



**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL UNIDAD
OAXACA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE
RECURSOS NATURALES**

**Nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales
para el manejo del adulto de (*Scyphophorus acupunctatus*
Gyllenhal) en *Agave* spp.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA:

AHEDO QUERO HÉCTOR OSVALDO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. TEODULFO AQUINO BOLAÑOS

SANTA CRUZ XOXOCOTLÁN, OAXACA., MAYO 2019



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca siendo las 14:00 horas del día 9 del mes de mayo del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR OAXACA

para examinar la tesis titulada:

"Nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales para el manejo del adulto de (Scyphophorus acupunctatus Gyllenhal) en Agave spp"

Presentada por el alumno:

Ahedo	Quero
Apellido paterno	Apellido materno
Nombre(s) Héctor Osvaldo	

Con registro:

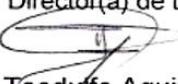
A	1	7	0	4	6	3
---	---	---	---	---	---	---

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director(a) de tesis



Dr. Teodoro Aquino Bolaños



Dr. Jaime Ruiz Vega



Dr. Fidel Diego Nava



M. en C. Laura Martínez Martínez



Dr. José Antonio Sánchez García

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE
PROFESORES



Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca el día 20 del mes de mayo el año 2019, el (la) que suscribe **Héctor Osvaldo Ahedo Quero** alumno(a) del Programa de Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales con número de registro A170463, adscrito a Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Teodulfo Aquino Bolaños y cede los derechos del trabajo intitulado **Nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales para el manejo del adulto de (*Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal) en *Agave spp.***, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección aeqh89@gmail.com Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Héctor Osvaldo Ahedo **CENTRO INTERDISCIPLINARIO
 DE INVESTIGACIÓN PARA EL
 DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
 C.I.I.D.I.R.
 UNIDAD OAXACA
 I.P.N.**

Nombre y firma

Dedicatoria

A Dios, a mi esposa Olivia Maciel Amador. A mis padres, Edgar Osvaldo Ahedo Agraz y Bacilides Quero Ramírez. A mis hermanos: Felipe Reséndiz Magallón, Dalia Lizbeth Ahedo Quero y Edgar Alejandro Ahedo Quero.

Agradecimientos

Agradezco a DIOS, por brindarme la vida y el ímpetu de superación personal que día a día ha forjado mi persona, también la oportunidad de seguir con mis estudios hasta el día de hoy.

A mi esposa OLIVIA MACIEL AMADOR quien inició este camino académico a mí lado y ha sido pieza importante en mi aprendizaje.

A mis padres EDGAR OSVALDO AHEDO AGRAZ Y BACILIDES QUERO RAMIREZ por su paciencia, comprensión, consejos, apoyo económico y moral para seguir con mis estudios y poder culminar la maestría.

A mis hermanos, EDGAR ALEJANDRO AHEDO QUERO Y DALIA LIZBETH AHEDO QUERO, quienes nunca han dejado de creer en mí, quienes me han observado y conocen el arduo caminar de mí sendero.

A mi asesor DR. TEODULFO AQUINO BOLAÑOS, persona que desde un inicio me abrió las puertas del CIIDIR IPN, por todo su apoyo, conocimientos y experiencias compartidas, durante estos dos años de trabajo.

Un especial agradecimiento a todos los académicos así como a mis compañeros de la maestría por sus sugerencias, apoyo y comentarios asertivos.

A CONACYT, Beca BEIFI, Beca TELMEX y Dogo Monster por su apoyo económico durante la realización de este proyecto.

INDICE GENERAL

	Paginas
I. INTRODUCCION	12
II. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo general	
2.2 Objetivos específicos	
III. HIPOTESIS	15
IV. REVISION DE LITERATURA	16
4.1 Importancia del agave en México	
4.2 Plagas del agave	16
4.3 <i>Scyphophorus acupunctatus</i>	18
4.3.1 Importancia económica de <i>Scyphophorus acupunctatus</i>	19
4.3.2 Aspectos biológicos de <i>Scyphophorus acupunctatus</i>	
4.3.3 Ciclo biológico de <i>Scyphophorus acupunctatus</i>	20
4.3.4 Descripción morfológica	21
4.3.4.1 Huevo	
4.3.4.2 Larva	22
4.3.4.3 Pupa	
4.3.4.4 Adulto	23
4.3.5 Daños ocasionados por <i>Scyphophorus acupunctatus</i>	24
4.3.6 Dinámica poblacional	25
4.4 Manejo de <i>Scyphophorus acupunctatus</i>	
4.4.1 Control Químico	
4.4.2 Control cultural	26
4.4.3 Control etológico	27
4.4.4 Control biológico	
4.5 Nematodos entomopatógenos	28
4.5.1 Hospederos	29
4.5.2 Ciclo de vida de los nematodos entomopatógenos	30
4.5.3 Bacterias simbioses	31
4.5.4 Problemática en el uso de nematodos entomopatógenos	
4.6 Coadyuvantes y formulaciones	33
4.7 Uso de aceites asociados a nematodos entomopatógenos	34
V. MATERIALES Y METODOS	35
5.1 Localización del área de estudio	
5.2 Obtención y reproducción de material biológico	36
5.2.1 Obtención de nematodos entomopatógenos	
5.2.2 Pruebas de patogenicidad en larvas de <i>Galleria mellonella</i>	

5.2.3 Reproducción de nematodos entomopatógenos	37
5.3 Supervivencia de nematodos entomopatógenos en aceites vegetales	
5.3.1 Análisis estadístico	38
5.4 Evaluación de mortandad de adultos de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> utilizando NEP´s asociados a aceites vegetales en laboratorio	39
5.4.1 Análisis estadístico	40
5.5 Determinación de la dosis letal 90 (DL 90)	
5.6 Efectividad de nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales en adultos de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> en campo	
5.7 Análisis estadístico	41
VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES	42
6.1 Sobrevivencia de nematodos en aceites vegetales	
6.2 Efectividad de nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales en adultos de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> en condiciones de laboratorio.	47
6.3 Efecto de aceites en la mortandad de adultos de <i>S. acupunctatus</i> en condiciones de laboratorio	50
6.4 Obtención de la DL 90	
6.5 Efectividad de nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales en adultos de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> en condiciones de campo.	52
VII. CONCLUSIONES	55
VIII. RECOMENDACIONES	56
IX. BIBLIOGRAFÍA	57

ÍNDICE DE CUADROS

	PAGINAS
CUADRO 1. Plagas del cultivo agave.	17
CUADRO 2. Ciclo biológico de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> en diferentes agaváceas.	20
CUADRO 3 Generaciones por año de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> .	21
CUADRO 4. Enemigos naturales de <i>Scyphophorus acupunctatus</i>	28
CUADRO 5. Factores que afectan la acción de NEP'S	32
CUADRO 6. Tratamientos evaluados en la supervivencia de nematodos entomopatógenos	38
CUADRO 7. Efectividad de aceites y nematodos entomopatógenos en la mortalidad de adultos de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> .	39
CUADRO 8. Porcentaje de mortandad en adultos de <i>S. acupunctatus</i> utilizando <i>H. bacteriophora</i> y dos aceites vegetales.	48

ÍNDICE DE FIGURAS

	PAGINAS
FIGURA 1. Distribución de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> (CABI, 2018)	18
FIGURA 2. Huevo de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> (González-Hernández, H.)	21
FIGURA 3. Larva de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> (Figueroa-Castro, P.)	22
FIGURA 4. Pupa de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> (Figueroa-Castro, P.)	23
FIGURA 5. Adulto de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> (Valdez Carrasco, J)	24
FIGURA 6. Ciclo de vida de NEP´S (OBA, 2018)	30
FIGURA 7. Localización del laboratorio de control biológico	35
FIGURA 8. Promedios de sobrevivencia de 4 NEP´S en 4 aceites vegetales a 3 concentraciones a las 24 h.	42
FIGURA 9. Sobrevivencia de 4 nematodos entomopatógenos en 4 aceites vegetales a las 48 h.	43
FIGURA 10. Sobrevivencia a las 72 h de <i>H. bacteriophora</i> en 4 aceites y 3 concentraciones.	44
FIGURA 11. Comparación de medias en la sobrevivencia de <i>H. bacteriophora</i> en aceites vegetales con alfa al 0.05.	45
FIGURA 12. Mortandad en adultos de <i>Scyphophorus acupunctatus</i> utilizando aceites vegetales en laboratorio.	50
FIGURA 13. Mortandad media de tratamientos aplicados en campo. Las letras muestran diferencia significativa con alfa al 0.05%	52

RESUMEN

Este trabajo de investigación se realizó en dos fases experimentales. En condiciones de laboratorio se evaluó la sobrevivencia de nematodos entomopatógenos de las especies *Heterorhabditis bacteriophora*, *H. bacteriophora nativa*, *Steinernema glaseri* y *S. carpocapsae*, en cuatro aceites: Aguacate (*Persea americana*), Higuera (*Ricinus communis*), Neem (*Azadirachta indica*) y Toronja (*Citrus x paradisi*), a tres concentraciones; 20, 30 y 40 % con 50 ± 5 nematodos/tratamiento, además se evaluó la efectividad del nematodo entomopatógeno *H. bacteriophora* asociado a los aceites *P. americana* y *A. indica* para el manejo de adultos de *Scyphophorus acupunctatus*. En condiciones de campo se evaluó la efectividad del nematodo *H. bacteriophora* asociado al aceite *P. americana* en plantas maduras con un grado de afectación 3 de *Agave angustifolia*. Se encontró que la sobrevivencia de nematodos entomopatógenos en aceites vegetales fue mayor en *P. americana* y *A. indica* con porcentajes de 63.3 y 57.4 % a las 72 h. Para el control de *S. acupunctatus* en laboratorio, el tratamiento *H. bacteriophora* 1000 nematodos + *P. americana* 50%, generó una mortalidad del 100% a los 12 días y el aceite *P. americana* en este mismo tiempo generó una mortalidad del 85.7%. En campo el uso del nematodo *H. bacteriophora* con 8000 nematodos/insecto al 50% de aceite de *P. americana*/mL, genera una mortalidad media en adultos de *S. acupunctatus* del 15-45% que supera al tratamiento con Malathion 500 donde se obtuvo un control del 6 % a los 15 días después de la aplicación.

ABSTRACT

This research work was carried out in two experimental phases. In laboratory conditions, the survival of entomopathogenic nematodes of the species *Heterorhabditis bacteriophora*, native *H. bacteriophora*, *Steinernema glaseri* and *Sterneinema carpocapsae* were evaluated in four oils: Avocado (*Persea americana*), Higuierilla (*Ricinus communis*), Neem (*Azadirachta indica*) and Grapefruit (*Citrus x paradisi*), in three contents; 20, 30 and 40% with 50 ± 5 nematodes / treatment, in addition to evaluating the effectiveness of the entomopathogenic nematode *H. bacteriophora* associated with *P. americana* and *A. indica* oils for the management of adults of *Scyphophorus acupunctatus*. In field conditions, the results of the *H. bacteriophora* nematode associated with *P. americana* oil were evaluated in mature plants with a degree of affectation 3 of *Agave angustifolia*. It has been found that the survival of entomopathogenic nematodes in vegetable oils was higher in *P. americana* and *A. indica* with percentages of 63.3 and 57.4% at 72 h. For the control of *S. acupunctatus* in the laboratory, treatment with *H. bacteriophora* 1000 nematodes + *P. americana* 50%, generated a mortality of 100% at 12 days and the *P. americana* oil at the same time generated a mortality of 85.7%. In field, the use *H. bacteriophora* with 8000 nematodes/ insect with 50% of *P. americana*/mL oil, generate a mortality in *S. acupunctatus* adults of 15-45% with better results than the treatment Malathion 500 where a control of 6% was found at 15 days after the application.

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo y agroindustria del agave en México generan empleo para más de 85 000 trabajadores, 17 000 productores y ponen en producción mas de 111 420 ha, para la obtencion de diversos agroproductos pero en especial tequila y mezcal, los cuales registran un total de 1 389 millones de dólares en ventas a nivel nacional e internacional (Navarrete, 2015; SIAP, 2016; Consejo Regulador del Mezcal, 2017; Consejo Regulador del Tequila, 2017; SAGARPA, 2018).

Sin embargo la producción nacional de agave se encuentra amenazada por diversos factores como son plagas y enfermedades, las cuales merman su producción (García.M., 1981 citado por Solís Aguilar *et al.*, 2001; CESAVEG, 2011; SENASICA-LANREF, 2014). La plaga más importante para este cultivo es el “picudo de agave” (*Syphophorus acupunctatus*), plaga que ataca plantas maduras por su alto contenido de azúcares y causa de manera directa e indirecta la muerte o disminución en la calidad de las piñas. Las larvas de *Scyphophorus acupunctatus* barrenan la parte basal de las hojas del agave para poder acceder a la piña ocasionando pudrición y posteriormente la muerte de la planta, lo que genera pérdidas que van del 20-40% de la producción (Solís Aguilar *et al.*, 2001; Aquino Bolaños *et al.*, 2007; Terán Vargas y Azuara Domínguez, 2013).

El control de *Scyphophorus acupunctatus* se ha realizado por diversos métodos: químico, mecánico, cultural, físico, genético, biológico y etológico, siendo el control químico el más utilizado, pero con la desventaja de que el insecto plaga adquiere resistencia al ingrediente activo, incrementa el costo de producción, genera daños a la salud de los trabajadores del campo por la toxicidad de sus ingredientes y disminuye la diversidad biológica en el agro ecosistema (Albert, 1988 citado por Aquino *et al.*, 2006; Solís *et al.*, 1999, 2000, 2001; Gonzales Díaz 2002; Valdés-Rodríguez *et al.*, 2004; Terán Vargas, Azuara-Dominguez, Vega-Aquino, Zambrano-Gutiérrez, y Blanco-Montero, 2012). Además el uso de insecticidas no es eficaz ya que el ciclo biológico de *Scyphophorus acupunctatus* se realiza en el

interior de la planta conocido como tipo críptico, lo que dificulta la acción de los insecticidas químicos de contacto y sistémicos (Terán Vargas, *et al.*, 2012; Delgado-Gamboa, 2015).

La agricultura requiere de alternativas menos dañinas para el medio ambiente y el hombre como el control biológico: “Acción de parasitoides, depredadores o patógenos para mantener la densidad de población de otro organismo (plaga) a un promedio más bajo de lo que ocurriría en su ausencia” (Hajek, 2004), genera casos de éxito en diversos cultivos alrededor del mundo (Campbell, R. 1989; T.S. Bellows y T. W. Fisher, 1999; CABI, 2007) así como en plagas del cultivo del *Agave* spp. (Velázquez J., 2006; Bolaños *et al.*, 2006, 2011). Una de las especies exitosas en el control biológico de plagas son los nematodos entomopatógenos (NEP’s) de las familias Heterorabditidae (Hb) y Steinernematidae (St) las cuales tienen capacidad de búsqueda del hospedero e infección, esta última debido a la simbiosis con bacterias entomopatógenas (BEP’s) (Grewal, R. –U. Ehlers y Shapiro-ilan, 2005). Sin embargo las condiciones bióticas y abióticas son factores que dificultan su capacidad de acción y su potencial para producir epizootias (altos niveles de enfermedad), debido a ello se ha buscado combinarlos con diversos coadyuvantes para mejorar su capacidad en campo (Koppenhöfer y Grewal, 2005; Castruita Esparza, 2017)

El presente trabajo busca medir la mortandad de *Scyphophorus acupunctatus* con nematodos entomopatógenos (*Esterneinema glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Sterneinema carpocapsae*, cepa nativa de *Heterorhabditis bacteriophora*) asociados a 4 aceites vegetales: Aguacate (*Persea americana*), Higuierilla (*Ricinus communis*), Neem (*Azadirachta indica*) y Toronja (*Citrus × paradisi*) en condiciones de laboratorio y campo.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar la efectividad de nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales, para el control del adulto *Scyphophorus acupunctatus* en el cultivo de agave.

2.2. Objetivos específicos

- 1- Evaluar la sobrevivencia de cuatro especies de nematodos entomopatógenos mezclados con aceites vegetales en condiciones de laboratorio.
- 2- Evaluar la mortalidad de adultos de *Scyphophorus acupunctatus* con nematodos entomopatógenos mezclados con aceites vegetales en condiciones de laboratorio.
- 3- Evaluar la mortalidad de adultos de *Scyphophorus acupunctatus* con el nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* asociado con aceite de *Persea americana* en condiciones de campo.

III. HIPÓTESIS

Ho: La aplicación de al menos una de las cepas de nematodos entomopatógenos asociados con aceites vegetales, aplicados en etapas adultas de *Scyphophorus acupunctatus*, genera una mortandad igual o mayor a un insecticida de síntesis química de tipo sistémico.

Ha: La aplicación de al menos una de las cepas de nematodos entomopatógenos asociados a un aceite vegetal, aplicados a adultos de *Scyphophorus acupunctatus*, genera una mortandad menor a un insecticida de tipo sistémico.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Importancia del agave en México

En México desde épocas precolombinas, los agaves han tenido importancia económica y cultural para los pueblos indígenas quienes han aprovechado la planta como fuente de alimento, bebida, medicina, combustible, cobijo, ornato, fibras duras (ixtle), abono, construcción de viviendas, cerco vivo y elaboración de implementos agrícolas (Palma Cruz, 1995; García-Mendoza, 2007; García-Herrera *et al.*, 2010). No obstante la producción de tequila y mezcal por su importancia en la cultura, tradición y economía de la población rural y por considerarse bebidas emblemáticas de México, han repuntado en los últimos años no solo en el mercado nacional sino también en el internacional donde han empezado a ganar terreno contra otras bebidas espirituosas por sus características de calidad y exquisitez logradas por los procesos artesanales y tradicionales (Gallardo Valdez, 2017). Actualmente la actividad industrial de esta planta es de las más importantes, produciendo 271.4 millones de litros de tequila y 3.9 millones de litros de mezcal (CRM; CRT, 2017), que se refleja con una ganancia sustancial de 3.869 millones de pesos en mezcal y 81 420 millones de pesos en tequila (CONACYT, CIATEJ, AGARED, 2017; SAGARPA, 2017).

Otro factor de importancia es la diversidad genética del agave ya que México cuenta con el 75% de especies de agave a nivel mundial y 119 especies son endémicas (García-Mendoza, 1981), debido a ello se ha domesticado a través del tiempo y generado un uso específico para cada especie de agave, dando como resultado su cultivo en 26 estados y su presencia en todo el territorio nacional (SIAP, 2013).

4.2. Plagas del agave

La planta de agave presenta diversas plagas (**Cuadro 1**) las cuales se han incrementado debido a la demanda que generan sus productos, el cambio climático y el uso desmedido de plaguicidas provocan problemas de importancia económica en la sanidad de este cultivo (Solís Aguilar, *et al.*, 2001; Lichtfouse, 2009). Las plagas insectiles que afectan al agave son divididas en tres grupos: barrenadores, de follaje y rizófagos (Castro, 2009).

Cuadro 1. Plagas del cultivo agave.

Grupo	Plaga
Barrenadores	• Barrenador de las pencas (<i>Agathymus rethon</i> Dyar)
	• Escarabajo funerario del maguey (<i>Acanthoderes funeraria</i> Bates)
	• Picudo del agave (<i>Scyphophorus acupunctatus</i>)
	• Gusano blanco del maguey (<i>Aegiale hesperiaris</i>)
	• Barrenador de pencas del agave (<i>Agathymus rethon</i>)
	• Gusano colorado (<i>Hypoapta agavis</i> Blásquez)
Follaje	• Escama armada (<i>Acutaspis agavis</i> Townsend y Cockerell)
	• Piojo harinoso del agave (<i>Pseudococcus agavis</i> MacGregor)
	• Chinche del agave (<i>Caulatops agavis</i> Reuter)
	• Grana cochinilla (<i>Dactylopius</i> sp.)
	• Chapulines (diferentes especies)
	• Minadores de las pencas (<i>Batrachedra</i> spp.)
Rizófagos	• Escarabajo rinoceronte (<i>Strategus alous</i>)
	• Gallina ciega (<i>Pyllophaga crinita</i>)

Fuente: (González-Castillo y Quintos-Escalante, 2006; Castro, 2009; CESAVEG, 2011).

Scyphophorus acupunctatus es conocida como la plaga mas importante, debido a que se encuentra presente en la mayoría de las plantaciones de la familia agavacea causando perdidas economicas que van del 20 al 50 % (Solis-Aguilar *et al.*, 2001; Domínguez, 2011; Terán-Vargas y Azuara Domínguez, 2013).

4.3. *Scyphophorus acupunctatus*

Esta especie es de origen americano y de distribución cosmopolita (**Figura 1**) (Halffter, 1957; Lock, 1969; Pott, 1975; Colombo, 2000; Kontodimas, D.C. and Kallinikou, 2010; Molina Molina, 2013).

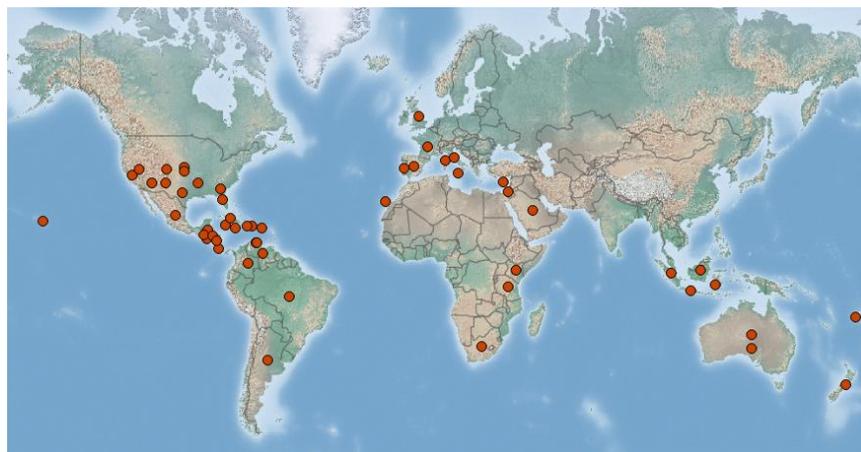


Figura 1. Distribución de *Scyphophorus acupunctatus* (CABI, 2018)

Su posición taxonómica de acuerdo a SENASICA-DGSV (2016) y CABI international (2011):

Reino: Animalia
 Phylum: Arthropoda
 Clase: Insecta
 Subclase: Pterygota
 División: endopterygota
 Orden: Coleóptera
 Suborden: Polyphaga
 Superfamilia: Curculionoidea
 Familia: Dryophthoridae
 Subfamilia: Rhynchophorinae
 Tribu: Sphenophorini
 Género: *Scyphophorus*
 Especie: *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (1838)

En México, se le encuentra atacando plantas de la familia Agavácea: *Agave* spp. (*A. Americana*, *A. fourcroydes*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana*, *A. sisalana*, *A. tequilana*, entre otras), *Beaucarnea*, *Dasylyrion longissimum*, *Furcraea*, *Polianthes*

tuberosa, *Yucca* spp. (*Y. aloifolia*, *Y. elephantipes*, *Y. glauca*, entre otras). Dracaenaceae: *Dracaena draco* y Cactaceae: *Pachycereus pringlei* (Halffter, 1957; Gwendolyn y Robert, 1986; Ruiz-Montiel *et al.*, 2003; Flich y Alonso Zarazaga, 2007; Yolanda *et al.*, 2011; Aquino Bolaños *et al.*, 2010, 2014).

4.3.1. Importancia económica de *Scyphophorus acupunctatus*

De acuerdo a la bibliografía, este insecto es considerado el patógeno más destructivo del agave, lo que genera pérdidas en rendimiento a la industria del Tequila, 25%. Mezcal, 24-46.4%. Henequén, 40%. Ornamentales, 40%. Agroquímica, 9% (Solís-Aguilar *et al.*, 2001; Camino *et al.*, 2002; Valdes *et al.*, 2004; Servín, Tejas, Arce, y L. Robert, 2006; Aquino *et al.*, 2014).

4.3.2. Aspectos biológicos de *Scyphophorus acupunctatus*

El adulto de *Scyphophorus acupunctatus* se le encuentra con frecuencia en la base de las hojas, raíz principal y dentro de plantas adultas de *Agave* spp., aunque en infestaciones severas se le encuentra en el cogollo y escapo floral. Está presente todo el año pero es más abundante en los meses de lluvia, tiene hábitos crepusculares y aunque prefiere plantas maduras también se le encuentra en plantas jóvenes (Gonzales *et al.*, 2007; Aquino Bolaños *et al.*, 2010).

Las hembras ovipositan 2 a 4 huevos por semana en un periodo de seis meses en el tejido blando de hojas o dentro de las piñas barrenadas donde se lleva acabo todo el ciclo de crecimiento (Solís, 2001). Una vez que eclosionan los huevos, las larvas se empiezan a alimentar del tallo barrenándolo y formando galerías. La larva antes de pupar construye un “cocón” formado con tejido fibroso y detritos de tallo de agave. Una vez que termina de pupar, el adulto se queda en el “cocón” varios días para después alimentarse de la piña y encontrar pareja. La copula se puede dar dentro de la misma piña donde emergió el nuevo adulto o en otra, esto

dependiendo de la disponibilidad de tejido para ovoposición y alimentación (Solís *et al.*, 2001).

4.3.3. Ciclo biológico de *Scyphophorus acupunctatus*

Esta varía dependiendo de los factores ambientales y del hospedero (**Cuadro 2**). El periodo de huevecillo va de 3 a 12 días, sin embargo la duración del estado larval es descrito como muy variable debido a que cada tipo de hospedero tiene diferentes nutrientes, afectando al crecimiento de las larvas que pueden ir desde 3 estadios larvales en 58 días (*Agave atrovirens*) a 11 estadios larvales en 108 días (*Agave fourcroydes*). Los estados de pre pupa y pupa se completan de 3 a 10 días y 12-16 días respectivamente (Lock, 1969; Siller, 1985; Ramírez 1993 citados por Figueroa-Castro, 2009; Bravo *et al.*, 2003). La fase adulta también suele variar de 8 meses a 1 año y medio.

Cuadro 2. Ciclo biológico de *Scyphophorus acupunctatus* en diferentes agaváceas.

Autor	Planta	Huevo	Larva	Pupa	Adulto	Días a madurez
Siller, 1985	Maguey pulquero (<i>Agave atrovirens</i>)	8	58	13	-	81
Valdés <i>et al.</i> , 2010	Nardo (<i>Polianthes tuberosa</i>)	5.5-5.9	34.9-54.2	9-10	413.8-433.7	70.1
Aquino <i>et al.</i> , 2010	Agave mezcalero (<i>Agave spp</i>)	7.7±1.4	65.2±11.1	16.5±2.8	186.8±10.4	89.4

Las diferentes duraciones en el ciclo biológico de *Scyphophorus acupunctatus* divergen en varias generaciones por año de acuerdo al tipo de agave (**Cuadro 3**).

Cuadro 3 Generaciones por año de *Scyphophorus acupunctatus*.

Autor	Cultivo	Generaciones por año
Bravo, 2003	<i>Agave</i> spp.	1.2-2.6
Aquino <i>et al.</i> , 2010	<i>Agave</i> spp.	1.4
EPPO, 2006	<i>Agave fourcroydes</i>	5

No se tiene del todo conocida la cantidad de generaciones en las diferentes especies de agave.

4.3.4. Descripción morfológica

Bravo *et al.* (2003) menciona que *Scyphophorus acupunctatus* presenta una metamorfosis completa: huevo, larva, pupa, adulto.

4.3.4.1. Huevo

Es de forma ovoide, alargada, con longitud de 1.5 a 1.75 mm y un diámetro de 0.5-0.7 mm. Recién depositado es de color blanco cremoso, con el corion suave y delgado membranoso (**Figura 2**). A medida que se aproxima a la eclosión se torna ligeramente de color amarillo (Bravo *et al.*, 2003; CABI, 2018).

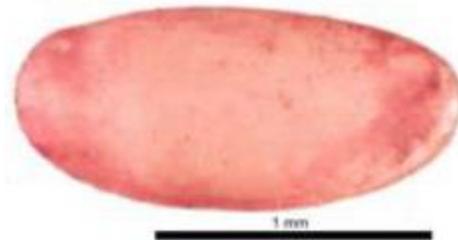


Figura 2. Huevo de *Scyphophorus acupunctatus* (González-Hernández, H.)

4.3.4.2. Larva

Cuerpo robusto, arrugado, curvado, ápodas y con la cabeza café oscura, el resto del cuerpo es de color blanco cremoso y de textura suave (Figura 3). Las larvas recién emergidas son del tamaño del huevecillo pero en completo desarrollo miden 18 mm con un ancho máximo de 9mm. El último segmento abdominal es curvado hacia arriba y posee dos proyecciones carnosas que son más largas que anchas conocidas como “urogonfis”, cada proyección lleva 3 setas alargadas. Se observan 11 instares larvarios, diferenciados por el tamaño de la cápsula cefálica (Bravo *et al.*, 2003; CABI, 2018).



Figura 3. Larva de *Scyphophorus acupunctatus* (Figueroa-Castro, P.)

4.3.4.3. Pupa

Pupa de tipo exarata (se distinguen el pico, patas, paquete de alas y antenas) esta etapa de desarrollo la realiza en cocones dentro de la piña o en el suelo cerca de la base de la planta (**Figura 4**). Es de 15-19 mm de longitud. En las primeras horas la pupa es de color entre amarillo, amarillo pálido y café, después adquiere una coloración café oscuro; los paquetes alares, patas y pico “rostrum” se pueden ver a los lados y bajo la superficie del cuerpo (Solis, 2001; González *et al.*, 2007).



Figura 4. Pupa de *Scyphophorus acupunctatus* (Figueroa-Castro, P.)

4.3.4.4. Adulto

De color negro, en algunas ocasiones rojizo, aplanado dorsalmente (**Figura 5**). Mide de 12 a 15 mm de longitud, las antenas están insertadas en la base del rostro, el funículo antenal es de seis segmentos, el segundo segmento no es de la misma longitud que el tercer segmento, mientras que el segmento terminal es dos veces más ancho o tan amplio como su longitud. El mazo antenal es compacto con la parte apical esponjosa y retraída, cóncava, no visible lateralmente, no tiene escamas o setas dorsales y es aplanado dorsalmente élitros fuertemente esclerosados, estriados y glabros. Las patas protorácias son ligeramente más largas que las meso y meta torácicas, los machos tienen una hilera doble de setas tibiales, más largas y más densas que las de la hembra; la pro tibia con pelos muy largos y abundantes; tarso con el tercer segmento dilatado, bilobulado, liso ventralmente, excepto por una hilera densa, uniforme de setas erectas de color amarillo a lo largo del borde apical. El abdomen está compuesto de 10 segmentos, aunque ventralmente solo se observan cinco segmentos (esternitos) dorsalmente solo 8 (terguitos), el resto de los segmentos se encuentran plegados dentro del cuerpo y modificados en los órganos de reproducción (genitalia). (Siller, 1985 y Booth *et al.*, 1990 citados por Figueroa Castro, 2009; CABI, 2018).

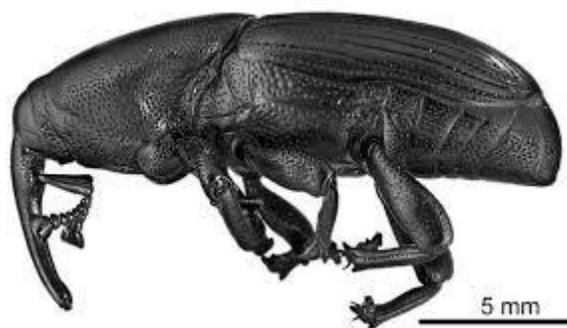


Figura 5. Adulto de *Scyphophorus acupunctatus* (Valdez Carrasco, J)

4.3.5. Daños ocasionados por *Scyphophorus acupunctatus*

Scyphophorus acupunctatus genera dos tipos de daño, el primero conocido como daño directo: causado por la larva del picudo al barrenar la base de hojas y piña. El hábito alimenticio de la larva puede causar la muerte de plantas en menos de un año. El ataque es más agresivo en plantas de más de cuatro años debido al contenido de azúcares pero también pueden atacar plantas jóvenes de 1 a 3 años e incluso hijuelos (Solís Aguilar J. F., 2001; Aquino *et al.*, 2006). Por otro lado, también se han encontrado poblaciones altas de larvas de picudos en plantas con pudrición avanzada de cogollo. Se menciona que el picudo puede causar hasta un 24.5% de daño en piñas de agave tequilero, un 10.26% de daño en piñas de agave mezcalero y reportan que la pérdida en dichas piñas oscila entre 5 y 29 kg por piña. En el cultivo del nardo (*Polianthes tuberosa*) se reportan pérdidas de 37 a 69% de bulbos/ha⁻¹ (Camino *et al.*, 2002).

El segundo tipo de daño es el indirecto provocado por la entrada de insectos plaga y fitopatógenos como bacterias, hongos y levaduras por la zona barrenada hecha por adultos y larvas. Los fitopatógenos generan tejido necrosado o en proceso de descomposición, lo cual disminuye la calidad de la piña. Debido a que los adultos van de una planta a otra se les ha señalado como vectores de patógenos, los cuales van en el cuerpo y aparato bucal del picudo, y son distribuidos en la planta por las larvas, ya que éstas raspan y perforan las piñas (Aquino Bolaños, *et al.*, 2006).

4.3.6. Dinámica poblacional

Scyphophorus acupunctatus se encuentra presente todo el año, pero los picos poblacionales más altos coinciden con los meses de mayor precipitación al año, es decir a mayor precipitación mayor población de *Scyphophorus acupunctatus* (Bravo *et al.*, 2003; Aquino *et al.*, 2007), en cuanto a temperatura, este requiere de un total de 2,225 grados días, teniendo como base 10°C (Espinosa *et al.*, 2005).

4.4. Manejo de *Scyphophorus acupunctatus*

El control es principalmente a base de insecticidas sintéticos, sin embargo, su efectividad es baja debido a que el producto aplicado no llega hasta las larvas, pupas y adultos que se alojan dentro de las plantas, en algunos lugares se realiza control cultural mediante la “jima” fitosanitaria, que consiste en eliminar plantas con síntomas de marchitez (CESAVEG, 2011). Recientemente el control legal hizo su aparición en 2003 con la publicación de la Norma Oficial Mexicana NOM-083-FITO-2003, la cual menciona los requisitos para producción y movilización de material propagativo del agave tequilero con el objetivo de limitar la dispersión de plagas de importancia económica. Otros métodos de control como el genético, etológico, biológico y mecánico se encuentran tomando mayor importancia debido al bajo impacto en el agro ecosistema, bajos costos de implementación y por el incremento de productos orgánicos (Álvarez, 2000; Ruiz-Montiel *et al.*, 2003).

4.4.1. Control químico

Bolognesi (2003) señala que la aplicación de agroquímicos es el medio más eficaz y aceptado para la protección de las plantas contra las plagas. Así mismo asegura que el uso de estos productos ha contribuido significativamente a la productividad agrícola no obstante, son potencialmente mutágenos ya que pueden inducir alteraciones cromosómicas o daño en el ADN, a lo cual se le conoce como

genotoxicidad. Mismo que se presenta en personas que están expuestas por largos periodos de tiempo a dichos agroquímicos, como son los agricultores, los aplicadores de plaguicidas y los trabajadores de las fábricas que manipulan los productos que vienen del campo. Además, está demostrado que muchos de los compuestos químicos como lo son plaguicidas, perduran en el medio ambiente lo cual expone a todas las personas de manera inevitable a dichos residuos. CESAVEG (2011) señala la importancia de ir disminuyendo la aplicación de productos químicos para la protección de enemigos naturales, usar equipo de protección para evitar daños a la salud y en el caso de plagas como escamas y piojos, exponer la plaga a la intemperie y a los plaguicidas. Pérez (1989) y Ruiz-Vega *et al.* (2015) señalan que debido a que *Scyphophorus acupunctatus* crece en el interior de las piñas del agave, conocido como ciclo de vida tipo críptico, es difícil que los insecticidas generen acción alguna. No obstante el uso de malathion, endosulfan, carbaryl, azinfos metílico y lambda cyalotrina genera altos porcentajes de efectividad en el control de esta plaga (Pineda, 1983; Solís, 2001; González *et al.*, 2007).

4.4.2. Control cultural

Son diversas las actividades que se realizan para el control cultural como son: la “jima” fitosanitaria, que es la eliminación de plantas que presentan daños por picudo o síntomas de marchites (Castañeda, 2002; Paniagua, 2002). La limpieza de malezas evita el establecimiento de plagas, ya que se ha observado bajos niveles de infestación de *Scyphophorus acupunctatus* cuando el cultivo se encuentra libre de malezas (CESAVEG, 2011). Por último el monitoreo o muestreo continuo de plagas y enfermedades en cada fase del cultivo desde antes de la siembra en los hijuelos hasta antes de la cosecha en plantas adultas para actuar con tiempo y evitar infestaciones severas (Arredondo y Espinosa, 2005; CESAVEG, 2011).

4.4.3. Control etológico

Este se basa en el manejo de plagas a partir de sustancias químicas naturales que modifican el comportamiento del insecto, incluye el uso de semioquímicos como: feromonas, kairomona, repelentes, alomonas y disuasivos (PHYTOMA, 2008). Valdés-Rodríguez *et al.* (2004), Valdés *et al.* (2005) y Ruiz *et al.* (2008) han realizado estudios con trampas cebadas con feromonas o tejido de agave que actúan como kairomona para el monitoreo y control de *Scyphophorus acupunctatus*. Actualmente se busca mejorar las cualidades de las trampas con estas sustancias (López-Martínez, Alia-Tejacal, Andrade-Rodríguez, García-Raírez, y C. Rojas, 2011; Figueroa-Castro *et al.*, 2016).

4.4.4. Control biológico

El control biológico: “Acción de parasitoides, depredadores o patógenos para mantener la densidad de población de otro organismo (por lo general es plaga) a un promedio más bajo de lo que ocurriría en su ausencia” (Hajek, 2004), es una estrategia de manejo de plagas que no representa ningún riesgo tanto para el que lo aplica como para el agroecosistema y si se considera que el cultivo del agave tiene un ciclo productivo largo, este tipo de control es un elemento fundamental en el manejo integrado de plagas ya que puede coadyuvar a controlar a *Scyphophorus acupunctatus*. Por lo tanto es indispensable el conocimiento, uso y conservación de los enemigos naturales de esta plaga (**Cuadro 4**) (Bravo *et al.*, 2003; Velásquez *et al.*, 2006; Figueroa-Castro, 2009; Hernández-Vite, Guzmán-Franco, González-Hernández, Solís-Aguilar y Rubio-Cortés, 2010).

Cuadro 4. Enemigos naturales de *Scyphophorus acupunctatus*

Tipo	Especie
Parasitoides	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Alienoclypeus insolitus</i> Shenefelt (Hymenoptera: Braconidae) • <i>Cyclaulacidae</i> spp. (Hymenoptera: Braconidae)
Depredadores	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Hololepta</i> spp. • <i>Placodes ebeninus</i> Lewis • <i>Phyleurus valgus valgus</i> (Oliver) • <i>Lioderma yucateca</i> Marseul • <i>Lioderma cacti</i> Marseul • <i>Ectatomma ruidum</i> (Roger, 1860) • <i>Odontomachus bauri</i> (Hymenoptera: Formacidae: Ponerinae)
Patógenos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) • <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) Sorokin • <i>Verticillum</i> spp. • <i>Isaria fumosorosea</i> • <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> • <i>Steinernema</i> spp.

Fuentes: (Velázquez J., *et al.*, 2006; Aquino bolaños, 2006; Hernández-Vite, Guzmán-Franco, González-Hernández, Solís-Aguilar y Rubio-Cortés, 2010; Lencina y Gallego, 2014; Ruiz-Vega *et al.*, 2015; V.T, D., y D.Ch, 2015; Figueroa-Castro *et al.*, 2017).

4.5. Nematodos entomopatógenos

Son patógenos obligados de insectos y utilizados como agentes de control biológico de plagas con importancia económica (Kaya y Stock, 1997, Shapiro-Ilan, Han y Dolinski, 2012). Poinar (1990) y Campos-Herrera *et al.* (2006) mencionan que son parte de la gran cadena trófica y juegan un papel importante en los ecosistemas naturales y agrícolas. Los NEP's son organismos con potencial para el control de insectos por sus características comunes de depredación, parasitismo, patogenicidad, búsqueda activa de su huésped, alto nivel reproductivo, fácil reproducción in vitro y su facilidad al aplicar en campo.

Nematodos entomopatógenos (NEP's) de la familia Heterorhabditidae y Steinernematidae son los más utilizados para el control de plagas agrícolas con excelentes resultados tanto a nivel laboratorio como en campo debido a que poseen bacterias simbiotas (*Photorhabdus* y *Xenorhabdus*) que enferman al insecto mientras que el nematodo los parasita al mismo tiempo (Allard y Moore, 1989; Smiths, 1997). Se tienen reportes del uso de NEP's en el cultivo del agave para el control de *Scyphophorus acupunctatus* donde Aquino *et al.* (2006) menciona que nematodos entomopatógenos de las especies *H. bacteriophora* y *S. feltiae* necesitaron de 12 días para eliminar el 100% de las larvas y 50 días para el 100% de adultos en laboratorio. En campo obtuvo una eficiencia del 90.31% contra adultos de *Scyphophorus acupunctatus*. Ruiz-Vega *et al.* (2003, 2015), han estudiado el uso de NEP's para su uso contra larvas de *Scyphophorus acupunctatus*, con una concentración de 1000 nematodos/ larva obtuvo una eficiencia del 100%. También menciona que es necesaria mayor información de cepas nativas provenientes de cultivares de agave, ya que solo se han evaluado cepas exóticas.

4.5.1. Hospederos

H. bacteriophora y *Steinernema* spp. cuentan con un amplio grupo de hospederos, los insectos susceptibles pertenecen a los órdenes lepidóptera (*Spodoptera littoralis*), Tisanóptera (*Frankliniella occidentales*), Dipetara (*Ceratitis capitata*), Homóptera (*Bemisa tabaci*), Isóptera (*Reticulotermes* spp), Orthóptera (*Locusta migratoria*) y Coleóptera (*Conotrachelus psidii* Marshall, *Cosmopolites sordidus*, *Scyphophorus acupunctatus*, *Hypothenemus hampei* Ferrari). Además se ha comprobado un importante efecto nematostático contra nematodos fitopatógenos (*Meloidogyne* spp., *Globodera* spp.) (García del Pino, 1994; Molina Acevedo y López Núñez, 2003; IDEBIO, 2004; García M. *et al.*, 2007; Delgado-Ochica y Sáenz Aponte, 2012).

4.5.2. Ciclo de vida de los nematodos entomopatógenos

Las etapas invasivas conocidos como juveniles infectiles en estadio larvario 3 (JI3) entran por los orificios naturales del insecto como la boca, ano o espiráculos (orificios que sirven para la respiración), en el caso del NEP *Steinernema* spp llevan en la parte anterior de su intestino células de la bacteria simbiote *Xenorabdus*, cuando los JI3 entran al hemocele del hospedero, el NEP libera las bacterias y estas empiezan a multiplicarse rápidamente en la sangre del insecto, lo que mata al insecto por septicemia (infección generalizada) en un periodo de 24-48 h (**Figura 6**). A su vez las bacterias producen condiciones favorables para la alimentación de los nematodos quienes requieren de la bacteria para reproducirse y completar su ciclo dentro del insecto durante 2 o 3 generaciones, esto en función del alimento disponible. Los JI3 de la última generación vuelven a incorporar las bacterias en su tubo digestivo y salen al exterior en busca de un nuevo hospedador (Adams y Nguyen, 2002). En el caso de *H. bacteriophora* este se diferencia de *Steinernema* en que la bacteria simbiote que portan es *Photorhabdus* y la primera generación de JI es hermafrodita (García del Pino, 1994; Adams y Nguyen, 2002).

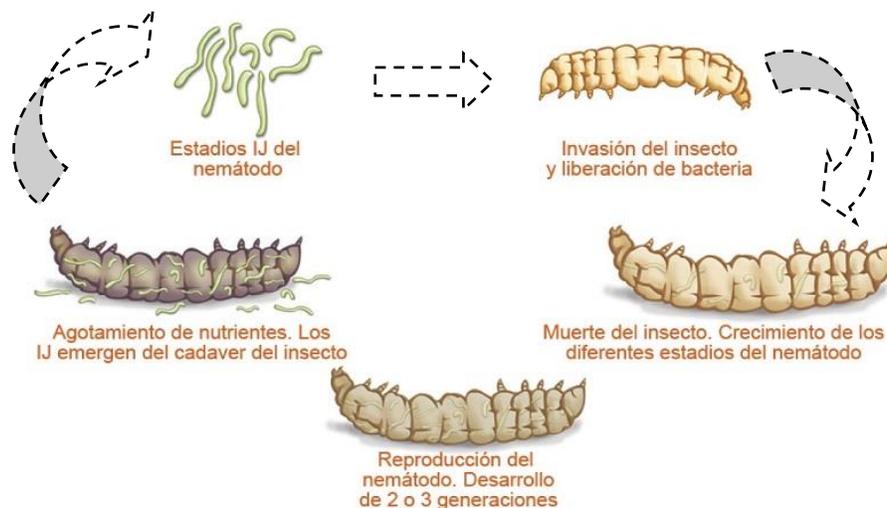


Figura 6. Ciclo de vida de NEP's (OBA, 2018)

4.5.3 Bacterias simbiotes

Xenorhabdus y Photorhabdus son bacterias asociadas a los NEP's del genero Steinernema y Heterorhabditis respectivamente. Estas bacterias son patogénicas cuando son inyectadas al hemocele del insecto. Durante los últimos 20 años se han encontrado estas bacterias en todos los aislamientos de NEP's sin embargo otras bacterias pueden encontrarse asociadas al género *Steinernema* (Lynsenko y Weiser, 1974). Las bacterias le confieren coloraciones a los cadáveres en donde se desarrollan, en los nematodos Steinernemátidos presentan coloraciones ocre, amarillo-marrón o negro, mientras en heterorabdítidos los colores son rojo, púrpura, anaranjado o en ocasiones verde. El estudio de las propiedades de cada bacteria simbiote como los procesos patogénicos, enzimas proteolíticas, capacidad de colonizar diferentes hábitats, generación de metabolitos especiales así como conocer los mecanismos de acción y rutas metabólicas son de gran importancia para producir simbiotes in vitro de calidad, así como proveer a la bacteria los requerimientos nutricionales necesarios para la reproducción de NEP's (Boemare, 2002).

4.5.4 Problemática en el uso de nematodos entomopatógenos

Aunque en laboratorio los NEP's pueden considerarse patógenos generalistas por su capacidad de matar a diversas especies de insectos (Klein, 1990; Poinar y Jr, Hom, 1986), no es así en campo debido a que factores bióticos y abióticos producen resultados variables, reducen su vida útil y actividad residual (**Cuadro 5**) (Tamez-Guerra, Rodriguez-Padilla, y Galán-Wong, 2005; García del Pino, 1994).

Cuadro 5. Factores que afectan la acción de NEP's

Factor	Tipo	Características
Biótico	Hospedero	<ul style="list-style-type: none"> • Morfología del hospedador (filtros en los espiráculos, membranas peritricas). • Respuesta inmunológica y comportamiento del insecto.
	Nematodo	<ul style="list-style-type: none"> • Radio de invasión • Capacidad y Radio de penetración • Retención de la cutícula en el tercer estadio larvario • Tipo de reproducción • Competición con otros nematodos • Tipo de Búsqueda del hospedero • Enemigos naturales y enfermedades
	Bacteria	<ul style="list-style-type: none"> • Establecimiento y radio de multiplicación. • Producción de proteoenzimas • Producción de sustancias antibacterianas
Abiótico	Temperatura	<ul style="list-style-type: none"> • Comportamiento lento a bajas temperaturas (<10-15°C). • Inactivación a altas temperaturas (>30-40°C).
	Suelo	<ul style="list-style-type: none"> • Suelos con pequeñas partículas inhiben el movimiento del nematodo mientras suelos Arenosos y arcillosos facilitan su movimiento.
	Humedad	<ul style="list-style-type: none"> • Juega un papel importante debido a que los nematodos ocupan una capa fina de agua para su movilidad. • Evita su desecación.
	Radiación ultravioleta	<ul style="list-style-type: none"> • Inactiva y mata a los nematodos en minutos. • Baja viabilidad. • Baja infectividad.
Antropogénico	Aplicación de fertilizantes y plaguicidas	<ul style="list-style-type: none"> • Afectan la sobrevivencia de NEP's.

Fuentes: Glazer y Lewis, 2000; Forschler y Gardner, 1991; García del Pino, 1994; Glazer, 2002; Koppenhöfer, 2007.

El factor más citado que limita el modo de acción de los NEP's y que no permite su éxito en campo es la deshidratación (Shapiro, Winfred, y Robert, 1985; Molina Acevedo y López Núñez, 2003). Sin embargo, actualmente hay muchos grupos de investigación trabajando en la mejora de la actividad residual de organismos vivos para el control biológico.

El uso de aditivos, coadyuvantes o formulaciones y novedosas técnicas de aplicación pueden mejorar la patogenicidad y sobrevivencia en campo (Tamez-Guerra *et al.*, 2005). Aun así la habilidad limitada de NEP's para tolerar la luz ultravioleta, desecación o temperaturas extremas es un reflejo de su evolución histórica en el suelo.

4.6. Coadyuvantes y formulaciones

Un coadyuvante tiene la finalidad de mejorar la capacidad del ingrediente activo, manteniendo o mejorando sus propiedades físicas o químicas (Calister S.A, 2004). Una formulación es la preparación de un producto a base de un ingrediente activo y la adición de sustancias que son funcionales (coadyuvantes) o no activas (inertes o aditivos). Las formulaciones buscan mejorar la actividad de, absorción, distribución, almacenamiento, estabilidad del ingrediente activo. Ejemplos de ingredientes activos pueden ser: adsorbentes, agentes biológicos, agentes antimicrobianos, antioxidantes, dispersantes, humectantes, preservativos, solventes, surfactantes y absorbentes de rayo UV (Leiva, 2011).

Aunque las formulaciones para nematodos tienen su base en las formulaciones de plaguicidas tradicionales, los nematodos presentan retos únicos como la necesidad de altas cantidades de oxígeno y humedad, atenuar los efectos de las temperaturas extremas, mejorar la liberación y distribución de los JI en agua, mantener o mejorar la capacidad de infección y mejorar su capacidad de sobrevivencia después de la aplicación en campo (Shapiro, Winfred, y Robert, 1985; Molina Acevedo y López Núñez, 2003; Koppenhöfer y Grewal, 2005).

4.7. Uso de aceites asociados a nematodos entomopatógenos

El uso de aceites minerales y vegetales asociados a NEP's ha sido de vital importancia para mejorar las condiciones de estos y generar formulaciones que mejoren la eficiencia contra insectos plaga en diferentes agro ecosistemas. Shapiro, Mclane, y Bell, (1985) probaron la habilidad de productos a base de aceite para retardar la evaporacion del medio liquido donde se encontraban NEP's de la especie *Sterneinema feltiae* para su uso contra larvas de *Lymantria dispar*. Encontraron que algunos materiales mostraron toxicidad para la larva de esta especie asi como para el nematodo. Molina Acevedo y López Núñez (2003), utilizaron Tween (conocido como Polisorbato) y glicerol (sustancia que se encuentra en los aceites) al 1% como formulacion para evitar la desecacion de nematodos *Heterorhabditis bacteriophora* y *Sterneinema feltiae*, encontrando resultado positivos en la supervivencia y antidesecacion. Monteiro, *et al.* (2014) evaluarón el aceite esencial de *Lippia sidoides* asociados con NEP's para el control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodae) donde el aceite genero un control de 50% de la plaga mientras que combinado con NEP's la efectividad fue del 100%, demostrando que la asociacion de aceites y NEP's puede ser utilizada en el control de *Rhipicephalus microplus*. Krishnayya y Grewal (2002), Utilizaron aceite de Neem asociado con el nematodo *Sterneinema feltiae* para conocer la viabilidad de esta formulación., encontrando que el aceite no afectava de ninguna manera al nematodo.

Es necesario evaluar la compatibilidad de los aceites y agentes de control biológico para saber si hay efectos sinérgicos (mejora la patogenicidad, evita desecación o mejora de la sobrevivencia del nematodo) o antagonicos (fitotoxicidad, actividad nematicida o aumentan las enfermedades tanto en plantas como nematodos) (Shapiro, Mclane, y Bell, 1985; Monteiro *et al.*, 2014). Webster y Bronskill (1968), Nash y Fox (1982), hacen mencion de la necesidad de seguir la busqueda de materiales quimicos y combinaciones de estos para incrementar la efectividad de los controladores biologicos ya sea como coadyuvantes o aditivos.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del área de estudio

La primera fase del proyecto se llevó a cabo en el laboratorio de control biológico del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) IPN unidad Oaxaca, ubicado en la calle Hornos núm. 1003, Col. Noche Buena, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca (Figura 7) ($17.027768^{\circ}\text{N}$ y $-96.720090^{\circ}\text{O}$ /1564m.s.n.m.). Después se realizó la fase de campo en los sitios de Infiernillo ($16.908817^{\circ}\text{N}$ $-97.208884^{\circ}\text{O}$ /1910 m.s.n.m.), Sola de Vega ($16.514591^{\circ}\text{N}$ - $96.980658^{\circ}\text{O}$ /1410 m.s.n.m.) y Santa Catarina Minas ($16.751702^{\circ}\text{N}$ - $96.618528^{\circ}\text{O}$ /1652 m.s.n.m.).



Figura 7. Localización del Laboratorio de Control Biológico.

5.2. Obtención y reproducción de material biológico

5.2.1. Obtención de nematodos entomopatógenos

Las cepas de NEP's utilizadas, fueron donadas por el Laboratorio de Control Biológico del CIIDIR-Unidad-Oaxaca y en campo se realizaron muestreos en adultos de *S. acupunctatus* para la obtención de cepas de nematodos nativas en las zonas productoras de *Agave* spp. en el periodo de mayo a junio del 2017. Se siguió la metodología propuesta por Kaya y Stock (1997), y de Ames y Cañedo (2004); con pinzas entomológicas se colectaron insectos en estado adulto de *Scyphophorus acupunctatus* vivos y muertos en el interior y exterior de piñas de *Agave* spp. los insectos colectados se colocaron por separado en botes plásticos de 40 mL de capacidad. Posteriormente se llevaron a laboratorio donde los insectos muertos se remojaron en hipoclorito de sodio (NaClO al 0.5% del producto activo durante 5 minutos) para después enjuagarlo tres veces con agua destilada estéril. Una vez enjuagados se colocaron en cámaras húmedas (cajas de Petri de 90mm*15mm con discos de papel filtro, Whatman No.44 y selladas con papel parafilm®) a temperatura ambiente $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los insectos muertos se colocaron en cámaras húmedas. Se revisaron cada 24 h durante quince días con un microscopio estereoscopio (Velab, modelo VE-S3) para detectar la emergencia de nematodos entomopatógenos. Los insectos que presentaron NEP's se colocaron en trampas White para su recolección y posterior verificación como entomopatógenos.

5.2.2. Pruebas de patogenicidad en larvas de *Galleria mellonella*

Para verificar la entomopatogenicidad de los nematodos recolectados se siguió la metodología de (Girón, Sánchez-García, Pérez-Pachecho, Ruiz-Vega, y Aquino-Bolaños, 2012), los aislados con posibles entomopatógenos, se utilizaron para inocular larvas de *Galleria mellonella* en cajas de Petri con papel filtro, cada una con 3 larvas, se les aplico una suspensión acuosa de 300 juveniles infectiles (JI's).

Por un periodo de 5 días se registró la mortandad de larvas. Las muestras positivas (larvas de *Galleria mellonella*) se colocaron en trampas White para verificar la emergencia de NEP's. Los nematodos colectados se colocaron en botellas de cultivo celular de 250 mL de capacidad con tapa ventilada y refrigerados a 10 °C.

5.2.3 Reproducción de nematodos entomopatógenos

La reproducción de NEP's se trabajó bajo condiciones de humedad relativa (H.R.) de $56 \pm 8.36\%$ y una temperatura 26 ± 2 °C. Se realizó el cultivo de las especies *Heterorhabditidae bacteriophora*, *Sterneinema carpocapsae*, *Sterneinema glaseri* y *Heterorhabditidae bacteriophora nativa* en larvas de *Galleria mellonella* siguiendo el método propuesto por Kaya y Stock (1997). A los tres días después de la inoculación los cadáveres fueron colocados en cajas Petri con discos de papel filtro en su interior (diámetro de 90 mm, Whatman No. 44) y fueron revisados diariamente para observar la emergencia de NEP's. Una vez que emergieron, fueron cosechados y puestos en agua destilada estéril en botellas para cultivo celular de 250 mL de capacidad con tapa ventilada y refrigerados a 10 ± 2 °C.

5.3 Supervivencia de nematodos entomopatógenos en aceites vegetales.

Se evaluó la supervivencia de los NEP's de las especies *Heterorhabditis bacteriophora nativa*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Sterneinema glaseri* y *Sterneinema carpocapsae*, inmersos en cuatro aceites vegetales: aguacate (*Persea americana*), higuera (*Ricinus communis*), toronja (*Citrus x paradisi*) y neem (*Azadirachta indica*) a tres concentraciones; 20, 30 y 40% de aceite con 50 ± 5 nematodos entomopatógenos (Cuadro 6). En total se evaluaron 48 tratamientos, mas 1 un testigo

Cuadro 6. Tratamientos evaluados en la supervivencia de nematodos entomopatógenos

Nematodos (50±10 NEP's)	Aceites	Concentración (%)
<i>H. bacteriophora</i>	<i>Azadirachta indica</i>	20,30, 40
<i>S. glasieri</i>	<i>Persea americana</i>	
<i>S. carpocapsae</i>	<i>Ricinus communis</i>	
<i>H. bacteriophora</i> nativa.	<i>Citrus x paradisi</i>	

Con una micro pipeta con capacidad de 0.2 a 2000 μ L (Rainin, E-man Hybrid) se tomaron las siguientes cantidades: aceites vegetales (AV), NEP's y agua destilada estéril (ADE). Para la concentración al 20% (200 μ L AV + 200 μ L NEP's + 600 μ L de ADE); concentración del 30 % (300 μ L AV + 200 μ L NEP's + 500 μ L ADE), y al 40% (400 μ L AV+ 200 μ L NEP's + 400 μ L ADE) el volumen manejado por cada tratamiento fue de 1000 μ L. Cada tratamiento se colocó en cajas Petri de plástico (55 mm largo * 15mm de altura). Las observaciones de supervivencia se realizaron cada 24 h por un periodo de 120 h, para esta determinación se trabajó con 9 repeticiones por tratamiento, y un testigo.

5.3.1 Análisis estadístico

Los porcentajes de supervivencia se convertirán con la fórmula de arco seno. Posteriormente, los valores de 0 se les dio valor de 1. Se realizó un análisis de varianza y se establecieron las diferencias entre las medias a través de la prueba de Tukey con alfa al 0.05% con el empleo del programa estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

5.4. Evaluación de mortandad de adultos de *Scyphophorus acupunctatus* utilizando NEP's asociados a aceites vegetales en laboratorio.

Se evaluó la mortalidad de adultos de *Scyphophorus acupunctatus* con la cepa *H. bacteriophora* asociada a los aceites *Persea americana* y *Azadirachta indica*. En una caja de Petri (55 mm de ancho * 15mm de alto) se colocó un insecto adulto de *Scyphophorus acupunctatus*, a estos se les alimento con hojas de *agave* spp. maduro y sobre el alimento se agregaron los tratamientos como se indican en el (Cuadro 7).

Cuadro7. Efectividad de aceites y nematodos entomopatógenos en la mortalidad de adultos de *Scyphophorus acupunctatus*.

Tratamiento	Nematodo /insecto	(%) Aceites/insecto
1	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> nem/500	<i>Persea americana</i> 25
2	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> nem/500	<i>Persea americana</i> 50
3	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> nem/1000	<i>Persea americana</i> 25
4	<i>Heterorhabditis. bacteriophora</i> nem/1000	<i>Persea americana</i> 50
5	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> nem/500	<i>Azadirachta indica</i> 25
6	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> nem/500	<i>Azadirachta indica</i> 50
7	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> nem/1000	<i>Azadirachta indica</i> 25
8	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> nem/1000	<i>Azadirachta indica</i> 50
9	Sin nematodos	<i>Persea americana</i> 25
10	Sin nematodos	<i>Persea americana</i> 50
11	Sin nematodos	<i>Azadirachta indica</i> 25
12	Sin nematodos	<i>Azadirachta indica</i> 50
13	Testigo	Agua destilada esteril

5.4.1 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los porcentajes de mortandad se convirtieron con la fórmula de arco seno, los valores en 0 se les sumo el valor de 1 para la estandarización de los datos. Se realizó el análisis de varianza y se establecieron las diferencias entre las medias a través de la prueba de Tukey con el empleo del programa estadístico SPSS.

5.5 Determinación de la dosis letal 90 (DL90).

Para esta determinación se realizó un análisis probit con intervalos de confianza del 95%, mediante análisis computacional con el programa IBM SPSS Statistics.

5.6 Efectividad de nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales en adultos de *Scyphophorus acupunctatus* en campo.

Antes de la aplicación de tratamientos en campo, se realizó un muestreo en plantas de *Agave* spp. con un grado de afectación 3 y 4 para determinar la cantidad de adultos de *Scyphophorus acupunctatus* presente en cada planta y de esta forma determinar las concentraciones a aplicar en el experimento.

La aplicación de tratamientos se realizaron por las tardes de 6:00-7:00 p.m, las aplicaciones iniciaron el 24/10/2018 y culminaron el día 10/11/2018 en plantaciones de *Agave* spp. de 8 a 10 años de edad, con un grado de afectación 3 y 4, en Santa Catarina Minas Oaxaca. La superficie ocupada por la parcela experimental fue de 5200 m². La dosis a evaluar fue obtenida del experimento mortandad de adultos de *Scyphoporus acupunctatus* utilizando nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales en laboratorio y la concentración se determinó por las pruebas Probit (*Heterorhabditis bacteriophora*, 8000 nematodos/insecto y 50% *Persea americana*), el cual se comparó con el testigo

(Malatión 500 concentrado emulsionable), con 6 repeticiones por tratamiento. La aplicación se realizó con un aspersora manual de 2 L de capacidad marca Pantera, en la cual se vertió 1 L de agua con una concentración de 60 000 nematodos y 1L de aceite de *Persea americana*. La dosis utilizada en el testigo de Malatión (ingrediente activo) fue la especificada por el fabricante.

La aplicación se dirigió a la parte basal de la planta y se cubrió la totalidad de la piña de agave, se realizaron 3 aplicaciones por intervalos de 3 días.

Para la evaluación en la efectividad del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* asociados al aceite *Persea americana*, las plantas de agave se partieron completamente utilizando una jima con maso o un machete y se registró el número de adultos de *Scyphophorus acupunctatus* vivos y muertos, los cuales son llevados a laboratorio de microbiología y determinar la mortandad real, realizando los postulados de Koch.

5.7 Análisis estadístico

La determinación de las diferencias en la efectividad de las distintas variables se obtuvo mediante el análisis de varianza; los datos de porcentaje fueron transformados por arco seno y las medias se compararon a través de un análisis estadístico. Se trabajó con el programa IBM SPSS 22. Las variables a evaluar fueron el número de adultos muertos por planta.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Supervivencia de nematodos en aceites vegetales

Se muestran resultados obtenidos de nematodos entomopatógenos asociados con aceites vegetales a diferentes concentraciones de aceites, donde se puede observar supervivencia hasta de 3 días o 72 h.

A las 24 h el nematodo *S. glaseri* combinado con los aceites *P. americana*, *A. indica*, *R. comunis* y *C. paradisi* a las concentraciones del 20, 30, 40 % fue el nematodo que obtuvo mayor promedio de supervivencia con el (100 %) seguido por el nematodo *H. bacteriophora* (92 %), *H. bacteriophora* cepa nativa (82.4 %) y *S. carpocapsae*, la cual en los aceites *P. americana* y *A. indica* alcanzó un 12 %, en *C. paradisi* tuvo un 34 % de supervivencia. El aceite a este mismo tiempo que presentó mayor mortalidad en los nematodos fue *C. paradisi*. Lo que se refiere al testigo sus porcentajes de supervivencia fueron mayores del 94.5 con los nematodos *S. glaseri*, *H. bacteriophora*, y *S. Carpocapsae* (**Figura 8**).

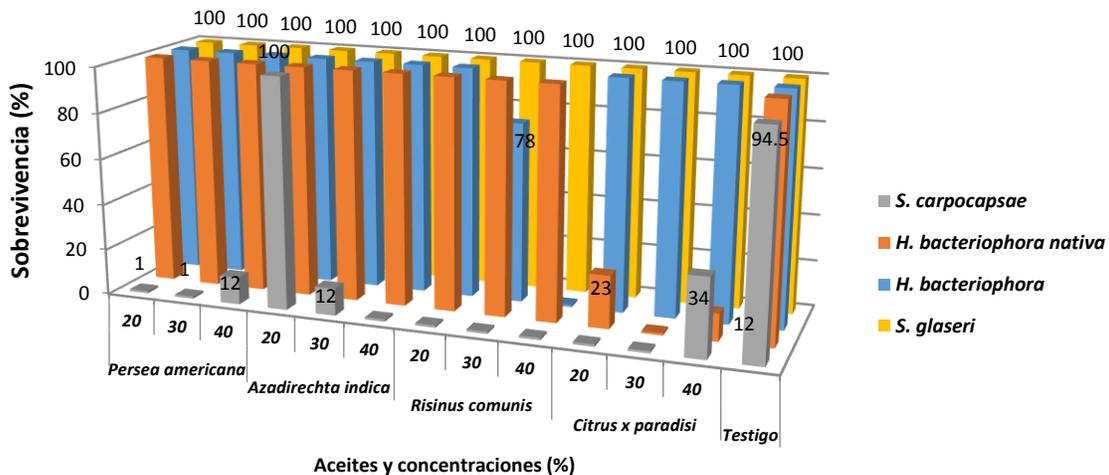


Figura 8. Promedios de supervivencia de 4 NEP's en 4 aceites vegetales a 3 concentraciones a las 24 h.

A las 48 h hubo una disminución de mas del 42 % de los tratamiento *H. bacteriophora* y *H. bacteriophora* Nativa + *P. americana*, *A. indica*, *R. comunis* y *C. paradisi* al 20, 30 y 40 % de concentacion de aceites. El nematodos *S. glaseri* presento el mismo comportamiento con una disminucion en la sobrevivencia del (62.25%) en los mismos aceites y las concentraciones señaladas. El nematodo con menor sobrevivencia fue *S. carpocapsae* (9.8%). Es de resaltar que el nematodo *H. bacteriophora* en el aceite *P. americana* al 30 y 40 % presento una sobrevivencia de mas del 70 % y nuevamente el nematodo *H. bacteriophora* con *Azadiracta indica* al 30% de concentración con una sobrevivencia media del 74.22 % (Figura 9).

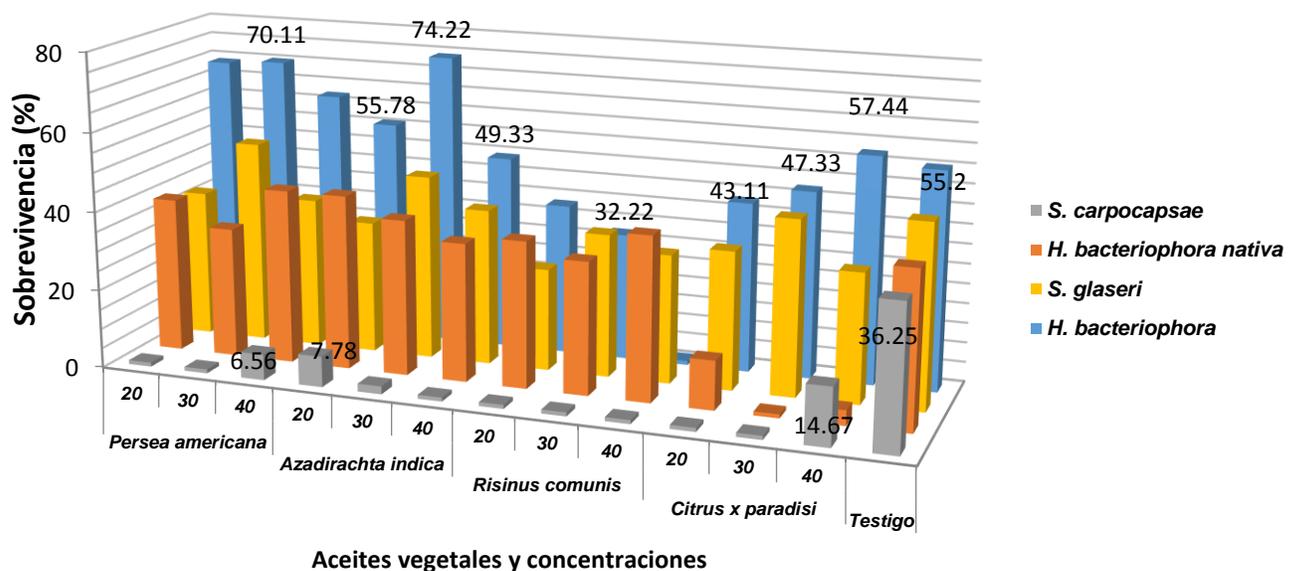


Figura 9. Sobrevivencia de 4 nematodos entomopatógenos en 4 aceites vegetales a las 48 h.

Es de rasaltar que a las 72 h se encontró sobrevivencia solo del nematodo entomopatogeno *H. bacteriophora*, siendo viable para su aplicación en adultos de *S. acupunctatus*. *H. bacteriophora* con el aceite *Azadirachta indica* al 30 % presento un 57.44% de nematodos vivos y a una concentracion del 20 y 40 %, presentó sobrevivencias del 32.67 y 29.67 %. Otro aceite no tan agresivo con *H. bacteriophora* fue el aceite *Persea americana* a la misma concentracion del 30 % presentó 42.33 % de viabilidad, y al 40 % presento una sobrevivencia de un 28.33 de *H. bacteriophora* y finalmente *Citrus paradisi* al 40 % presento un 18.33 % (**Figura 10**). Comparados los tratamientos con el testigo sugiere que los NEP's son compatibles con los diferentes adherentes y que las concentraciones de aceite vegetal son determinante en la supervivencia de los nematodos.

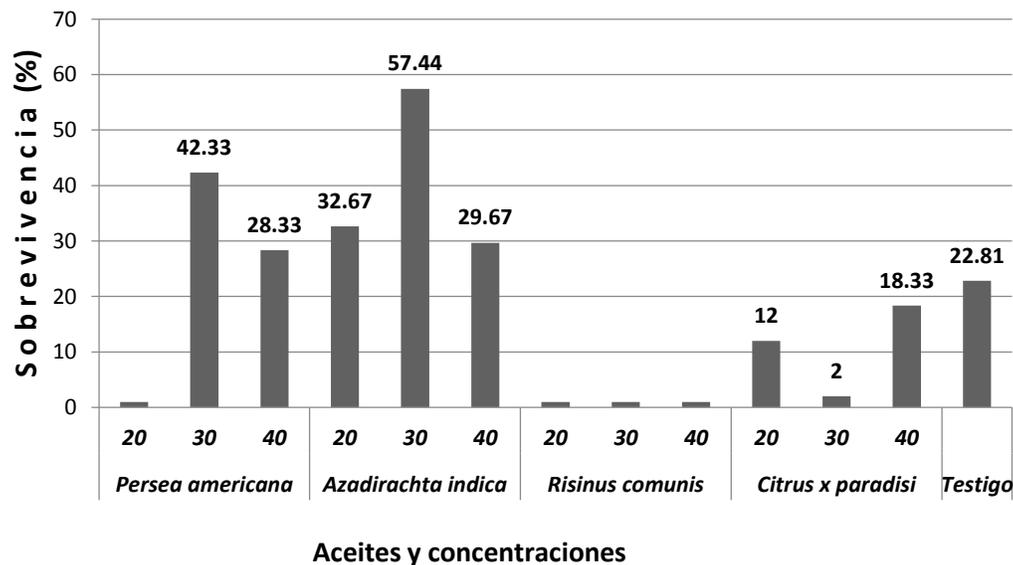


Figura 10. Sobrevivencia a las 72 h de *H. bacteriophora* en 4 aceites y 3 concentraciones.

La comparación de medias entre aceites a las tres concentraciones (20, 30, 40%) a las 72 h señala que los aceites *Azadiracta indica*, *Persea americana* no son diferentes estadísticamente pero sí lo son al compararse con *Citrus x paradisi* y *Ricinus comunis* (**Figura 11**). Es de resaltar que los tres aceites permiten la sobrevivencia de NEP's pertenecientes a las especies *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae* y *S. glaseari* en intervalos de un 10.77 a 39.92 % a las 72 h, tiempo suficiente para que estos organismos actúen contra adultos y larvas de *S. acupunctatus*.

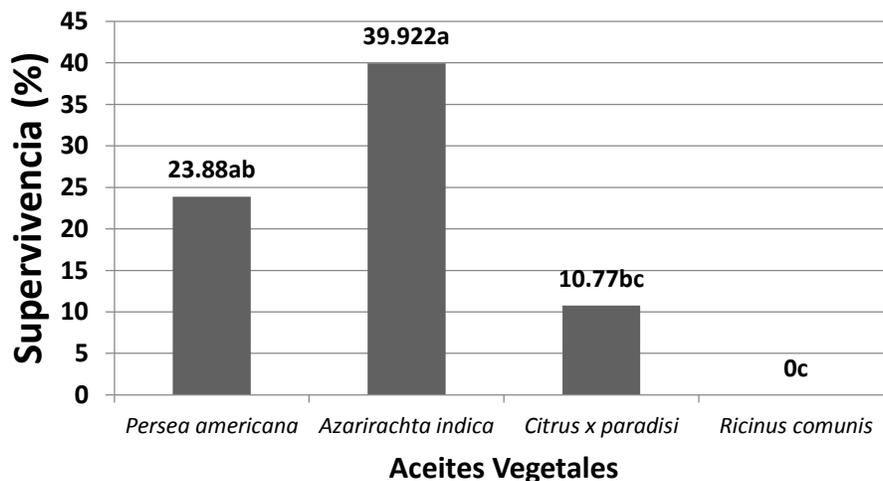


Figura 11. Comparación de medias en la sobrevivencia de *H. bacteriophora* en aceites vegetales con alfa al 0.05.

Basándonos en estos resultados y en la comparación de medias, utilizamos los tratamientos que contenían los aceites *Persea americana* y *Azadiracta indica* con el NEP *H. bacteriophora* para realizar el experimento 2: Efectividad de cepas de nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales en adultos de *Scyphophorus acupunctatus* en condiciones de laboratorio.

Castruita Esparza (2017), utilizó aceite de oliva y coco junto con los nematodos *Sterneinema carpocapsae* y *Sterneinema colombiense*, señalando que a las 48 h todos sus tratamientos mostraron presencia de nematodos vivos, siendo el mejor el aceite de oliva con el nematodo *Sterneinema carpocapsae*. A las 96 h el aceite de coco y oliva con el nematodo *Sterneinema carpocapsae* presentaron una sobrevivencia de 11 y 9% respectivamente. En el presente trabajo obtuvimos una sobrevivencia media del 9.8- 51 % a las 48 h, siendo *S. carpocapsae* el nematodo que obtuvo mayor número de decesos con sobrevivencia media de 9.8%. El mejor tratamiento fue el nematodo *H. bacteriophora* + el aceite *Azadirachta indica* con sobrevivencia del 57.44% (**Figura 10**). A su vez al comparar nuestros resultados con Castruita Esparza (2017) nosotros obtuvimos una sobrevivencia máxima de 72 h mientras que los datos del autor citado fueron hasta las 144 h con el nematodo *S. carpocapsae*.

Molina Acevedo y López Núñez (2003), utilizaron glicerina y Tween, combinados y por separado para evaluar la sobrevivencia de *Heterorhabditis bacteriophora* y *Sterneinema feltiae*. Encontró que la combinación de ambos compuestos a una concentración del 1% permitieron la sobrevivencia del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* por 168h en condiciones de laboratorio. En el presente trabajo, el NEP *Heterorhabditis bacteriophora* sobrevivió 72 h.

Krishnayya y Grewal (2002), evaluaron los efectos del aceite de *Azadirachta indica* y otros compuestos con el nematodo entomopatógeno *S. feltiae*. El aceite de *Azadirachta indica* fue probado con y sin un jabón antibacteriano líquido para conocer la toxicidad en NEP's, Cerca de 1500 nematodos de *S. feltiae* fueron combinados en 0.5 ml de agua y mezclados con 0.5 ml de cada solución química para después colocarlos en placas multiposito a 18°C. La mortalidad a los químicos fue medida a las 24, 72 y 120 h. Los tratamientos presentaron diferencia significativa. *Azadirachta indica* puro como aceite, no causó mortalidad significativa en *S. feltiae* incluso a una incubación de 120h. Sin embargo el aceite *Azadirachta indica* combinado con jabón y el jabón solo, afectaron la viabilidad del nematodo significativamente. El aceite de *Azadirachta indica* combinado con jabón

y el jabon, provocaron una mortalidad de 23 y 25% despues de 120 h respectivamente. En el presente ensayo el aceite de *Azadirachta indica* permitio una sobrevivencia del 40% a las 72h, no siendo tan benevolente como lo reportado por Krishnayya y Grewal (2002) (**Figura 11**).

Shapiro, Mclane, y Bell, (1985) sugieren evaluar la sobrevivencia de nematodos en diversos productos y el efecto que tienen en la progenie para conocer si efecta el parasitismo, crecimiento o reproduccion y en un futuro determinar su eficacia como coadyuvantes para el control biologico. Los resultados obtenidos, sugieren rangos cortos de vida en laboratorio para los NEP's que van del 9.8 al 57% al utilizar coadyuvantes (aceites vegetales), esto quiere decir que los coadyuvantes ejercen presion en la sobrevivencia de los NEP's siendo necesario seguir con la busqueda de coadyuvantes que mejoren el tiempo de sobrevivencia. De acuerdo con Glazer (2002), las tasas de sobrevivencia se encuentran vinculadas al metabolismo de los NEP's, donde la temperatura y humedad son factores determinantes. Patel *et al.* (1997) menciona que *S. carpocapsae* es una de las especies mas tolerantes al estrés hidrico, sin embargo en nuestro experimento fue el que tuvo menor sobrevivencia a las 24, 48 y 72h.

6.2. Efectividad de nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales en adultos de *Scyphophorus acupunctatus* en condiciones de laboratorio.

A las 360 h en condiciones de laboratorio se encontró diferencia significativa entre dos tratamientos (*H. bacteriophora* 500 NEP's + *P. americana* 50% y *H. bacteriophora* 1000 NEP's + *P. americana* 50%) con el 100 % de efectividad en adultos de *S. acupunctatus* y el resto de los tratamientos incluyendo al testigo.

A las 24 y 72 h sobresalen dos tratamientos *H. bacteriophora* 1000 JI + *P. americana* 50 % y el tratamiento con el aceite *A. indica* al 25 % con un 42.9 % de mortandad en adultos de *S. acupunctatus*. A las 144 h los porcentajes de mortandad de insectos adultos de *S. acupunctatus* se elevaron hasta un 71.4% con los tratamientos *H. bacteriophora* 500 NEP's + *P. americana* 25%, *H.*

bacteriophora 1000 NEP's + *P. americana* 50% y *A. indica* al 25 %. A las 288 y 360 h resaltan dos tratamientos con porcentajes del 100 %, *H. bacteriophora* 500 y 1000 NEP's + *P. americana* 50%, El testigo no presento mortandad alguna en los 15 días que duro el experimento (**Cuadro 8**).

Cuadro 8. Porcentaje de mortandad en adultos de *S. acupunctatus* utilizando *H. bacteriophora* y dos aceites vegetales.

No	Tratamiento (%)	Tiempo (h)				
		24	72	144	288	360
1	<i>H. bacteriophora</i> 500 nem + <i>P. americana</i> 25	14.3	28.6	71.4	71.4	71.4 bc
2	<i>H. bacteriophora</i> 500 nem + <i>P. americana</i> 50	0	14.3	28.6	85.7	100 a
3	<i>H. bacteriophora</i> 1000 nem + <i>P. americana</i> 25	14.3	28.6	42.9	42.9	57.1 cd
4	<i>H. bacteriophora</i> 1000 nem + <i>P. americana</i> 50	42.9	42.9	71.4	100	100 a
5	<i>H. bacteriophora</i> 500 nem + <i>A. indica</i> 25	28.6	42.9	71.4	71.4	71.4 bc
6	<i>H. bacteriophora</i> 500 nem + <i>A. indica</i> 50	28.5	28.5	57.1	57.1	71.4 bc
7	<i>H. bacteriophora</i> 1000 nem + <i>A. indica</i> 25	0	14.3	14.3	28.6	42.9 cd
8	<i>H. bacteriophora</i> 1000 nem + <i>A. indica</i> 50	0	14.3	14.3	42.9	57.1 cd
9	<i>Persea americana</i> 25	14.3	14.3	14.3	14.3	42.9 cd
10	<i>Persea americana</i> 50	0	28.6	57.1	85.7	85.7 ab
11	<i>Azadirachta indica</i> 25	0	0	14.3	14.3	57.1 cd
12	<i>Azadirachta indica</i> 50	0	0	42.9	57.1	71.4 bc
13	Testigo	0	0	0	0	0 e

Esto contrasta con los resultado de Aquino Bolaños, Ruiz-Vega, y Iparraguirre Cruz, (2006) quienes utilizaron los NEP's *S. feltiae* y *S. carpocapsae* a una concentracion de 9000 JI encontrando un 60% de mortandad en adultos de *S. acupunctatus* a los 44 dias despues de la inoculacion. Esto sugiere que la mezcla de aceite asociado con el nematodo entomopatogeno puede generar sinergismo, favoreciendo la actividad de los NEP's. La acción del aceite *Persea americana* sobre el adulto de *Scyphophorus acupunctatus* puede deberse a lo reportado por Rodriguez-Saona, F. Maynard, Phillips, y Trumble, (1999) donde mencionan su efecto insecticida, generado por dos compuestos naturales: 2-(pentadecyl)-furano

y (Heptadecyl) furano. Esto indica que los furanos naturales provenientes del aceite de *Persea americana* ejercen efectos antagónicos a la sobrevivencia de *Scyphophorus acupunctatus* a concentraciones de 500µL/ml, siendo una opción orgánica para el manejo integrado de plagas. No se tienen reportes del uso de aceite de *Persea americana* para el control de *Scyphophorus acupunctatus*, tampoco sobre el uso de un bioinsecticida comercial que contengan los ingredientes activos señalados. Sin embargo el uso de NEP's es ya conocido en el control biológico por obtener resultados favorables en laboratorio y campo. Amador, *et al.* (2015), obtuvieron un 88-100% de control por infección de nematodos en un periodo de 72 h en condiciones de laboratorio al inocular larvas de picudo del banano (*Cosmopolites sordidus*) a concentraciones de 100, 500 y 1000 nematodos, pero no observó mortalidad en adultos. Sepúlveda-Cano, López-Nuñez, y Soto-Giraldo, (2008) midieron la mortandad de adultos de *Cosmopolites sordidus*, obteniendo una mortandad del 8-58% con *H. bacteriophora* a una concentración de 100 NEP's / 25µl. Benavides, Quintero, y López (2010), reportan la mortandad que generan *Heterorhabditis bacteriophora* contra el adulto de la broca del café (*Hypothenemus hampei*), consiguiendo un 25% en adultos a las 120 h (5 días), siendo menores a los resultados de este trabajo, donde a los 6 días, obtuvimos un 38% de mortandad en adultos del picudo del agave.

Diversos trabajos de control biológico llevados a cabo con NEP's, se centran en el manejo de estados inmaduros (larvas) de insectos plaga, obteniendo altos niveles de mortandad que van del 80-100% en un lapso de 2 a 4 días (Naranjo, Montero, y Aponte, 2012; Caccia, Del Valle, Doucet, y Lax, 2014; Campos-Herrera *et al.*, 2015). Sin embargo son pocos los que detallan esta efectividad en insectos que se encuentran en estadio adulto. Es por ello la importancia de este trabajo al evaluar NEP's en la fase adulta de *Scyphophorus acupunctatus*.

6.3. Efecto de aceites en la mortandad de adultos de *S. acupunctatus* en condiciones de laboratorio.

Se puede observar que a las 24 h el aceite *P. americana* al 25 % presento un mortandad de 14.3 en adultos de *S. acupunctatus*. A las 72 h este mismo aceite solo que al 50 % duplico su efectividad con un 28.6 %. A las 288 y 360 sobresalen dos tratamientos los puestos con *P. americana* al 50 % con un 85.7% y el aceite *A. indica* al 50 % con un 71% de efectividad en adultos de *S. acupunctatus*. Es de resaltar que los aceites cumplen para matar a insectos plagas, ademas de servir como adherentes de organismos biologicos como son los nematodos y hongos entomopatogenos (**Figura 12**).

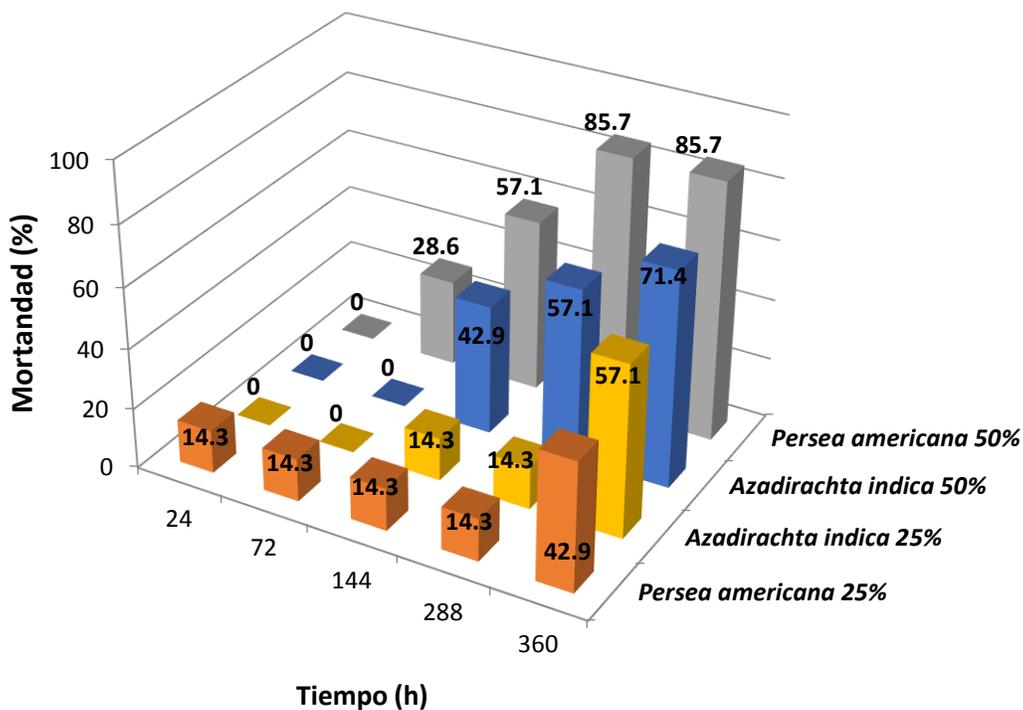


Figura 12. Mortandad en adultos de *Scyphophorus acupunctatus* utilizando aceites vegetales en laboratorio.

6.4 Obtención de la DL 90

La DL 90 de Juveniles Infectiles y aceite de *Persea americana* fueron obtenidos mediante análisis PROBIT. La DL 90 para Juveniles infectiles obtenida fue de 8000 nematodos por adulto de *Scyphophorus acupunctatus*, mientras que la DL 90 para el aceite de *Persea americana* fue al 57% (570 000 ppm) de concentración. El resultado obtenido en el PROBIT para NEP's, es parecido al que se presenta Aquino Bolaños *et al.* (2006), 9000 nematodos entomopatógenos/adulto de *Scyphophorus acupunctatus*. obteniendo resultados de mortandad a los 44 y 60 días después de la aplicación, representando un control del 50-60% y del 70-100% respectivamente.

En cuanto a la dosis letal del aceite de *Persea americana*, el PROBIT nos arrojó un DL90 de 570 000 ppm (57% de concentración). No se ha reportado el uso de *Persea americana* para el control de *Scyphophorus acupunctatus*, sin embargo Pacheco Sánchez (2009), utilizo aceite de *Ricinus comunis* a una concentración de 100,000 ppm para el control del adulto de *Scyphophorus acupunctatus* sin encontrar mortandad después de 72 h. En este trabajo, con la concentración de 500 000 ppm (50%) de aceite de *Persea americana* sin NEP's, obtuvo diferencias significativas con el testigo a las 24, 48, 72, 144, 288 y 360 h, presentando a las 72 h una mortandad media del 28.6% contra adultos de *Scyphophorus acupunctatus* en laboratorio (**Figura 12**). esto indica que el aceite de *Persea americana* tiene propiedades que afectan la sobrevivencia de *Scyphophorus acupunctatus*.

Valdes Estrada *et al.* (2016), evaluarón extractos etanolicos de 7 plantas (*Tagetes erecta*, *Argemone mexicana*, *Allium sativum*, *Tagetes erecta*, *Chenopodium ambrosioides*, *Prosopis laevigata*, *Bursera grandiolia*) a una concentracion de 500 ppm en larvas y adultos de *Scyphophorus acupunctatus*, donde el extracto etanolic de "Adormidera" (*Argemone mexicana*), genero mortandad en larvas de hasta 56% a los 24 dias pero sin éxito en adultos. Por

lo tanto, El uso de extractos vegetales (aceitosos o etanolicos) como el de *Persea americana*, puede producir efectos degenerativos o de mortandad en larvas y adultos de *Scyphophorus acupunctatus*, sugiriendo que hace falta conocer mas sobre las propiedades que contienen diferentes extractos de plantas endemicas, con la finalidad de utilizarlas como bioinsecticidas o coadyuvantes con NEP´s en el manejo integrado de plagas.

6.5 Efectividad de nematodos entomopatógenos asociados a aceites vegetales en adultos de *Scyphophorus acupunctatus* en condiciones de campo.

Para este experimento, previo a la aplicación se realizó un muestreo a 10 plantas de *Agave* spp. para conocer el número de *Scyphophorus acupunctatus* en estado adulto por planta. Se encontró un promedio de 20 insectos/planta, este dato se ocupó para conocer la cantidad de NEP´s a aplicar. La concentración de aceite fue al 50%. El experimento no presento diferencia significativa, por ende nuestra hipótesis nula se cumple (**Figura 13**). El tratamiento aceite de *Persea americana* con *Heterorhabditis bacteriophora* fue el que obtuvo mayor número de insectos muertos por planta, lo que represento un 15-45% de mortandad en 15 días .

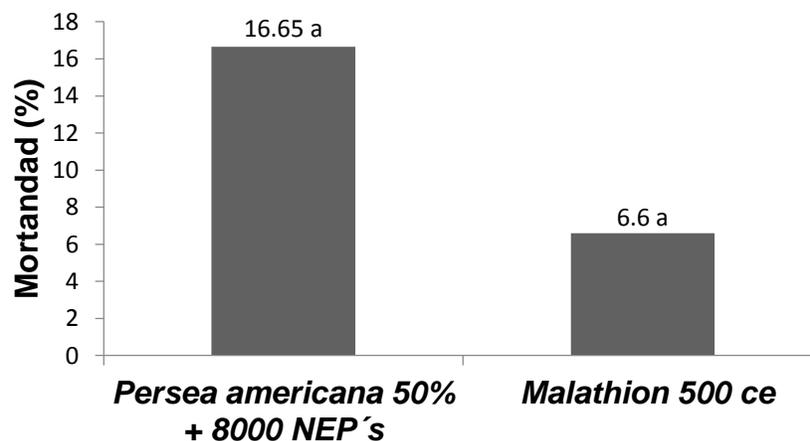


Figura 13. Mortandad media de tratamientos aplicados en campo. Las letras muestran diferencia significativa con alfa al 0.05%

Comparado con Aquino Bolaños, Ruiz-Vega, y Iparraguirre Cruz (2006) quienes obtubieron resultados de un 90-100% de mortandad en adultos del picudo del agave en 50 dias, nos señala que nuestros resultados son prometedores pero que hace falta evaluar a un tiempo mayor, para conocer si el efecto del tratamiento aceite/nematodo causa un 100% de mortandad en campo. Delgado-Gamboa, Ruiz-Vega, Ibarra-Rendón, Aquino-Bolaños, & Giron-Pablo (2015), obtuvieron un porcentaje de mortandad del 52-100% a las 72h en larvas de *Scyphophorus acupunctatus* con diversos NEP's a una concentracion de 100-1000 JI, sin embargo en ninguno tratamiento figura *Heterorhabditis bacteriophora*. Jiménez, López, y Soto (2012), Obtuvieron un 79.94% de mortandad a las 90 h en adultos de *M.h. sericeus* (Coleóptera: Curculionidae) utilizando 1000 NEP's de *Heterorhabditis bacteriophora*, lo cual es una dosis menor que la utilizada en el presente estudio, pero coincidimos en el uso de *Heterorhabditis bacteriophora*. Con respecto a esto, Bedding y Miller, (1981); Chyzik *et al.* (1996); Dorschner *et al.*, (1989), utilizaron *Heterorhabditis bacteriophora* controlar curculionidos obteniendo resultados positivos en su control. Concluimos que *Heterorhabditis bacteriophora* registra mayor eficiencia en esta familia de insectos. En cuanto al tratamiento con malathion 500 i.a. este fue igual al tratamiento biologico (estadisticamente), sin embargo el tratamiento con mayor mortandad fue ocasionado por el tratamiento con aceite y nematodos lo que nos permite decir que es una alternativa viable como método de control para *Scyphophorus acupunctatus*. Reyes-Rosas *et al.* (2013), no encontraron diferencia significativa a las 72 h al comparar el control biologico y quimico de *Diaphorina citri*, utilizando diversos depredadores naturales y el insecticida Folimat® 1000. Sin embargo a las 264 h el insecticida fue mas efectivo, esto debido a la capacidad del insecticida quimico de persistir en el ambiente. Esto nos señala de nuevo que debe de evaluarse la mortandad a mayor numero de dias. En cuanto a la actividad de aceites para el control del picudo del agave en campo no se tienen registro pero Gutierrez-Ochoa, Valdés-Estrada, Hernández-Reyes, Aldana-Llanos, & Figueroa-Brito (2013), probaron en laboratorio aceite esencial de toronja para el control en larvas de *Scyphophorus acupunctatus* obteniendo un 99-100% de mortandad a los

48 días de haber iniciado el experimento. Sin embargo no se han realizaron pruebas a nivel de campo. Por ello es necesario evaluar en campo una mayor cantidad de agentes de control biológico asociados a aceites vegetales o coadyuvantes junto a novedosas formas de aplicación a nivel de laboratorio y campo.

VII. CONCLUSIONES

1. La sobrevivencia de nematodos entomopatógenos con los aceites *Persea americana* y *Azadirachta indica* generan una supervivencia de hasta 72h en laboratorio.
2. La asociación del aceite de *Persea americana* con el nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* tiene capacidad de control sobre el adulto de *Scyphophorus acupunctatus* en laboratorio a una concentración de 1000 nem y 500 µl/mL generando mortandad del 100%.a los 12 días.
3. El uso del aceite *Persea americana* sin ninguna cepa de nematodos entomopatógenos genero una mortandad del 85.7% en laboratorio y muestra una opción más para el control de plagas de manera organica.
4. El uso del nematodo *H. bacteriophora* con 8000 nem/insecto al 50% de aceite de *Persea americana*/mL, genera una mortandad media en adultos de *Scyphophorus acupunctatus* del 15-45% a los 15 días después de la aplicación en campo.

VIII. RECOMENDACIONES

- Se sugiere seguir evaluando diferentes tipos de aceites esenciales y compararlos con *Persea americana*, para conocer si hay diferencia en la mortandad de especies de nematodos entomopatógenos y adultos de *Scyphophorus acupunctatus* en agave.
- Seguir en la búsqueda de agentes de control biológico para tener más opciones en el combate del adulto de *Scyphophorus acupunctatus*.
- Evaluar la combinación de *Scyphophorus acupunctatus* asociado a aceite de *Persea americana* en parcelas demostrativas para que los agricultores observen como las formulaciones biológicas minimizan el efecto nocivo de *Scyphophorus acupunctatus*.
- Conocer las características químicas de los aceites a evaluar para saber si contienen alguna molécula tóxica para insectos o nematodos.
- Se recomienda evaluar la mortalidad que genera la descendencia de NEP's asociados a aceites a adultos de *Scyphophorus acupunctatus* para conocer si no pierden características de entomopatógenos o sobrevivencia.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, B. J., y Nguyen, K. B. (2002). Taxonomy and Systematics. En R. Gaugler, *Entomopathogenic Nematology* (págs. 1-34). UK. London: CAB International 2002.
- Albert, L. (1988). Contaminacion de los alimentos por productos químicos. Instituto nacional de investigaciones sobre recursos naturales bioticos, 32.
- Allard, G., y Moore, D. (1989). Nematodes as control agents for coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Scolitydae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 54(1), 45-48.
- Amador, M., Molina, D., Guillen, C., Parajeles, E., Jiménez, K., y Uribe, L. (2015). Utilización del nematodo entomopatógeno *heterorhabditis atacamensis* en el control del picudo del banano *Cosmopolites sordidus* en condiciones in vitro. *Agronomia Costarricense*, 47-60.
- Antonio P. Terán-Vargas, A. A.-D.-A. (2012). Eficacia biológica de los insecticidas para controlar el gorgajo del agave, *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), en México. *Southwestern Entomologist*(37), 47-53.
- Aquino Bolaños, T., Pozo Velázquez, E., Álvarez Hernández, U., y Delgado Gamboa, J. (2014). Host Plants of the Agave Weevil *Scyphophorus acupunctatus* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae) in Oaxaca, México. *Southwestern Entomologist*, 39(1), 163-169.
- Aquino Bolaños, T., Ruiz Vega, J., y Martínez Sánchez, D. (2010). Ecología y biología de *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), plaga del agave mezcalero en los Valles Centrales de Oaxaca. *Naturaleza y Desarrollo*, 8(1), 59-68.
- Aquino Bolaños, T., Ruiz-Vega, J., y Iparraguirre Cruz, M. (2006). Manejo Integrado de (*Scyphophorus acupunctatus*) (=interstitialis) Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) Plaga del agave mezcalero: pérdidas y daños en Oaxaca, México. *UDO Agric.*(7), 175-180.

- Benavides, M., Quintero, V., y López, N. (2010). Evaluación en el laboratorio de nematodos entomopatógenos nativos para el control de la broca del café. *Cenicafe*, 119-131.
- Boemare, N. (2002). Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. En R. Gaugler, *Entomopathogenic Nematology* (págs. 35-56). Wallingford, UK: CABI Publishing.
- Bravo Mosqueda, E., Arredondo Velásquez, C., Espinosa Paz, H., y Canseco López, A. (2003). Sugerencias para el manejo integrado del picudo del maguey mezcalero *Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal. Oaxaca: INIFAP.
- CABI. (29 de marzo de 2018). *Compendio de Especies Invasivas*. Obtenido de *Scyphophorus acupunctatus*: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/49421>
- Caccia, M., Del Valle, E., Doucet, M., y Lax, P. (2014). Suceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa gelotopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae) al nematodo entomopatógeno *Steinernema diaprepesi* (Rhabditida: Steinernematidae) bajo condiciones de laboratorio. *Revista Chilena de investigación agrícola*, 123-126.
- Calister S.A. (2004). www.calister.com.uy. Obtenido de Criterios para el uso de Aditivos y Coadyuvantes: http://www.calister.com.uy/wp-content/uploads/2016/06/1311182916Criterios_para_el_uso_de_Aditivos_y_Coadyuvantes.pdf
- Camino Lavin, M., Castrejón Gómez, V., Figueroa Brito, R., Aldana Llanos, L., y Valdes Estrada, M. (2002). *Scyphophorus acupunctatus* (coleoptera: curculionidae) attacking *Polianthes tuberosa* (Liliales: agavaceae) in Morelos, México. *Florida entomologist*, 392-393.
- Campo, L. J. (18 de febrero de 2012). *México país de magueyes*. Obtenido de <http://www.jornada.unam.mx/2012/02/18/cam-pais.html>
- Campos-Herrera, R., Escuer, M., Labrador, S., y Gutiérrez, C. (2006). Aislamiento, identificación y caracterización ecológica de nematodos entomopatógenos de la rioja. *Zubía*(23-24), 27-58.
- Campos-Herrera, R., Jaffuel, G., Chiriboga, X., Blanco-Pérez, R., Fesselet, M., y Turlings, T. (2015). Traditional and molecular detection methods reveal

- intense interguild competition and other multitrophic interactions associated with native entomopathogenic nematodes in Swiss tillage soils. *Plant and Soil*, 237-255.
- Castro, P. F. (2009). *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) con feromona de agregación en plantaciones de agave tequilero en jalisco. México: Universidad Autonoma de Chapingo.
- Castruita Esparza, G. (2017). Manejo del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* Smith) con organismos biológicos (nematodos entomopatógenos) en maíz en Oaxaca". Oaxaca, México: CIIDIR-Oaxaca.
- CESAVEG. (2011). *Manual de plagas y enfermedades del agave*. Comité estatal de sanidad vegetal del estado de Guanajuato. Irapuato, Guanajuato: CESAVEG.
- Colombo, M. (2000). *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae): Prima segnalazione per l' Italia. *Bolletino di Zollogia Agraria e di Bachicoltura.*, 165-170.
- Consejo Regulador del Mezcal. (2017). *Informe 2017*. Consejo Regulador del Mezcal. Oaxaca, Oaxaca: S/n.
- Consejo Regulador del Tequila. (2017). <https://www.crtx/>. Obtenido de <https://www.crt.org.mx/>
- Delgado-Ochica, y Sáenz Aponte, A. (2012). Virulencia, producción y desplazamiento de nematodos entomopatógenos sobre larvas del picudo de la guayaba *Conotrachelus psidii* Marshall: (Coleoptera: Curculionidae) en laboratorio. *Universitas Scientiarum*, 17(3), 283-290.
- Domínguez, J. F. (2011). Distribucion, Biología y Etiología de los Insectos Dañinos en el Cultivo del Agave azul tequilero. *1er FORO DE DISCUSIÓN FITOSANITARIA EN EL CULTIVO DEL AGAVE AZUL TEQUILERO* (págs. 73-78). Jalisco: Digital Consejo Regulador del Tequila A. C.
- Flich, J., y Alonso Zarazaga, M. (2007). EL PICUDO NEGRO DE LA PITA O AGAVE, O MAX DEL HENEQUÉN, SCYPHOPHORUS ACUPUNCTATUS GYLLENHHAL, 1838 (COLEOPTERA: DRYOPHTHORIDAE): PRIMERA CITA PARA LA PENÍNSULA IBÉRICA. *PHORON*(41), 419-422.

- Forschler, B., y Gardner, W. (1991). Parasitism of *Phyllophaga hirticula* (Coleoptera: Scarabaeidae) by *Heterorhabditis heliothidis* and *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 396-407.
- García del Pino, F. (1994). Los Nematodos Entomopatógenos (*Rabditida*: *Steinernematidae* y *Heterorhabditidae*) presentes en Cataluña y su utilización para el Control Biológico de Insecto. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona.
- García.M., C. (1981). Lista de insectos y ácaros perjudiciales a los cultivos en México. *Fitofilo*, 62-64.
- Girón , P., Sánchez-García, J., Pérez-Pachecho, R., Ruiz-Vega, J., y Aquino-Bolaños, T. (2012). Isolation of entomopathogenic nematodes and control of *Phyllophaga vetula* Horn in Oaxaca, México. *African J. Biotechnology*, 16525-16531.
- Glazer, I. (2002). Survival biology. En R. Gaugler, *Entomopathogenic Nematology* (págs. 169-187). Wallingford, UK: CAB International.
- Glazer, I., y Lewis, E. (2000). Bioassays for entomopathogenic nematodes. En A. Navon, y K. Ascher, *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes* (págs. 229-247). Wallingford, UK: CAB International.
- Glazer, I., y Lewis, E. (2000). Bioassays for Entomopathogenic Nematodes. En A. Navon, y K. Ascher, *Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes* (págs. 229-248). Israel: CABI publishing.
- González-Castillo, M., y Quintos-Escalante, M. (2006). Insectos asociados al agave en el estado de Durango. *Vid supra*, 1(2), 10-12.
- GWENDOLYN L., W., y ROBERT L., S. (1986). Natural History and Ecology of *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) and its Associated Microbes in Cultivated and Native Agaves. *ANNALS OF THE ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA*, 354-340.
- Gwendolyn, L., y Robert, L. (1986). Historia natural y ecología de *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) y sus microbios asociados en agaves cultivados y nativos. *Anales de la Sociedad Entomologica de América*, 79(2), 334-340.

- Hajek, A. (2004). *Enemigos naturales: Una introducción al control biológico*. Cambridge UK: Cambridge University Press.
- Halfpenny, G. (1957). *Plagas que afectan a las distintas especies de Agave cultivadas en México*. México: Secretaría de Agricultura y Ganadería.
- Hernández-Vite, C., Guzmán-Franco, A., González-Hernández, H., Solís-Aguilar, J., y Rubio-Cortés, R. (2010). Entomopatógenos y su efecto en la sobrevivencia de adultos del picudo del agave *Scyphophorus acupunctatus*. *Congreso Nacional de Control Biológico* (págs. 42-45). Uruapan, Michoacán: INIFAP.
- Huastecas, C. d. (2013). El picudo *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal y su manejo en el agave tequilero (*Agave tequilana* F.A.C. Weber) variedad azul. IDEBIO. (2004). *Nematodos entomopatógenos*. Madrid: IDEBIO.
- Jiménez, J. A., López, J. C., y Soto, A. (2012). Patogenicidad de dos nemátodos entomopatógenos sobre *Metamasius hemipterus sericeus* (Coleoptera: Curculionidae). *Bol.cient.mus.hist.pat.*, 87-97.
- Kaya, H., y Stock, S. (1997). Techniques in insect nematology. En L. Lacey, *Manual of techniques in insect pathology* (págs. 281-324). London: Academic Press.
- Klein, M. (1990). Efficacy against soil-inhabiting insect pest. En R. Gaugler, y H. Kaya, *Entomopathogenic nematodes in biological control* (págs. 195-214). Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Koppenhöfer, A. M. (2007). Nematodes. En L. A. Lacey, y H. K. Kaya, *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (págs. 257-264). The Netherlands: Springer.
- Koppenhöfer, A., y Grewal, P. (2005). Compatibility and interactions with agrochemicals and other biocontrol agents. En R.-U. Ehlers, y D. Shapiro-Ilan, *Nematodes as biocontrol Agents* (págs. 363-381). Wallingford, UK: CABI Publishing.
- Krishnappa, P., y Grewal, P. (2002). Effect of Neem and Selected Fungicides on Viability and Virulence of the Entomopathogenic Nematode *Steinernema feltiae*. *Biocontrol Science and Technology*, 12, 259-255.

- Leiva, P. D. (2011). Coadyuvantes. En I. Pergamino, *Aplicacion eficiente de fitosanitarios* (págs. 1-13). Pergamino, Buenos Aires.
- Lencina, J. L., y Gallego, D. (2014). Una nueva especie invasora en el continente europeo, *Hololepta* (Leionota) *quadridentata* (Oliver 1789) (Coleoptera: Histeridae). *Archivos Entomologicos Galenos*, 161-163.
- Lichtfouse, E. (2009). Climate change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms. Grance: Springer.
- Lock, G. (1969). Sisal: Investigacion de sisal, treinta años en Tanzania (segunda ed.). Londres: Longmans.
- López-Martínez, V., Alia-Tejacal, I., Andrade-Rodríguez, M., García-Raírez, M., y C. Rojas, J. (2011). Daily activity of *scyphophorus acupunctatus* (coleoptera: curculionidae) monitored with pheromone-baited traps in field of mexican tubersa. *The Florida Entomologist*, 1091-1093.
- Lynsenko, O., y Weiser, J. (1974). Bacterias associated with the nematode *Neoplectana carpocapsae* and the pathogenicity of this complex for *Galleria mellonella* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 322-336.
- Maya, Y., Jiménez, M., y Palacios-Cardiel, C. (2011). El cardón *Pachycerus pringlei*, nuevo hospedero para *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) en Baja California Sur, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 83(3), 1041-1045.
- Mendoza, A. J. (2007). los agaves de mexico.
- Molina Acevedo, J., y López Núñez, J. (2003). Supervivencia y parasitismo de nematodos entomopatógenos para el control de *Hypothenemus hampei Ferrari* (Coleoptera: Scolytidae) en frutos de café. *Boletín de Sanidad Vegetal de Plaga*, 29, 523-533.
- Molina Molina, D. (2013). Contribucion al conocimiento de la distribucion actual de la especie invasora *Scyphophorus acupunctatus*, 1838 (Coleoptera: Dryophthoridae) en la Península Ibérica. *Revista Gaditana de Entomología*, 4(1), 11-16.
- Monteiro, C., Araújo, L., Amorim Gomes, G., Souza Senra, T., Calmon, F., Daemon, E., . . . Azevedo Prata, M. (2014). Entomopathogenic nematodes

- associated with essential oil of *Lippia sidoides* for control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res*, 113, 189-195.
- Naranjo, N., Montero, D., y Aponte, A. (2012). Primer reporte de patogenicidad por nematodos entomopatógenos sobre la chinche de los pastos *Collaria Scenica* Stål (Hemiptera: Miridae). *Entomotropica*, 117-125.
- Nash, R., y Fox, R. (1982). Field test of antidesiccants to extend the infection period of an entomogenous nematode, *Neoplectana carpocapsae*, against the colorado potato beetle. *Economic entomologist*, 97-101.
- Navarrete, G. (6 de febrero de 2015). El tequila símbolo de la economía jaliscience. *Milenio*. Recuperado el 20 de 8 de 2018
- Pacheco Sánchez, C. (2009). Efecto del extracto hidroetanólico de higuierilla *Ricinus communis* L. sobre el adulto del picudo del agave *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal. Yautepec, Morelos: IPN-CEPROBI.
- perez, D. A. (2007). *evaluacion de extratctos vegetales para el control del picudo del agave y nardo scyphophorus acupuntatus*.
- PHYTOMA. (abril de 2008). *PHYTOHEMEROTECA*. Obtenido de Semioquímicos en el manejo de plagas: ¿qué se ha conseguido durante los últimos 20 años y cuál es el futuro?: <https://www.phytoma.com/la-revista/phytohemeroteca/198-abril-2008/semioquimicos-en-el-manejo-de-plagas-que-se-ha-conseguido-durante-los-ultimos-20-anos-y-cual-es-el-futuro>
- Poinar, G. (1990). Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorabditidae. En H. Kaya, y R. Gaugler, *Entomopathogenic nematodes in biological control*. (págs. 23-62). Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Poinar, G., y Jr, Hom, A. (1986). Survival and horizontal movement of infective stage *Neoplectana carpocapsae* in the field. *Journal of Nematology*, 34-36.
- Pott, J. (1975). A Yucca borer *Scyphophorus acupunctatus* in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 414-416.
- Rodriguez-Saona, C., F. Maynard, D., Phillips, S., y Trumble, J. (1999). Alkylfurans: Effects of Alkyl Side-Chain Length on Insecticidal Activity. *Journal of Natural Products*, 191-193.

- Ruiz-Montiel, C., González Hernández, H., Leyva, J., Llanderal-Cazares, C., Cruz López, L., y Rojas, J. (2003). Evidencia de una feromona de agregación producida por el macho *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 96(4), 1126-1131.
- Ruiz-Vega, J., Delgado-Gamboa, J., Giron-Pablo, S., Ibarra-Rendón, J., y Aquino-Bolaños, T. (2015). Isolation and Identification of Native Entomopathogenic Nematodes (Nematoda: Rhabditidae) and potential for controlling *Scyphophorus acupunctatus* in a Laboratory. *SOUTHWESTERN ENTOMOLOGIST*, 731-739.
- sagarpa. (2010). *Manual de plagas y enfermedades de agave*.
- SAGARPA. (2017). *Planeación agrícola nacional 2017-2030*. México, México, México.
- SAGARPA SENASICA. (S.f). *Manual de plagas y enfermedades del Agave*. Guanajuato: SAGARPA.
- SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACION. (2018). *Cultivos de agave llegan a un 90 por ciento de mecanización*. México: SAGARPA.
- SENASICA-DGSV. (2016). Picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal 1838)(Coleoptera. Dryophthoridae). Tecámac: SENASICA. Obtenido de SENASICA.
- SENASICA-LANREF. (2014). *SIVEA*. Recuperado el 4 de septiembre de 2018, de Guia dinamica:
<http://www.sivea.org.mx/web/files/tecnico/guiasdesintomas/Guia%20dinamica%20de%20sintomas%20v13feb16%20FINAL.pdf>
- Sepúlveda-Cano, P., López-Nuñez, J., y Soto-Giraldo, A. (2008). Efectos de dos nematodos entomopatógenos sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae)). *Revista Colombiana de Entomología*, 62-67.
- Servicio de Informacion Agroalimentaria y Pesquera. (2016). *Atlas agroalimentario 2016*. México, México, México: Servicio de Informacion Agroalimentaria y Pesca (SIAP).

- Servín, R., Tejas, A., Arce, M., y L. Robert, M. (2006). *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) como potencial insecto-plaga de *Yucca valida* Brandegees en Baja California Sur, México. *Folia Entomologica Mexicana*, 45(001), 1-7.
- Shapiro, M., Mclane, W., y Bell, R. (1985). Laboratory evaluation of selected chemicals as antidesiccants for the protection of the entomogenous nematode, *Steinerneria feltiae* (Rhabditidae: Steinernematidae) against *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Journal of Economic Entomology*, 1437-1444.
- Shapiro-Ilan, D., Han, R., y Dolinski, C. (2012). Entomopathogenic Nematode Production and Application Technology. *The Journal of Nematology*, 44(2), 206-217.
- silva, k. I. (2015). *uso de nematodos entomopatogenos en el control biologico de insectos*. peru.
- Smiths, R. (1997). *Insect pathogens: Their suitability as biopesticides. Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?* Farham British Crop Protection Council.
- Solís Aguilar, J. y. (2001). *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, plaga del agave tequilero en Jalisco, México. *Agrociencia*, 35(6), 663-670.
- Solís Aguilar, J. F. (2001). *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, plaga del agave tequilero en Jalisco, México. *Agrociencia*, 35.
- Solís Aguilar, J. F., Héctor, G. H., Leyva Vázquez, J. L., Equihua Martínez, A., Flores Mendoza, F., y Martínez Garza, Á. (6 de noviembre de 2001). *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, plaga del agave tequilero en Jalisco, México. *Agrociencia*, 35(6), 663-670.
- Stock, H. K. (1997). Techniques in insect nematology. En L. Lacey, *Manual of techniques in insect pathology* (págs. 281-344). Wapato: a.
- Tamez-Guerra, P., Rodríguez-Padilla, C., y Galán-Wong, L. (2005). Protectores de radiación solar (UV) para insecticidas microbianos. En A. S. Series, *Semioquímicos en el control de plagas y malezas* (Vol. 906, págs. 127-147). American Chemical Society.

- Terán Vargas, A. P., y Azuara Domínguez, A. (2013). El picudo *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal y su manejo en el agave tequilero (Agave Tequilana F.A.C. Weber) Variedad azul. México D.F.: INIFAP.
- Terán Vargas, A., Azuara-Dominguez, A., Vega-Aquino, P., Zambrano-Gutiérrez, J., y Blanco-Montero, C. (2012). Efectividad biológica de insecticidas para controlar el gorgojo del agave, *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), en México. *Entomólogo del suroeste*, 47-53.
- Toledo, J., Infante, F., y Barrera Gaytán, J. F. (2008). *Manejo Integrado de Plagas*. Mexico, D.F.: Trillas.
- V.T, G., D., M., y D.Ch, K. (2015). Pathogenicity of indigenous strains of three entomopathogenic fungi to the sisal weevil, *Scyphophorus acupunctatus* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae). *Hellenic Plant Protection Journal*, 46-54.
- Valdés Estrada, M., Hernández Reytez, M., Gutiérrez Ochoa, M., y Aldana Llanos, L. (2010). DETERMINATION OF THE LIFE CYCLE OF SCYPHOPHORUS. *Florida Entomologist*, 93(3), 398-402.
- Valdés-Estrada, M. E., Aldana-Llanos, L., Salinas-Sánchez, D., Figueroa-Brito, R., Hernández-Reyes, M., y Valladares Cisneros, M. (2016). Toxicity on plant extracts to *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist*, 226-230.
- Velásquez, J., Joly, L., García, J., Romero, Y., González, M., y Medina, M. (Diciembre de 2006). Enemigos naturales del "Picudo del Agave" *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Cuculionidae) en el estado de Falcón, Venezuela. *Entomotropica*, 21(3), 185-193.
- Webster, J., y Bronskill, J. (1968). Use of Gelgard M and and evaporation retardant to facilitate control of larch sawfly by a nematode-bacterium complex. *Journal of Economics Entomology*, 1370-1373.