insectos acarreen sus patógenos. Mientras que la inundativa es la aplicación de grandes cantidades de unidades infectivas para iniciar infecciones en los insectos y proporcionar un control casi inmediato de las plagas [6]. El control microbiano por inundación es una de las estrategias que se usa de manera generalizada en la agricultura para liberar a los entomopatógenos, sobre todo porque se hace uso de la tecnología de aplicación de los

organismos; they also contribute to decreasing pesticide residuals in food, preserving natural enemies, and increasing biodiversity in agroecosystems.

The use of microorganisms for biological insect control is not a new topic. In 1835, Agostino Bassi was one of the first scientists to show that the entomopathogen fungus (EF) *Beauveria bassiana* caused the disease known as white muscardine in silkworm. Moreover, Louis Pasteur demonstrated that silkworm got sick by the microsporid *Nosema bombycis*. Since then, microorganisms have been established to be capable of causing diseases in insects. On the other hand, in 1879 Elie Metchnikoff cultured for the first time the EF *Metarhizium anisopliae* in an artificial medium after isolating the insect *Anisoplia austriaca*, suggesting its use as insect microbial pest control agent. However, *M. anisoplia* was assessed as a biological control agent up to 1888 [8]. Starting from this year, a multitude of entomopathogen microorganisms were developed as microbial pest control agents. Nevertheless, in the mid-20<sup>th</sup> century, biopesticide products started to be commercialized and applied for insect pest control.

Entomopathogenic microorganisms can be used as biological control agents of pest in different ways. The first one is the classic microbial control strategy that consists of introducing a native entomopathogen of an invasive pest to decrease insect populations in the long term. The second one is by conservation, which basically consists of maintaining the habitat less disturbed to favor the persistence and increase of entomopathogen organisms that occur naturally in an agroecosystem. The third strategy is by augmentation, which is divided into inoculative and inundative. The inoculative or autodissemination strategy is the application of small quantities of entomopathogen infectious units (conidia, spores, blastospores, virions, infective juveniles J3) in insect populations with the objective of increasing entomopathogen density by themselves. In this strategy, the insects themselves may transmit their own diseases. Usually, insects are attracted to traps with aggregation or sex pheromone and in the trap interior, entomopathogens are impregnated, so the insects themselves carry their pathogens. Whereas the inundative strategy is the application of large quantities of infectious units to start infections in insects and provide an almost immediate pest control [6]. Inundative microbial control is one of the strategies generally used in agriculture to release entomopathogens. Above all, by using the pesticide application technique facilitates spraying homogeneous dispersion of the infectious units, increasing the probabilities of infecting the insects in agricultural crops [8].



insecticidas que facilita la dispersión homogénea de las unidades infectivas y aumenta las probabilidades de contagio de los insectos en los cultivos agrícolas [8].

Uno de los microorganismos que se usa en el control microbiano de plagas por inundación es *Bacillus thuringiensis*. Esta bacteria es eficaz en el control de plagas de lepidópteros, coleópteros y dípteros. Por lo que las ventas de productos formulados a base de *B. thuringiensis* ocupan el primer lugar a nivel mundial del total del mercado de los bioinsecticidas [9]. La actividad insecticida de *B. thuringiensis* está asociada con las toxinas proteicas denominadas Cry que se producen durante la esporulación de la bacteria, estas toxinas tienen que ser ingeridas por los insectos para poderse solubilizar y activarse. Debido al pH alcalino del intestino medio de las larvas es posible la activación de las toxinas. Las proteínas Cry forman poros al insertarse en las membranas de las células intestinales de las larvas de los insectos, lo que provoca una lisis de las células, dejan de comer y mueren en un par de días [10]. Las proteínas Cry1 son activas principalmente contra larvas de lepidópteros y han sido las proteínas insecticidas de *B. thuringiensis* más estudiadas con respecto a su estructura, modo de acción, producción masiva y formulación de productos comerciales (Cuadro 1). Entre las especies de lepidópteros hay una efectividad diferencial de las proteínas Cry1 (Cuadro 2). Por ejemplo, las larvas de *Spodoptera frugiperda* y *Spodoptera exigua* son susceptibles a varias toxinas Cry1, sin embargo, se observa una mayor mortalidad con la proteína Cry1F y Cry1C respectivamente (Cuadro 2).

One of the microorganisms used in inundative microbial control of pest is *Bacillus thuringiensis*. This bacterium is effective to several orders of insects, including Lepidoptera, Coleoptera, and Diptera. Therefore, sales of formulated products based on *B. thuringiensis* occupy the first place at world level of the total biopesticide market [9]. *B. thuringiensis* pesticide activity is associated to Cry protein toxins, which are produced during bacterial sporulation. These toxins have to be ingested by insects to be solubilized and activated. Due to alkaline pH of larval midgut, toxin activation is possible. Cry proteins form pores while inserting in the intestinal cell membranes of insect larvae, causing cell lysis; after that, they stop eating and die in a couple of days [10]. Cry1 proteins are active mainly against several species of Lepidoptera larvae and *B. thuringiensis* pesticide proteins have been the most studied with respect to structure, mode of action, massive and commercial product production (Table 1). Among Lepidoptera species, an effective difference has been observed in Cry1 proteins (Table 2). For example, *Spodoptera frugiperda* and *S. exigua* larvae are susceptible to several Cry1 toxins, but a greater mortality has been observed with Cry1F and Cry1C proteins, respectively (Table 2).

**Cuadro 1.** Bioinsecticidas formulados con *Bacillus thuringiensis* para lepidopteros<sup>a</sup>  
**Table 1.** Bioinsecticides for lepidoptera formulated with *Bacillus thuringiensis*<sup>a</sup>.

Nombre comercial	Serovar de <i>Bacillus thuringiensis</i>	Toxina Cry
Dipel, Biobit XL, Foray 48B, Bactospeine, Thuricide, Javelin, Delfin, Steward, Vaul	kurstaki	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Aa, Cry2Ab
FlorBac, XenTari	aizawai	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ba, Cry1Ca, Cry1Da

<sup>a</sup>Tomado de Bravo y Soberón (2021) [11]

En términos prácticos, la selección correcta de las proteínas Cry1 nos ayudara a tener una mayor certeza en la efectividad de los bioinsecticidas a base de *B. thuringiensis*. Por ejemplo, si tenemos la necesidad de controlar a *Spodoptera frugiperda* en maíz, tenemos que buscar los productos disponibles en el mercado que contengan las proteínas Cry1 y que sean tóxicas para el gusano cogollero. En el Cuadro 2, se encuentra la toxicidad de las proteínas Cry en larvas del gusano cogollero y en el Cuadro 1 están los productos comerciales disponibles con sus respectivas proteínas Cry. Revisando la información anterior, el gusano

In practical terms, the correct Cry1 protein selection helps to have a greater certainty based on *B. thuringiensis* biopesticide effectiveness. For example, if the need exists of controlling *S. frugiperda* in maize, the recommendation is to look for available products in the market containing Cry1 that are toxic for the fall armyworm. Table 2 shows the toxicity of the Cry proteins in *S. frugiperda*, and Table 1 shows the available commercial products with their respective Cry proteins. Reviewing the previous information, the fall armyworm is susceptible to Cry1Ca and Cry1Da

cogollero es susceptible a las proteínas Cry1Ca y Cry1Da, y el producto comercial que contiene esas proteínas es XenTari. En el mercado nacional existen decenas de productos comerciales parecidos al XenTari, de estos productos es necesario revisar que proteínas Cry contiene y las especies de lepidópteros que controlan.

Otro aspecto para considerar en el uso de *B. thuringiensis* es la correcta aplicación de los bioinsecticidas. De manera general, se recomienda utilizar la dosis que indican las etiquetas de los productos comerciales, aplicar los productos en los estados iniciales de las larvas, cubrir totalmente el follaje de las plantas y las aspersiones de los productos deberán realizarse por las tardes para evitar o minimizar la degradación de las proteínas Cry por la luz UV del día.

proteínas, and the commercial product that contains those proteins is XenTari. Tens of commercial products similar to XenTari are found in the national market, so first they should be checked to see what Cry proteins they contain and the lepidoptera species they control.

Another aspect to consider in the use of *B. thuringiensis* is the correct biopesticide application. In general, the dose recommended is the one indicated in the commercial product label. The products should be applied in the initial larval stages. Plant foliage should be covered totally with biopesticide and spraying should preferably be done in the afternoons to avoid or minimize Cry protein degradation by ultraviolet (UV) radiation in daylight.

**Cuadro 2.** Toxicidad de proteínas Cry para algunos lepidopteros<sup>a</sup>

**Table 2.** Cry protein toxicity for some Lepidoptera<sup>a</sup>

Insecto	Proteínas Cry	Especificidad
<i>Spodoptera exigua</i>	Cry1Ab, Cry1Ad, Cry1Be, Cry1Ca, Cry1Da, Cry1Fa, Cry1If, Cry1Ja, Cry2Ac, Cry9Ca	Cry1C
<i>Spodoptera frugiperda</i>	Cry1Bb, Cry1Be, Cry1Ca, Cry1Da, Cry1Fa, Cry1If, Cry1Ja, Cry2Aa	Cry1F
<i>Helicoverpa zea</i>	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Be, Cry1If, Cry1Ja, Cry1Jc, Cry2Aa, Cry2Ab, Cry2Ae, Cry9Aa	
<i>Plutella xylostella</i>	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Ad, Cry1Ba, Cry1Bb, Cry1Bd, Cry1Be, Cry1Bf, Cry1Ca, Cry1Da, Cry1Ea, Cry1Eb, Cry1Fa, Cry1Gb, Cry1Gc, Cry1Ia, Cry1Ib, Cry1Id, Cry1Ie, Cry1If, Cry1Ja, Cry1Jc, Cry9Aa, Cry9Ca, Cry9Ec	Cry1B
<i>Trichoplusia ni</i>	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Ad, Cry1Ae, Cry1Ba, Cry1Bb, Cry1Bd, Cry1Be, Cry1Bf, Cry1Ca, Cry1Cb, Cry1Ea, Cry1Eb, Cry1Fa, Cry1Gc, Cry1If, Cry1Jb, Cry2Aa, Cry2Ab, Cry2Ac, Cry2Ae, Cry9Aa, Cry9Ca	Cry1F y Cry1G

<sup>a</sup>Tomado de Sauka y Benintende (2008) [12]

Otro de los microbios que se utiliza en el control microbiano de plagas son los hongos entomopatógenos (HE), ocupan el segundo lugar en las ventas de productos bioinsecticidas en el mundo y Latinoamérica [7, 9]. Las enfermedades causadas por los hongos (micosis) en insectos son muy comunes de observar en ecosistemas y agroecosistemas, y en algunas ocasiones es posible observar epizootias espectaculares. Los HE actúan por contacto, los conidios se adhieren a la superficie de la cutícula del insecto, germinan, invaden directamente el exoesqueleto y crecen en el interior hasta colonizar por completo al insecto. Las unidades infectivas, es decir los conidios que se desprenden de los insectos micosados, constituyen la fuente de inóculo capaz

Other microbes that are used in microbial control of pest are entomopathogenic fungi (EPF), which occupy second place in biopesticide product sales in Latin America and in the world [7,9]. The diseases caused by fungi (mycosis) in insects are commonly observed in ecosystems and agroecosystems, and in some cases spectacular epizooty can be observed. EPF act by contact, conidia adhere to the insect cuticle surface, germinate, directly invade the exoskeleton, and grow in the interior until they colonize the insect completely. The infectious units, that is, conidia that become detached from the mycosed insects constitute the inoculum source capable of infecting healthy



de infectar nuevamente a individuos sanos. La mayoría de los HE con potencial para el control de insectos se encuentran entre los Entomphtorales (Zygomycota) y Hypocreales (Ascomycota). En este último grupo se encuentran la mayoría de los hongos entomopatógenos que se utiliza en el control microbiano de plagas principalmente porque son fáciles de reproducir los conidios en fermentación sólida y líquida [13]. Los insectos chupadores como áfidos, mosca blanca, trips, escamas, larvas y adultos de escarabajos y lepidópteros comúnmente son infectados por los HE (Cuadro 3). A pesar de la capacidad que tienen algunos HE de ser generalistas como *Beuveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, existen diferencias en la susceptibilidad entre aislamientos y especies de insectos, por lo cual es recomendable utilizar productos formulados a base de especies y cepas de HE probadas sobre el insecto plaga a controlar.

individuals again. The majority of the EPF with potential for insect control are found among, Entomphtorales (Zygomycota) and Hypocreales (Ascomycota). In this last group, the majority of this fungi used in microbial control of pest are found in this last group, mainly because conidia are easy to reproduce in solid and liquid fermentation [13]. Sucking insects, such as, aphids, white fly, thrips, scales, larvae and adult beetles and lepidoptera are commonly infected by EPF (Table 3). Despite the capacity that some of them have of being generalists, as *Beuveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, differences exist in susceptibility between isolation and insect species. Thus, products based on EPF species and strains tested on the pest insect to be controlled should be used.

**Cuadro 3.** Principales hongos entomopatógenos usados en México  
**Table 3.** Main entomopathogenic fungi used in México

Hongo	Insecto
<i>Beuveria bassiana</i>	Amplio rango de huespedes
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Amplio rango de huespedes
<i>Metarhizium acridum</i>	Langosta y chapulin
<i>Akanthomyces (=Lecanicillium) lecanii</i>	Áfidos, mosca blanca, trips
<i>Cordyceps (=Isaria) fumosorosea</i>	Mosca blanca, áfidos
<i>Hirsutella thompsonii</i>	Ácaros
<i>Cordyceps (=Isaria) javanica</i>	Áfidos, psílido de los cítricos, mosca del vinagre de alas manchadas

Uno de los aspectos cruciales en la efectividad biológica de los HE en campo es la correcta aplicación de las unidades infectivas (conidios). Tamayo-Mejía *et al.* [14] mencionan que para tener buenos resultados con los HE es necesario considerar la cantidad de follaje y la altura de los cultivos porque de esto dependerá la cantidad de agua a utilizar para la aplicación de la suspensión de los conidios de los HE, la biología del insecto a controlar y el estado de desarrollo más susceptible a los HE, las condiciones ambientales donde se encuentran los cultivos debido a que los hongos requieren entre 20 a 25 °C y una humedad relativa alta, la concentración y viabilidad de los conidios de los HE, y el equipo de aplicación. En términos prácticos, los HE se deberán aplicar cuando los insectos se encuentren en el estado de desarrollo más susceptible, a una concentración cercana de  $1 \times 10^{13}$  conidios/hectárea, de preferencia por la mañana o en la tarde para reducir los efectos de la UV sobre la viabilidad de los conidios, el equipo de aplicación podrá ser una bomba de mochila manual o motorizada así como equipo de aspersión montado a un tractor, lo más importante es elegir la boquilla apropiada que puede ser de abanico o

One of the crucial aspects of biological effectiveness in field of EPF is the correct application of infectious units (conidia). Tamayo-Mejía *et al.* [14] mentioned that to achieve good results with EPF, the quantity of foliage and crop height should be considered. Many factors depend on these measurements, for example, the amount of water needed to apply conidia EPF suspension; biology of the insect to be controlled and the most susceptible developmental stage; environmental conditions where the crops are found because fungi require from 20 to 25 °C and a relatively high humidity, concentration and viability of EPF conidia, and the application equipment. In practical terms, EPF should be applied when the insects are found in the most susceptible developmental stage at a concentration close to  $1 \times 10^{13}$  conidia/hectare, preferably in the morning or afternoon to reduce UV effects on conidial viability. The application equipment could be a manual or motorized backpack pump, as well as a sprayer equipment attached to the tractor. The most important thing is to select the adequate

cono hueco para cubrir homogéneamente el follaje de las plantas con los conidios de los HE.

Por último, los nematodos entomopatógenos (NE) son agentes de control biológico que se utilizan principalmente en el control microbiano de plagas del suelo. Los nematodos de la familia de los Steinernematidae y Heterorhabditidae son los que se usan en el control microbiano, los cuales están asociados con la bacteria de los géneros *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, respectivamente. Al encontrar a su hospedero, los nematodos inyectan a estas bacterias asociadas en el interior de los insectos; esto provoca una infección generalizada (septicemia) y las larvas del insecto mueren. Los nematodos se reproducen en el interior de las larvas de los insectos, alimentándose del tejido del hospedero y de las bacterias; producen varias generaciones y emergen del cadáver en la etapa juvenil J3 o juvenil infectivo, para buscar nuevos hospederos [15]. Una característica interesante de los nematodos es la capacidad de desplazarse y buscar en el suelo a sus hospederos. Por este comportamiento se ha sugerido el uso de los NE en el control microbiano de plagas del suelo o de insectos con hábitats crípticos. En México se encuentran disponibles productos formulados con las especies *Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema feltiae* y *S. carpocapse* (Cuadro 4). En larvas de gallina ciega se han probado algunas de las especies de NE antes mencionadas con una mortalidad desde el 20 al 75 % [16]. Hay ciertos problemas que limitan el uso masivo de los NE como agentes de control biológico, y uno de ellos es la producción masiva y su almacenamiento. Para producir cantidades suficientes de estos nematodos, es necesario cultivarlos masivamente en insectos vivos y luego, mantenerlos en refrigeración para posteriormente aplicarlos a las plagas del suelo. En México existen pocos productos a base de NE, de los productos disponibles participa una empresa mexicana en la producción y formulación de NE (Cuadro 4). Las aplicaciones de los nematodos se hacen en el sistema de riego o asperjándolos sobre las superficies donde se encuentran los rizófagos y de esta manera los nematodos tienen una mayor oportunidad de encontrar a las larvas de las plagas del suelo e infectarlas. En general se recomienda aplicar 25 J3/cm<sup>2</sup> para que los NE sean efectivos contra la mayoría de los insectos. Los factores ambientales determinan la eficacia de las aplicaciones de los NE, por ejemplo, los nematodos son muy sensibles a la desecación y luz UV por lo que las aplicaciones al suelo o hábitats crípticos deberá realizarse en la mañana muy temprano o por la tarde [16].

nozzle that could be flat-fan or hollow-cone to cover plant foliage with EPF conidia homogenously.

To conclude, entomopathogenic nematodes (EN) are biological control agents that are mainly used in soil microbial control of pest. Nematodes of the family Steinernematidae and Heterorhabditidae are those used in microbial control, which are associated with bacteria of the genus *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*, respectively. When nematodes find their host, they inject these associated bacteria to the insect interior, which causes a generalized infection (septicemia) and insect larvae die. Nematodes reproduce in larva interior, feeding on the host tissue and bacteria. They produce several generations and emerge from dead bodies in juvenile J3 or infective juvenile to search for new hosts [15]. An interesting characteristic of nematodes is the capacity to displace themselves and search for their hosts in soil. Because of this behavior, the use of EN has been suggested in soil microbial pest control or insects with cryptic habitats. Products formulated with the species *Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema feltiae* and *S. carpocapse* (Table 4) are available in Mexico. In white grub, some of the EN species previously mentioned have been tested with mortality from 20 to 75% [16]. Certain problems limit massive use of EN as biological control agents. One of them is massive production and storage. To produce sufficient quantities of these nematodes, they should be massively cultured in live insects and then maintained in refrigeration to subsequently apply them to soil pests. Few products based on EN are available in Mexico, where a Mexican company participates in EN production and formulation (Table 4). The application of nematodes is made in irrigation or spraying system on surfaces where rhizophagous insects are found, so nematodes have a greater opportunity to find soil pest larvae and infect them. In general, a dose of 25 J3/cm<sup>2</sup> should be applied to make EN effective against the majority of the insect. Furthermore, environmental factors determine the effectiveness of the EN applications. For example, nematodes are very sensitive to UV light, which is why applications to cryptic soil or habitats should be performed very early in the morning or in the afternoon [16].

**Cuadro 4.** Productos comerciales formulados con nematodos entomopatógenos  
**Table 4.** Commercial products formulated with entomopathogenic nematodes

<b>Nombre comercial</b>	<b>Especie</b>	<b>Compañía</b>	<b>Insecto Plaga</b>
LARVANEM	<i>Heterorhabditis bacteriophaga</i>	Koppert	Larvas de coleópteros y lepidópteros del suelo
CAPSANEM	<i>Steinernema carpocapsae</i>	Koppert	Trozadores, barrenadores, sciáridos
NINJA SC	<i>Steinernema carpocapsae</i>	OBA México	Trozadores, barrenadores, sciáridos, gallinas ciegas
ENTONEM	<i>Steinernema feltie</i>	Koppert	Larvas de sciáridos y lepidópteros del suelo

### Referencias References

- Oerke EC (2006) Crop losses to pests. J Agr Sci 144:31-43.
- Pretty J (2008) Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. Phil Trans R Soc B 363: 447-465.
- Pretty J (2018) Intensification for redesigned and sustainable agricultural systems. Science 362: eaav0294.
- Hawkins BA, Cornell HV, Hochberg ME (1997) Predators, parasitoids, and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. Ecology 78: 2145–2152.
- Lacey LA, Frutos R, Kaya HK, *et al.* (2001) Insect pathogens as biological control agents: do they have a future?. Biol Control 21:230-248.
- Eilenberg J, Hajek A, Lomer C (2001) Suggestions for unifying the terminology in biological control. BioControl 46: 387–400.
- Lacey LA, Grzywacz D, Shapiro-Ilan DI, *et al.* (2015) Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. J Invertebr Pathol 132: 1-41.
- Lacey LA (2017) Entomopathogens used as microbial control agents. In: Lacey LA (ed) Microbial Control of Insect and Mite Pests: from Theory to Practice. Academic Press, San Diego, pp. 109–124.
- Glare T, Caradus J, Gelernter W, *et al.* (2012) Have biopesticides come of age?. Trends Biotechnol 30:250-258.
- Jurat-Fuentes JL, Jackson TA (2012) Bacterial Entomopathogens. In: Vega FE and Kaya HK (ed) Insect pathology. 2nd ed. Elsevier, London, pp. 265-349.
- Bravo A, Soberón M (2021) Control biológico de plagas agrícolas de insectos. Biotecnología en Movimiento 24: 25-27.
- Sauka DH, Benintende GB (2008) Bacillus thuringiensis: generalidades. Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. Rev Argent Microbiol 40:124-140.
- Alatorre-Rosas R, Tamayo-Mejía F (2021) Protozoarios-Microsporidia y Hongos Entomopatógenos. En: Arredondo-Bernal HC, Tamayo-Mejía F y Rodríguez del Bosque LA (ed) Fundamento y Práctica del Control Biológico de Plagas y Enfermedades. Biblioteca Básica de Agricultura, México, pp. 187-238.
- Tamayo-Mejía F, Alatorre-Rosas R, Delgado-Fernandez S, *et al.* (2021) Principios de aplicación de entomopatógenos. En: Arredondo-Bernal HC, Tamayo-Mejía F y Rodríguez del Bosque LA (ed) Fundamento y Práctica del Control Biológico de Plagas y Enfermedades. Biblioteca Básica de Agricultura, México, pp. 405-425

15. Alatorre-Rosas R (2021) Nematodos parásitos de insectos. En: Arredondo-Bernal HC, Tamayo-Mejía F y Rodríguez del Bosque LA (ed) Fundamento y Práctica del Control Biológico de Plagas y Enfermedades. Biblioteca Básica de Agricultura, México, pp. 271-309.
16. Rodríguez del Bosque LM, Hernandez-Velázquez VM, Nájera-Rincón MB, *et al.* (2015) Gallinas ciegas (Coleoptera:Melolonthidae). En: Arredondo-Bernal HC y Rodríguez del Bosque LA (ed) Casos de control biológico en México Vol. 2. Biblioteca Básica de Agricultura, México, pp. 123-139.