

# Control biológico del picudo negro (*Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal) con nemátodos y hongos entomopatógenos en agave en Oaxaca, México

Biological control of the black weevil (*Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal) with entomopathogenic nematodes and fungi in agave in Oaxaca, México

**Teodulfo Aquino Bolaños \*, Jaime Ruiz Vega y Miguel Iparraguirre Cruz**

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Regional Oaxaca Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR – IPN – Unidad Oaxaca). Calle Hornos 1003 Santa Cruz Xoxocotlán. C.P. 71230 Oaxaca México. E-mail: aquino22@hotmail.com \* Autor para correspondencia

Recibido: 03/10/2006

Fin de arbitraje: 21/11/2006

Revisión recibida: 30/11/2006

Aceptado: 05/12/2006

## RESUMEN

Esta investigación se realizó en condiciones de laboratorio y campo. Los experimentos de laboratorio se realizaron en el CIIDIR-IPN-Oaxaca en el año 2005, mientras que los experimentos de campo se desarrollaron en la localidad de Tlacolula, Oaxaca durante el 2006. Además, se evaluó el efecto de la bacteria *Erwinia carotovora* contra hongos y nemátodos entomopatógenos. En la fase de laboratorio se evaluaron dos especies de hongos y cuatro especies de nemátodos entomopatógenos y en campo se evaluó un hongo y cuatro especies de nemátodos sobre el picudo negro *Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal. De los de laboratorio, se puede afirmar que *E. carotovora* no presentó efectos negativos contra los agentes entomopatógenos. En los experimentos con larvas de tercer estadio, los nemátodos necesitaron de 12 días para eliminar el 100 % de las larvas y los hongos necesitaron de 21 días para eliminar el 100 % de larvas. En los experimentos con adultos del picudo negro a los 50 días se encontraron tres tratamientos a base de nemátodos que controlaron el 100 % a dosis elevadas 9000 nemátodos/insecto y otros dos tratamientos a base de hongos + nemátodos que controlaron un 90 % de adultos. En los experimentos de campo del 2006, se encontraron tres tratamientos sobresalientes: nemátodo nativo (4500 nemátodos/insecto) con un 90,31 % de eficacia, el segundo fue *Steinernema feltiae* (9000 nemátodos/insecto) con un 84,23 % de eficacia y el tercero fue *Heterorhabditis bacteriophora* (9000 nemátodos/insecto) con un 78,23 % de eficacia.

**Palabras clave:** Agave mezcalero, *Erwinia carotovora*, hongos y nemátodos entomopatógenos, picudo negro, *Scyphophorus interstitialis*.

## ABSTRACT

This research was carried out under laboratory and field conditions. The laboratory experiments were carried out in the CIIDIR-IPN-Oaxaca in 2005. The field experiments were located at Tlacolula, Oaxaca during 2006. Besides, the negative effect of the bacterium *Erwinia carotovora* against fungi and entomopathogenic nematodes was evaluated. In the laboratory phase there were evaluated two species of fungi and four of entomopathogenic nematodes while in the field one fungus and four species of nematodes were evaluated against black weevils *Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal. Bacterium *E. carotovora* did not present negative effects against entomopathogenic agents. In the experiments with larvae, the nematodes only needed 12 days to eliminate 100 % of the larvae and the fungi only needed 21 days to eliminate 100 % of the larvae of the third stage. Within 50 days, in the experiments with adults, there were found three treatments with nematodes that controlled 100 % of adults with a dosage of 9000 nematodes/individual and other two combined treatments with fungi + nematodes which controlled 90 % of the adult black weevils. On the basis of the field experiments of 2006, there were found three excellent treatments: native nematode (4500 nematodes/insect) with 90.31 % of efficiency, the second best was *Steinernema feltiae* (9000 nematodes/insect) with 84.23 % and the third one was *Heterorhabditis bacteriophora* (9000 nematodes/insect) with 78.23 % of efficiency.

**Key words:** Agave mezcalero, *Erwinia carotovora*, entomopathogenic fungi and nematodes, black weevil, *Scyphophorus interstitialis*.

## INTRODUCCIÓN

En el continente americano se reportan aproximadamente 310 especies del género *Agave* spp, de las cuales en México se encuentran 272,

distribuidas en diversas regiones con diferentes climas por lo que se considera a este país como su centro de origen (Granados, 1999). En Oaxaca en el año 2001 el Primer Censo de la Industria del mezcal reporta una superficie cultivada con maguey de 11.756 ha. Actualmente se tienen caracterizados 17

genotipos de agave en este estado de Oaxaca distribuidas en 250 comunidades, la producción de mezcal ha sido una actividad de gran importancia económica y social, que se ve afectada por una gama de problemas ambientales y biológicos. Dentro de estos sobresalen la incidencia de enfermedades y plagas entre las que destaca el ataque del picudo negro que ocasiona daños severos a la planta de maguey. El mayor esfuerzo para el combate de esta plaga se enfoca hacia el control químico con diversos ingredientes activos que dejan residuos en los productos agrícolas, generando contaminación ambiental, resistencia de plagas e intoxicación al aplicador o jornalero agrícola. (Albert, 1988)

El picudo del agave (*Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae) es la principal plaga del agave pulquero (*Agave atrovirens* Kart), agave tequilero (*Agave tequilana* Weber) y agave mezcalero (*Agave angustifolia* Haw) (Halffter, 1957).

La producción de agave es afectada drásticamente por el ataque del picudo negro (*S. interstitialis*). Bravo (2003) reporta pérdidas entre 1,4 -26 %, mientras que Aquino *et al* (2005) reportan pérdidas que van de 14,4 -46,4 % en los valles del estado de Oaxaca. Además, hay evidencia que este insecto es un vector que introduce la bacteria (*Erwinia carotovora*) a la planta, la cual le causa una pudrición en el cogollo y la muerte a la planta de maguey (Rodríguez 1999).

El adulto de *S. interstitialis* se encuentra con más frecuencia entre la base de las hojas y la raíz principal, aunque en infestaciones severas también se localizan en el cogollo y en el escapo floral. Además el adulto puede estar presente todos los meses del año, pero es más abundante en épocas de lluvias (Ramírez, 1993).

En Oaxaca dada la diversidad de ambientes que existen, se estimó que para algunos lugares como localidades representativas y con condiciones ambientales diferentes, el número de generaciones del picudo negro en un año varía de 1,4 a 2,6 dependiendo de las condiciones ambientales en que se desarrolle el cultivo y la plaga (Bravo 2003).

El control biológico es una alternativa con potencial, especialmente el control microbiano. Por los hábitos de desarrollo del picudo negro como adultos y larvas son susceptibles a la infección por

microorganismos como hongos y nemátodos entomopatógenos los cuales son factibles de ser utilizados en el control microbiano (Aquino, 2003)

El objetivo de este estudio fue evaluar la aplicación de hongos y nemátodos entomopatógenos como agentes de control biológico para reducir las poblaciones de *S. interstitiales* en laboratorio y campo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Bioensayos en laboratorio

Se realizó un ensayo preliminar con el propósito de determinar el efecto de la bacteria *E. carotovora* contra los agentes de control (hongos y nematodos) entomopatógeno, empleados en el control contra larvas y adultos del picudo negro. Se realizó un bioensayo de laboratorio, se evaluaron (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*) a dos concentraciones 20 y 40 nemátodos/bacteria y los hongos (*Beauveria bassiana* y *Metarhizum anisopliae*) a una concentración 100 microlitros/bacteria. Se trabajó con siete tratamientos y cinco repeticiones. Además de un testigo (40 nematodos/sin bacteria).

Para determinar el efecto de la bacteria, se utilizaron cajas de Petri, (Figura 1). A estas se les colocó dentro papel filtro y se humedeció, encima del papel filtro se colocó un portaobjetos con una colonia de la bacteria *E. carotovora*, posteriormente se aplicaron nemátodos y hongos, las aplicaciones fueron directas sobre la bacteria (Ruiz *et al* 1998).

Los nemátodos entomopatógenos poseen un ciclo de vida corto de 10-14 días bajo condiciones de laboratorio y es el tiempo que duró este ensayo.

### Experimento de laboratorio

El experimento se realizó con larvas de tercer estadio y adultos del picudo negro en el laboratorio del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR-IPN), Oaxaca, México. Tanto larvas como adultos fueron extraídas de las piñas del maguey y puestas en recipientes de 300 mL de capacidad, a cada bote se le colocaron dos larvas o en su caso dos adultos y se alimentó con maguey, después de adaptadas se aplicaron los tratamientos.

El siguiente experimento se realizó con 16 tratamientos y 5 repeticiones en larvas y adultos del picudo negro en laboratorio, en un diseño completamente al azar. (Cuadro 1). El experimento

con larvas se estableció el 25 de agosto y finalizó el 18 de septiembre del 2005, mientras el de adultos en laboratorio se inició el 01 agosto y se concluyó el 30 de septiembre del 2005.

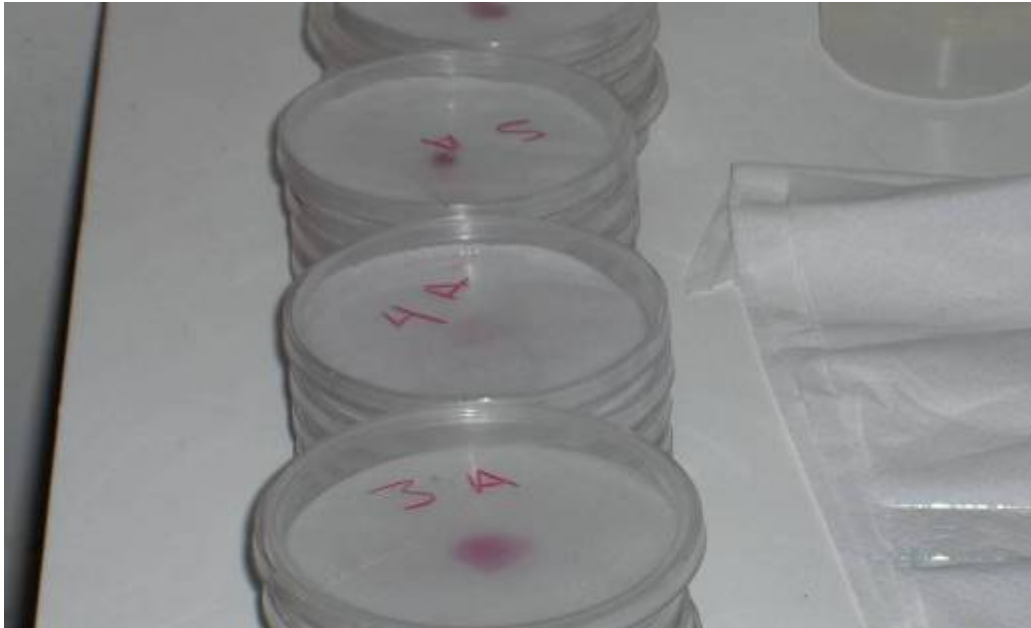


Figura 1. Determinación del efecto de la bacteria *Erwinia carotovora* contra entomopatógenos (hongos y nemátodos).

Cuadro 1. Bioensayo con larvas y adultos del picudo negro (*Scyphophorus interstitialis*) con nemátodos y hongos entomopatógenos, en condiciones de laboratorio en Oaxaca, México en el 2005.

Trata- mientos	Hongos (esporas/2 larva)		Nemátodo nativo †	Nematodos Especie y dosis (nemátodos/2 larva)		
	<i>Metahrizium anisopliae</i>	<i>Beauveria bassiana</i>		<i>Steinernema carpocapsae</i>	<i>Steinernema feltiae</i>	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	4500	0	0
3	0	0	0	9000	0	0
4	0	0	0	0	4500	0
5	0	0	0	0	9000	0
6	0	0	0	0	0	4500
7	0	0	0	0	0	9000
8	1x10 <sup>6</sup>	0	0	0	0	0
9	1x10 <sup>9</sup>	0	0	0	0	0
10	0	1x10 <sup>6</sup>	0	0	0	0
11	0	1x10 <sup>9</sup>	0	0	0	0
12	1x10 <sup>6</sup>	0	0	0	4500	0
13	1x10 <sup>9</sup>	0	0	0	9000	0
14	0	1x10 <sup>6</sup>	0	0	4500	0
15	0	1x10 <sup>9</sup>	0	0	9000	0
16	0	0	4500	0	0	0

† Nematodo nativo obtenido en adultos del picudo negro y aun no identificado.

La mortandad se registró a partir de la segunda semana de la aplicación de los tratamientos 15 días después se realizó la segunda aplicación de los mismos, se registró el número de larvas muertas (% de control). Los ensayos con adultos se realizaron de la misma manera a lo señalado con las larvas (Aquino, 2003). Para determinar la mortandad de larvas y adultos se colocaron en cámaras húmedas. Además de presentar una consistencia muy rígida.

Para el análisis estadístico, se empleó el programa estadístico SAS y se realizó un análisis de varianza, aplicando la prueba de Tukey, para separación de los promedios de tratamiento, las variables a evaluar fueron número de larvas muertas. Los tiempos letales correspondieron a los días que requirieron para lograr el porcentaje de control máximo en los diferentes tratamientos.

**Experimentos de campo**

En enero y febrero del 2006 se establecieron dos experimentos en plantaciones de Agave afectadas por picudo negro de 8 a 10 años de edad situados en la comunidad de Tlacolula, Oaxaca. La superficie ocupada por la parcela experimental fue de 4680 m<sup>2</sup>. Se utilizó un diseño de bloques al azar con 10 tratamientos y 6 repeticiones. La parcela estuvo constituida por 3 surcos de 12 m de ancho por 6,5 m de largo (78 m<sup>2</sup> de superficie). Entre un bloque y otro se dejaron 2 hileras de plantas de Agave y dentro de cada bloque se dejó un surco sin aplicar entre cada parcela experimental. Los tratamientos aplicados se obtuvieron de los bioensayos realizados en laboratorio con larvas y adultos del picudo negro.

La aplicación de los tratamientos fueron dirigidos directamente a la base de la planta con una aspersora manual de mochila de campo de 15 L. de capacidad. Este experimento estuvo constituido por 10 tratamientos y 6 repeticiones (Cuadro 2).

El experimento desarrollado en la parcela Santana del Valle de la comunidad de Tlacolula Oaxaca, se estableció el 20/01/2006 y terminó el 4/05/2006. El experimento desarrollado en la parcela El Pensamiento de la comunidad de Tlacolula Oaxaca, se estableció el 10/02/2006 y culminó el 24/05/2006.

En cada parcela experimental se seleccionó dentro de los surcos centrales a la planta que presentaba en ese momento el mayor grado de avance en pudrición del cogollo. Para la evaluación las piñas se parten completamente utilizando una jima o machete y se registra el número de picudos (adultos) presentes en ese momento en las piñas.

**Análisis de datos**

Para el análisis estadístico, se trabajó con el programa estadístico SAS. Se realizó un análisis de varianza y posteriormente se aplicó la prueba de Tukey, para separación de medias por tratamiento. Las variables evaluadas fueron el número larvas muertas y número de picudos muertos. Los tiempos letales correspondieron a los días que se requirió para lograr el porcentaje de control máximo en los diferentes tratamientos. En el trabajo de campo solo se evaluaron plantas que presentaban un daño de ataque 4 y 5 (Figura 2).

Cuadro 2. Experimento de campo con adultos del picudo negro (*Scyphophorus interstitialis*) con nemátodos y hongos entomopatógenos, en maguay mezcalero en Oaxaca, México en el 2006.

Trata- mientos	Hongos esporas/insecto	Nematodos nemátodos/insecto	Insecticida
1	0	<i>Steinernema carpocapsae</i> 9000	0
2	0	<i>Steinernema feltiae</i> 9000	0
3	0	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> 9000	0
4	0	Nemátodo nativo 4500 †	0
5	<i>Metarhizium anisopliae</i> 1x10 <sup>9</sup>	0	0
6	<i>Beuveria bassiana</i> 1x10 <sup>9</sup>	0	0
7	<i>Metarhizium anisopliae</i> 1x10 <sup>9</sup>	<i>Steinernema feltiae</i> 9000	0
8	<i>Beauveria bassiana</i> 1x10 <sup>6</sup>	<i>Steinernema feltiae</i> 4500	0
9	0	0	Creolina 4 %
10	0	0	0

† Nematodo nativo obtenido en adultos del picudo negro y aun no identificado.



Figura 2. Plantas de maguey (*Agave angustifolia* Haw.) con un grado de daño 4 (izquierda) y 5 (derecha) por picudo negro (*Scyphophorus interstitialis*) (CIBA-GEIGY, 1981)

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Bioensayos con *E. carotovora*

Se observó un efecto de *E. carotovora* en los nemátodos *S. feltiae* y *H. bacteriophora* a 20 y 40 nemátodos/1 colonia de *E. carotovora*. A los 8 y 10 días no se encontró mortandad alguna de los entomopatógenos utilizados, a los 12 días se encontró un 8,6 % de la población de nemátodos muertos y 0 % de mortandad en las dos hongos evaluados *B. bassiana* y *M. anisopliae* (Cuadro 3).

### Métodos de control en larvas

A los 11 días después de la inoculación, se observó un efecto positivo de las cuatro especies de nemátodos y una especie de hongo sobre el control de larvas de *S. interstitialis* del tercer estadio. Con un 100 % de mortalidad. Cuatro de estos tratamientos fueron con nemátodos *S. carpocapsae* 9000 nemátodos/larva, *S. feltiae* 9000 nemátodos/larva, *H. bacteriophora* 4500 nemátodos/larva, *H. bacteriophora* 9000 nemátodos/larva y solo uno con un hongo, *M.*

*anisopliae*  $1 \times 10^6$  esporas/larva) y solo tres no presentaron ningún porcentaje de control contra las larvas *B. bassiana*  $1 \times 10^9$  esporas/larva, *S. feltiae* 4500 nemátodos/larva y un testigo (sin método de control) (Cuadro 4).

A los 18 días después de la inoculación no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, pero hay 10 que controlan el 100 % a las larvas y dos con un 60 % de mortalidad, *B. bassiana*  $1 \times 10^6$  esporas/larva y *M. anisopliae*  $1 \times 10^6$  esporas/larva + *S. feltiae* 4500 nemátodos/larva, ambos con hongos. A los 24 días, todos los tratamientos controlaron el 100 % de las larvas de tercer estadio del picudo negro. El testigo mantiene vivas las larvas puestas.

### Métodos de control con adultos.

A los 44 días después de la aplicación de los tratamientos se encontró diferencia significativa de dos de ellos contra el testigo, los mejores fueron con los nemátodos *S. feltiae* 9000 nemátodos/2 adultos y *S. carpocapsae* 9000 nemátodos/2 adultos,

controlando un 60 % en adultos del picudo negro y *H. bacteriophora* 9000 nemátodos/2 adultos y *B. bassiana*  $1 \times 10^9$  esporas/2 adultos controlaron un 50 % en adultos del picudo negro (Cuadro 5).

A los 52 días se encontró diferencia significativa de 11 tratamientos contra el testigo, 3 sobresalen al controlar el 100 %, *S. feltiae* a 9000 nemátodos/2 adultos, *S. carpocapsae* a 9000 nemátodos/2 adultos y el nemátodo nativo a 4500 nemátodos/2 adultos, se encontró a los *H. bacteriophora* 9000 nemátodos/2 adultos, *M.*

*anisopliae*  $1 \times 10^9$  esporas/2 adultos y *M. anisopliae*  $1 \times 10^9$  esporas + *S. Feltiae* 9000 con un 90 % y dos tratamientos con un 80 % de control en adultos. Dos solamente controlaron un 40 % de adultos del picudo negro.

A los 60 días se terminó el experimento y se encontró que todos los tratamientos solos o combinados controlaron un mínimo de un 70 % y un máximo del 100 %. En el testigo, los adultos del picudo negro permanecieron vivos.

Cuadro 3. Porcentaje de mortandad en entomopatógenos (hongos y nemátodos) por efecto de *Erwinia carotovora*

Tratamiento	Fechas de Evaluación			Porcentaje de Mortandad Final
	8 /6/05	10/6/05	13/6/05	
<i>Steinernema feltiae</i> 20 nemátodo	0	0	10	10
<i>Steinernema feltiae</i> 40 nemátodos	0	0	12	12
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> 20 nemátodos	0	0	12	8,4
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> 40 nemátodos	0	0	14	4
<i>Metarhizium anisopliae</i>	0	0	0	0
<i>Beauveria bassiana</i>	0	0	0	0
Testigo (40 nemátodos sin <i>E. carotovora</i> )	0	0	10	10

Cuadro 4. Porcentaje de control de larvas de tercer estadio del picudo negro (*Scyphophorus interstitialis*) con nemátodos y hongos entomopatógenos en Oaxaca, México en condiciones de laboratorio en el 2005.

Tratamiento	Días de Evaluación		
	11 días	18 días	24 días
<i>M. anisopliae</i> $1 \times 10^9$ esp/larva	40 abc †	100 a	100 a
<i>S. carpocapsae</i> 4500 nem/larva	80 ab	100 a	100 a
<i>S. carpocapsae</i> 9000 nem/larva	100 a	100 a	100 a
<i>M. anisopliae</i> $1 \times 10^6$ esp/larva	100 a	100 a	100 a
<i>S. feltiae</i> 9000 nem/larva	100 a	100 a	100 a
<i>H. bacteriophora</i> 4500 nem/larva	100 a	100 a	100 a
<i>H. bacteriophora</i> 9000 nem/larva	100 a	100 a	100 a
Nem nativo 4500 nem/larva ‡	60 abc	100 a	100 a
<i>M. anisopliae</i> $1 \times 10^9$ + S. F 9000	80 ab	100 a	100 a
<i>B. bassiana</i> $1 \times 10^9$ esp/larva	0 c	100 a	100 a
<i>B. bassiana</i> $1 \times 10^6$ + S. F. 4500	80 ab	80 a	100 a
<i>S. feltiae</i> 4500 nem/larva	0 c	80 a	100 a
<i>B. bassiana</i> $1 \times 10^9$ + S. F 9000	60 abc	80 a	100 a
<i>B. bassiana</i> $1 \times 10^6$ esp/larva	20 bc	60 ab	100 a
<i>M. anisopliae</i> $1 \times 10^6$ esp/larva + S. F 4500	20 bc	60 ab	100 a
Testigo	0 c	0 b	0 b

† Tukey al 0,05 de probabilidad

‡ Nematodo nativo obtenido en adultos del picudo negro y aun no identificado.

**Experimentos de campo**

**Parcela Santa del Valle**

En el muestreo realizado previo a la aplicación de los entomopatógenos se encontró en el lote experimental un promedio de 31,0 adultos por planta de maguey. Al terminar el experimento se encontró una población media en la parcela experimental de 22,2 adultos.

Los porcentajes de control indican que estadísticamente sólo dos tratamientos son diferentes al testigo. Los porcentajes de control encontrados en el experimento de campo fueron mayores del 50 %. Los tratamientos que arrojaron los porcentajes más altos para el control de los adultos del picudo negro fueron el *S. feltiae* a 9000 nemátodos/adulto con un 81,63 % y nemátodo nativo 4500 nemátodos/adulto con un 91,13 % de control (Cuadro 6).

**Parcela El Pensamiento**

El muestreo previo a la aplicación de los entomopatógenos se encontró en el lote experimental un promedio de 22,3 adultos por planta de maguey. Al terminar el experimento se encontró una población

media de la parcela experimental de 18,8 adultos. Los porcentajes de control indican que estadísticamente dos tratamientos fueron diferentes al testigo.

En este experimento se encontraron 4 tratamientos con porcentajes mayores del 75 % de control en adultos del picudo negro, el que resultó con los mayores porcentajes de control fue el nemátodo nativo a 4500 nemátodos/adulto con un 87,45 %, el segundo mejor fue *S. feltiae* a 9000 nemátodos/adulto con un 82,86 %, seguido por *H. bacteriophora* a 9000 nemátodos/adulto con un 78,57 % de control y *S. carpocapsae* a 9000 nemátodos/adulto con un 76,88 %. El testigo presentó una mortandad de un 1,81 % (Cuadro 7).

Los porcentajes de control registrados en los dos experimentos de campo combinados para el año 2006, van desde el más bajo Creolina con 52,41 % y el más alto, el nemátodo nativo con 89,29 % de control. Se encontraron 3 tratamientos con más del 76 % de control que representan una buena alternativa para combatir al picudo negro en plantas de maguey.

El tratamiento que presentó el mayor porcentaje de control fue el nemátodo nativo a 4500

Cuadro 5. Porcentaje de control de adultos del picudo negro (*Scyphophorus interstitialis*) con nemátodos y hongos entomopatógenos en condiciones de laboratorio en, Oaxaca, México en el 2005.

Tratamiento	Días de Evaluación		
	44 días	52 días	60 días
<i>S. feltiae</i> 9000 nem/adulto	60 a †	100 a	100 a
<i>S. carpocapsae</i> 9000 nem/adulto	60 a	100 a	100 a
<i>H. bacteriophora</i> 9000 nem/adulto	50 ab	90 a	90 a
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>9</sup> esp/adulto	50 ab	80 a	90 a
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>6</sup> + <i>S. feltiae</i> 4500	40 ab	80 a	90 a
Nematodo nativo 4500 nem/adulto ‡	40 ab	100 a	100 a
<i>M. anisopliae</i> 1x10 <sup>9</sup> esp/adulto	40 ab	90 a	100 a
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>9</sup> + <i>S. feltiae</i> 9000	40 ab	70 a	90 a
<i>S. carpocapsae</i> 4500 nem/adulto	30 ab	40 ab	80 a
<i>S. feltiae</i> 4500 nem/adulto	30 ab	70 a	90 a
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>6</sup> esp/larva	30 ab	60 ab	70 a
<i>M. anisopliae</i> 1x10 <sup>9</sup> + S. F 9000	30 ab	90 a	100 a
<i>M. anisopliae</i> 1x10 <sup>6</sup> esp/larva + <i>S. feltiae</i> 4500	20 ab	50 ab	70 a
<i>H. bacteriophora</i> 4500 nem/adulto	20 ab	70 a	80 a
<i>M. anisopliae</i> e1x10 <sup>6</sup> esp/adulto	20 ab	40 ab	100 a
Testigo	0 b	0 b	0 b

† Tukey al 0,05 de probabilidad

‡ Nematodo nativo obtenido en adultos del picudo negro y aun no identificado.



Cuadro 6. Número de insectos totales, número de insectos muertos y porcentaje de control del picudo negro (*Scyphophorus interstitialis*) con nemátodos y hongos entomopatógenos, en maguey mezcalero (*Agave angustifolia*) en la parcela Santa del Valle, Oaxaca, México en el 2006.

Tratamientos	Insectos totales	Insectos muertos	Porcentaje del control
<i>S. carpocapsae</i> 9000	14,0	9,3 ab †	66,43 ab
<i>S. feltiae</i> 9000	19,6	16,0 ab	81,63 a
<i>H. bacteriophora</i> 9000	15,1	11,1 ab	73,51 ab
Nemátodo nativo 4500 ‡	20,3	18,5 ab	91,13 a
<i>M. anisopliae</i> 1x10 <sup>9</sup>	26,0	15,5 ab	59,62 ab
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>9</sup>	16,5	9,3 ab	56,36 ab
<i>M. anisopliae</i> 1x10 <sup>9</sup> y <i>S. feltiae</i> 9000	29,3	19,5 a	66,55 ab
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>6</sup> y <i>S. feltiae</i> 4500	13,6	8,6 ab	63,24 ab
Creolina 4 %	36,8	19,0 ab	51,63 ab
Testigo	31,0	0,16 b	0,52 b

† Tukey al 0,05 de probabilidad

‡ Nematodo nativo obtenido en adultos del picudo negro y aun no identificado.

Cuadro 7. Número de insectos, número de insectos muertos y porcentaje de control del picudo negro (*Scyphophorus interstitialis*) con nemátodos y hongos entomopatógenos, en maguey mezcalero (*Agave angustifolia*) en la parcela El Pensamiento, Oaxaca, México en el 2006.

Tratamientos	Insectos totales	Insectos muertos	Porcentaje del control
<i>S. carpocapsae</i> 9000	18,6	14,3 ab	76,88 ab †
<i>S. feltiae</i> 9000	24,5	20,3 a	82,86 a
<i>H. bacteriophora</i> 9000	14,0	11,0 ab	78,57 ab
Nemátodo nativo 4500 ‡	26,3	23,0 a	87,45 a
<i>M. anisopliae</i> 1x10 <sup>9</sup>	18,3	11,5 ab	62,84 ab
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>9</sup>	16,0	7,8 ab	48,75 ab
<i>M. anisopliae</i> 1x10 <sup>9</sup> y <i>S. feltiae</i> 9000	14,8	9,1 ab	61,49 ab
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>6</sup> y <i>S. feltiae</i> 4500	13,8	7,3 ab	52,90 ab
Creolina 4 %	14,1	7,5 ab	53,19 ab
Testigo	27,5	0,5 b	1,82 b

† Tukey al 0,05 de probabilidad

‡ Nematodo nativo obtenido en adultos del picudo negro y aun no identificado.

nemátodos/insecto con un 89,29 % después *S. feltiae* a 9000 nemátodos /insecto con un 82,25 %, seguido por *H. bacteriophora* a 9000 nemátodos/insecto con un 76,04 % de control.

(*Scyphophorus interstitialis*) con el uso de entomopatógenos hongos y nemátodos. Existen algunas investigaciones con el uso de entomopatógenos contra plagas agrícolas de importancia económica.

Hay pocos antecedentes hasta la fecha que utilice como método de control para el picudo negro



Kaya (1985) evaluó al nematodo *S. carpocapsae* a 600 nemátodos/planta contra larvas de *Phyllophaga* spp y Kart (1988) trabajó con *H. bacteriophora* a 5000 nemátodos/planta contra la misma plaga controlando un 70 % de larvas de *Phyllophaga* spp.

Aquino (2003) obtuvo 87,5 % de control de larvas de tercer estadio de *Phyllophaga* spp. con el nematodo *H. bacteriophora* a una dosis de 1000 nemátodos/planta + el hongo *M. anisopliae* a 1,7 g/cm<sup>2</sup> en 20 días bajo condiciones semi-controladas.

Ruiz *et al* (2003) reportan 80 % de control en larvas de gallina ciega de tercer estadio aplicando el hongo *M. anisopliae* a una concentración de 6x10<sup>8</sup> esporas por mata de maíz

Los estudios sobre el control de larvas y adultos del picudo negro en Oaxaca, México se refieren al uso de agroquímicos. Solís (2001) reporta disminuciones del 95 y un 97 % de adultos del picudo negro al aplicar como método de control paratión metílico. Bravo (2003) reporta que el insecticida Carbofuran controla hasta 12 insectos por trampa.

Los mayores porcentajes de control encontrados en el laboratorio en larvas de tercer estadio y adultos del picudo negro son del 100 %, los porcentajes de control encontrados en campo son del 89,29 % en los años 2005 y 2006. Los resultados se asemejan bastante a los porcentajes de control reportados con la aplicación de insecticidas con un 97 % en adultos del picudo negro.

### CONCLUSIONES

1. La bacteria *E. carotovora* no presenta efectos negativos contra el desarrollo de hongos y nemátodos entomopatógenos.
2. En los bioensayos de laboratorio con larvas de tercer estadio de picudo negro se encontró que los nemátodos presentaron un excelente control, sólo necesitan de 8 días para eliminar un 100 % de larvas, mientras que los hongos entomopatógenos necesitan 20 días para eliminar el 100 % de larvas.
3. En los bioensayos de laboratorio con adultos, se encontró que en forma individual o combinada los hongos y nemátodos entomopatógenos necesitan de 52 a 60 días para eliminar un

mínimo de un 70 % y un máximo del 100 % de poblaciones de picudos negros.

4. Analizando los dos experimentos de campo, se encontraron dos tratamientos sobresalientes: el nematodo nativo que a 4500 nemátodos/insecto controló un 89,29 %; mientras que *S. feltiae*, a una dosis de 9000 nemátodos/insecto, controló un 82,25 % de las poblaciones de larvas y adultos del picudo negro.
5. El uso de hongos y nemátodos entomopatógenos es una alternativa viable como método de control para el picudo negro que es la principal plaga del maguey en las zonas productoras del estado de Oaxaca, México.

### LITERATURA CITADA

- Albert, L. 1998. Contaminación de los alimentos por productos químicos. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Naturales Bióticos, México. 32p
- Aquino, B. T., V. J. Ruíz y C. M. Iparraguirre. 2005. Manejo Integrado de *Scyphophorus interstitialis* con nemátodos y hongos entomopatógenos, en agave mezcalero. Jornada Politécnica de Investigación CIIDIR-OAXACA. 49 p.
- Aquino, B. T. 2003. Manejo Integrado de Gallina Ciega (*Phyllophaga* spp) en maíz de temporal. Tesis de maestría en productividad de agro ecosistemas. Instituto Tecnológico Agropecuario de Oaxaca No 23 Oaxaca México.
- Bravo, M. E. 2003. Sugerencias para el Manejo Integrado del Picudo del Maguey Mezcalero *Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal. Folleto No 4. Santo Domingo Barrio Bajo, Etlá, Oaxaca.
- CIBA-GEIGY. 1981. Manual para ensayos de campo en protección vegetal. Segunda edición, revisada y ampliada. División Agricultura, CIBA-GEIGY. Basilea, Suiza.
- Granados, S. D. 1999. Los Agaves en México. Primera reimpression. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, Estado de México.
- Halfpter, G. 1957. Plagas que afectan a las distintas especies de agave cultivadas en México.

- Dirección General de Defensa Agrícola. SAG. México, D. F.
- Instituto de Capacitación y Productividad para el Trabajo del Estado de Oaxaca (ICAPET). 2001. I Censo de la industria del mezcal. Gobierno de la industria del mezcal. Gobierno del Estado de Oaxaca. Oaxaca México. 12, 40 p.
- Kaya, H. K. 1985. Entomogenous nematodes for insect control in IPM Systems. *In* M. A. Hoy and D. C. Herzog (eds.). Biological Control in Agricultural IPM Systems, Academic Press, New York. USA. pp. 283-303.
- Kart, B. M., and Brooks, W. M., 1998. Field suppression of white grub species (Coleoptera: Scarabidae) by the entomogenous nematodes *Steinenema feltiae* and *Heterorhabditis heliothidis*. *Econ. Entomol* 81: 1033-1040.
- Ramírez, C. J. L. 1993. Max del Anequén *Scyphophorus interstitialis* Gil. Bioecología y control. Serie: Libro Técnico. Centro de Investigación Regional del sureste. INIFAP-SARH Mérida Yucatán. México.
- Rodríguez, G. B. 1999. La investigación en agave tequilero en el CIATEJ. P: 2-3 in: El agave. Bernache P., F., y A. Avalos C. (eds). Gaceta informativa. Año 1 No 2 Unión agrícola Regional de Mezcal Tequilero del estado de Jalisco. Guadalajara Jalisco, México.
- Ruiz V. J., A. F. Arce, A. J. García y H. K. Kaya. 1998. Colecta de nemátodos entomopatógenos para el control de larvas de escarabeidos en Oaxaca. pp. 254 - 256. Memoria del XXIII Congreso Nacional de Entomología, Acapulco, México.
- Ruiz, V., J.; T. Aquino, B. y R. Pérez, P. 2003. Control biológico de gallina ciega (*Phyllophaga vetula* Horn) bajo condiciones semicontroladas y de campo. Estudios sobre Coleópteros del suelo en América. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México pp. 299-311.
- Statistical Analysis System (SAS). 1994. Statistical Analysis System a los métodos estadísticos. Apoyos didácticos No 3. Instituto Tecnológico Agropecuario de Oaxaca. Centro de Investigación y Graduados Agropecuarios.
- Solís A., J. F. 2001. El picudo del agave tequilero *Scyphophorus acupuntatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curcunidae) en Jalisco, México. Tesis Doctoral. Colegio de posgraduados. Montecillo, Edo. De México.