



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DIVISIÓN DE CIENCIAS FORESTALES

**BIOLOGÍA, HONGOS ASOCIADOS Y CONTROL DE
Lycoriella innua Y *Bradysia impatiens* (DIPTERA:
SCIARIDAE)**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARACIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS, EN CIENCIAS
FORESTALES**

PRESENTA:

VICTOR HUGO MARÍN CRUZ



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
ORIGINA DE EXAMENES PROFESIONALES

**CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO
DICIEMBRE 2013**

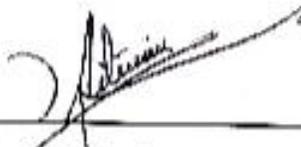


**BIOLOGÍA, HONGOS ASOCIADOS Y CONTROL DE
Lycoriella ingenua Y *Bradysia impatiens* (DIPTERA:
SCIARIDAE)**

Tesis realizada por el Ing. Victor Hugo Marín Cruz bajo la dirección del comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES

Director:



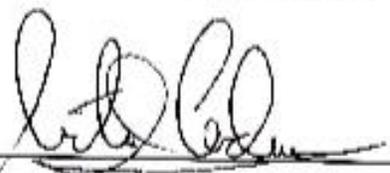
Dr. David Cibrián Tovar

Co Director:



Dr. José Tulio Méndez Montel

Asesor:



Dr. José Artemio Cadena Meneses

Asesor:



Dr. Omar Alejandro Pérez Vera

Chapingo, Estado de México, noviembre 2013

DEDICATORIA

A mis hijos:

David Axayacalt

Tonantzin Verónica

Tlacaelel Victor

A mi esposa:

Martha Susana Luna Hernández

A mi Madre y Padre:

Martha Elba Cruz Balcázar

Y

José Marín López

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo y a la División de Ciencias Forestales, por considerarme dentro de su programa de postgrado y haberme brindado la oportunidad de obtener el grado de Maestro en Ciencias, en Ciencias Forestales.

Al Dr. David Cibrián Tovar, por su amistad, dirección, conocimientos, sugerencias y tiempo brindado en el proceso de mi formación de postgrado y desarrollo de la investigación.

Al Dr. José Tulio Méndez Montiel, por su disposición, sugerencias acertadas y su tiempo dedicado en el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. José Artemio Cadena Meneses, por sus recomendaciones, sugerencias y tiempo brindando en la investigación.

A los Doctores. Gabriel A. Rodríguez Yam; Omar J. Vera y Herón Huerta, Juan A Cruz Rodríguez por sus recomendaciones, sugerencias y tiempo brindando en la investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por haberme proporcionado el apoyo económico necesario para poder cumplir mi formación de postgrado.

Al Mayor de Caballería Teodoro Ariel Ake Dzib Jefe del vivero forestal militar Temamatla; a Ing. Alberto González Enríquez, Ing. Oscar Andree Azuara González y a Ing. Alejandro Castro Moreno personal técnico del Vivero de Temamatla, por su apoyo en la fase campo en el control del mosco fungoso negro y por proporcionar las plántulas de pino.

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor nació el 28 de julio de 1973 en la Ciudad de México. De 1980 a 1986 cursó el nivel primaria en la Escuela Primaria Federal “Tamaulipas”, ubicada en la misma ciudad. En el periodo de 1986-1989 cursó el nivel secundaria en la Secundaria “Izcoatl” ubicada en la misma zona. De 1994 a 1996 estudio el nivel medio superior en la “Preparatoria Abierta”, de la Dirección de Sistemas abiertos, con la especialidad de Ciencias Físico Matemáticas, también, que se ubica en el mismo sitio. En el periodo de 1996-2001 cursó la Licenciatura en la Universidad Autónoma de Chapingo, en el Departamento de Agroecología, ubicada en Texcoco, México. En la cual obtuvo el título de Ingeniero Agrónomo en Agroecología el 26 de agosto de 2002, con la tesis “Importancia Económica de Productos Forestales No Maderables en una Selva Mediana Subperennifolia en el Centro del Estado de Veracruz”. De agosto de 2002 al agosto de 2003 trabajo de manera particular en la elaboración y formulación de proyectos para productores agropecuarios en la delegación Tlalpan y Tláhuac en el Distrito Federal. De septiembre de 2003 a septiembre de 2009 ocupó el puesto de Jefe de Departamento de Conservación Ambiental, perteneciente a la Dirección General de Desarrollo Económico y Rural, en la delegación Tláhuac, Distrito Federal. De agosto de 2011 a julio de 2013 estudió la Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales en la Universidad Autónoma Chapingo.

“BIOLOGÍA, HONGOS ASOCIADOS Y CONTROL DE *Lycoriella ingenua* Y *Bradysia impatiens*

(DIPTERA: SCIARIDAE)”

“BIOLOGY, ASSOCIATE FUNGI AND CONTROL OF *Lycoriella ingenua* AND *Bradysia impatiens*

(DIPTERA: SCIARIDAE)”

Victor Hugo Marín Cruz¹

David Cibrián Tovar²

RESUMEN

ABSTRACT

El mosco fungoso negro (Diptera: Sciaridae), en los últimos años se han convertido en el centro de México, en plagas de primer orden en viveros forestales de coníferas. Sin embargo, se tiene una escasa información de identificación de especies, el desconocimiento de su biología y comportamiento, así como, la falta de un manejo específico en viveros forestales. En este trabajo se planteó identificar la especie(s) de mosco fungoso negro asociado al cultivo de pino, conocer que hongos se asocian a adultos y larvas, determinar los daños causados a la raíz, conocer su biología y comportamiento, y evaluar métodos de control químico oxamil, spirotetramad, imidacloprid, carbofuran, clorpirifos, y un control biológico *Bacillus thuringiensis* var. *Israeliensis*. Se colectaron adultos mosco fungoso en plántulas de *P. montezumae*, en el vivero de Temamatla, Estado de México. Las especies identificadas por claves taxonómicas y secuencia genética fueron *Lycoriella ingenua* y *Bradycia impatiens*. El ciclo biológico promedio para *L. ingenua* fue de 30.5 a 22°C ± 2°C en laboratorio. La separación de instares larvarios se realizó mediante la técnica de conglomerados jerárquicos, usando el largo del cuerpo de la larva y ancho de la caja cefálica, y por medio de la distribución de los espiráculos, se obtuvieron 4 instares larvarios. En el caso de *B. impatiens* solo se usó el ancho de la caja cefálica dando cuatro instares larvarios. La proporción de sexos fue de un macho por cada 1.25 hembra en *L. ingenua* y *B. impatiens* por cada macho 2.4 hembras. Por otra parte, de los tratamientos de control aplicados el imidacloprid en dosis alta y media protegen en un 100%, seguidos de spirotetramat y oxamil en dosis altas protegiendo con un 96.17% y 95.75% respectivamente. El control químico y biológico puede ser parte de la estrategia de manejo del mosco fungoso, siempre y cuando se complementen con otras estrategias de control.

Palabras clave: Mosco fungoso negro, insecticidas, *Bacillus thuringiensis*, ciclo biológico, *Fusarium circinatum*.

In the last years, the black fungus gnats (Diptera: Sciaridae) has become a top pest in conifer forestry nurseries in the center of Mexico. Nevertheless, there is a lack of information to identify the species; the ignorance of its biology and behavior thus a lack of a specific management in forestry nurseries. It was suggested in this work to identify the black fungus gnats species associated to pine growth, to know which fungi are associated to adults and larvae, to determine the harm caused to the root, to know its biology and behavior, and to evaluate the oxamil, spirotetramad, imidacloprid, carbofuran, clorpirifos chemical biological control and a biological control *Bacillus thuringiensis* var. *Israeliensis*. Black fungus gnats adults were collected in seedlings of *P. montezumae*, in the Temamatla nursery in Mexico Estate. The identified species by taxonomical keys and genetic sequence were *Lycoriella ingenua* and *Bradycia impatiens*. The division of larval instars was done through the hierarchical conglomerates using the larva length and cephalic cage width and by the means of spiracles distribution 4 larval instars were obtained. In the case of *B. impatiens* only the width cephalic cage was used having as a result four larval instars. The proportion of sexes was of 1 male by 1.25 female in *L. ingenua* and in *B. impatiens* by each male 2.4 females. Besides this, from the control treatments applied the imidacloprid in high and half doses protect a 100%, spirotetramat and oxamil followed by high-dose protecting a 97.9% and 92.2% respectively. The chemical and biological control can be part of the management strategy of the black fungus gnats, on condition that it is complemented with other control strategies.

Key words: Black fungus gnats, insecticides, *Bacillus thuringiensis*, biological cycle, *Fusarium circinatum*.

1 Tesista

2 Director

INDICE GENERAL

CONTENIDO	PAGINA
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
DATOS BIOGRÁFICOS.....	v
BIOLOGÍA, HONGOS ASOCIADOS Y CONTROL DE <i>Lycoriella ingenua</i> Y <i>Bradysia impatiens</i> (DIPTERA: SCIARIDAE)	
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	vi
INDICE DE CUADROS	x
INDICE DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVOS.....	4
CAPÍTULO I.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA	5
1.1 MOSCO FUNGOSO NEGRO	5
1.1.1 Importancia	6
1.1.2 Síntomas y daños	7
1.1.3 Ciclo de vida	8
1.1.4 Manejo	8
1.1.4.1 Control cultural	9

1.1.4.2 Control físico.....	10
1.1.4.3 Control químico	10
1.1.4.4 Control biológico.....	11
CAPÍTULO II	12
PRIMER REPORTE SOBRE <i>Lycoriella ingenua</i> Y <i>Bradysia impatiens</i>	
(DIPTERA: SCIARIDAE) BIOLOGÍA Y HONGOS ASOCIADOS.....	12
2.1 RESUMEN	12
2.2 INTRODUCCIÓN	13
2.3 MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.3.1 Identificación de especies del mosco fungoso negro.....	15
2.3.2 Hongos asociados al mosco fungoso negro	15
2.3.3 Ciclo biológico y comportamiento de <i>L. ingenua</i> y <i>B. impatiens</i>	16
2.3.3.1 Ciclo biológico	16
2.3.3.2 Numero de Huevos.....	17
2.3.3.3 Pupa	17
2.3.3.4 Instares larva	17
2.3.3.5 Proporción de sexos	18
2.3.3.6 Comportamiento	19
2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
2.4.1 Identificación de especies.....	19
2.4.1.1 Diagnósis <i>Bradysia impatiens</i> (Johannsen, 1912).....	20
2.4.1.2 Diagnósis <i>Lycoriella (Lycoriella) ingenua</i> (Dofour, 1839).	23
2.4.1.3 Ovoposición de <i>L. ingenua</i>	27
2.4.1.4 Larvas.....	28
2.4.1.5 Pupa	28
2.4.1.6 Medias de estadios de <i>Lycoriella ingenua</i>	30
2.4.2 Ciclos biológicos y comportamiento <i>L. ingenua</i> y <i>B. impatiens</i>	30
2.4.2.1 Ciclo biológico <i>B. impatiens</i>	30
2.4.2.2 Ciclo biológico <i>L. ingenua</i>	31

2.4.3 Comportamiento y ecología de <i>Lycoriella ingenua</i> y <i>Bradysia impatiens</i> .	32
2.4.3.1 Comportamiento.....	32
2.4.4 Proporción de sexos	34
2.4.5 Instares de larvarios de <i>B. impatiens</i>	34
2.4.6 Instares de larvarios de <i>L. ingenua</i>	36
2.4.7 Disposición de espiráculos en larvas	38
2.4.8 Hongos asociados al mosco fungoso negro	38
2.4.9 Daño en raíz de plántulas de <i>Pinus montezumae</i>	39
2.5 CONCLUSIONES	43
AGRADECIMIENTOS.....	44
2.6 LITERATURA CITADA.....	45
CAPÍTULO III.....	50
SEGUNDO REPORTE SOBRE CONTROL DE MOSCO FUNGOSO NEGRO, <i>Lycoriella ingenua</i> (Dofour) Y <i>Bradysia impatiens</i> (Johannsen) (DIPTERA: SCIARIDAE),EN <i>Pinus montezumae</i> (Lamb).....	50
3.1 RESUMEN	50
3.2 INTRODUCCIÓN	51
3.3 MATERIALES Y MÉTODOS	53
3.3.1 Ensayo de control del mosco fungoso negro	53
3.3.2 Eficacia de tratamientos.....	56
3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
3.5 CONCLUSIONES	62
AGRADECIMIENTOS.....	63
3.6 LITERATURA CITADA.....	64
4. DISCUSIONES Y CONCLUSIONES GENERALES	68
5. LITERATURA GENERAL CITADA	70

INDICE DE CUADROS

PAGINA

CAPITULO II

Cuadro 1. Medias del largo de los diferentes estadios de *L. ingenua* en mm.....**30**

Cuadro 2. Ciclos biológicos de *L. ingenua* de autores y temperaturas diferentes.**31**

CAPITULO III

Cuadro 1. Tratamientos, ingrediente activo, formulación y dosis usada por tratamiento.....**55**

Cuadro 2. Análisis de varianza de porcentajes de protección de plántulas por tratamiento.....57

Cuadro 3. Prueba de medias de Tukey, para eficacia de protección de plantas...**58**

Cuadro 4. Contrastes ortogonales calculados a partir de transformación arcoseno.....**59**

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Macho adulto de *B. impatiens* (A-F) (A) Cuarto flagelómero. (B) Palpo. (C) Tibia anterior, peine apical. (D) Ala. (E) Genitalia, vista ventral. (F) Gonostilo, vista lateral.....22
- Figura 2.** Macho adulto de *L. ingenua* (A-H) (A) Macho, habito. (B) Cuarto flagelómero, vista lateral. (C) Palpo. (D) Tibia anterior, perine apical. (E) Ala. (F) Genitalia, vista ventral. (G) Lóbulo basal del gonocoxito, vista ventral. (H) Gonostilo, vista lateral.....25
- Figura 3.** Oviposición de *Lycoriella ingenua*. (A) Hembra y macho de *L. ingenua* apareándose. (B y C) Hembras ovipositando. (D) Huevos puestos preferentemente en grietas o ranuras. (E y F) Huevos puestos de manera individual y en grupos.....28
- Figura 4.** Hábitos de pupas de *L. ingenua* (A-F) (A) Prepupa se ve claramente cómo se contrae el cuerpo de la larva de cuarto instar. (B) Pupa de color blanco sujeta por hilos de seda de un día. (C) Pupa de color blanco de un día sin hilos de seda. (D) Pupa que construye capullo con hilos de seda. (E) Pupa con capullo hecho de excremento y basura. (F) Pupa de tercer día de color dorado, no construye capullo.....29
- Figura 5.** (A-C) Hongos que invaden a huevos y capturan adultos. (A) huevos invadidos por micelio de hongo. (B-C) Adultos capturados por micelio de hongos.....33

Figura 6. (A-F) Larvas libres e infestadas por nematodos. (A) Larva libre de infestación de nematodo. (B y E) Larvas con deformaciones causadas por nematodos. (D) Nematodos en rojo en larvas. (C, D y F) Nematodos emergiendo de larvas.....	33
Figura 7. Valores AWE(k) de la función mclust del S-PLUS obtenidos de las mediciones de amplitud de la capsula cefálica de la muestra de larvas de <i>B. impatiens</i>	35
Figura 8. Instares larvales de <i>B. impatiens</i>	35
Figura 9. Ancho de capsula cefálica por estadio de <i>B. impatiens</i>	36
Figura 10. Valores AWE obtenidos al agrupar con la amplitud de la cápsula cefálica y largo del cuerpo de la muestra de <i>L. ingenua</i> con el procedimiento de conglomerados jerárquicos.....	37
Figura 11. Representación gráfica de los 4 instares larvales de <i>L. ingenua</i> obtenidos con conglomerados jerárquicos.....	37
Figura 12. Raíz de <i>Pinus montezumae</i> (A-I) (A) Corte transversal de raíz de pino, sin ataque de larvas. (B) Larva <i>L. ingenua</i> comiendo pelos radiculares. (C) Corte transversal donde se aprecia el córtex consumido por larvas y exodermis sin consumir que sirve como protección a larvas. (D) Corte transversal que muestra excremento acumulado de larvas. (E) Raíz con evidencia de presencia de larvas. (F) Raíz consumida completamente por larvas, excremento y mudas. (G) Perforación de entrada de larvas a la raíz. (H y I) Raíces muerta por otras causas diferentes al mosco fungoso negro, el córtex se encuentra muerto pero no fue consumido por las larvas.....	42

INTRODUCCIÓN GENERAL

En los viveros forestales de coníferas se presentan plagas y enfermedades en el sistema radicular de las plántulas. Las plagas y enfermedades de la raíz son por lo general tan comunes, como las que atacan la parte aérea de las plántulas, y con frecuencia causan daños severos. La importancia relativa de las plagas y enfermedades de la raíz, generalmente puede ser subestimada, dado que no es evidente el agente causal, porque no está a la vista; los problemas en la raíz comúnmente se expresan en síntomas foliares. Los especialistas consideran que muchos síntomas foliares frecuentemente indican daños avanzados en las raíces, y en ocasiones ya son irreversibles (Cibrián *et al.*, 2008; Landis *et al.*, 1989).

Dentro de la gran variedad de agentes patógenos que atacan al sistema radicular en los viveros forestales, se tiene a los Dípteros de la familia Sciaridae, que son conocidos comúnmente como mosco fungoso negro (Black Fungus Gnats) (Mohrig y Menzel, 2009; Menzel *et al.*, 2003). Sin embargo esta familia comprende una gran cantidad de especies. Mohrig y Menzel (2009) reportan que solo en la región neártica, especialmente en Estados Unidos de Norte América y Canadá se han descrito 150 especies de Sciaridae. Según Steffan (1981) las larvas de sciaridos generalmente se alimentan de materia orgánica en descomposición, excremento de animales y hongos. Algunas especies consumen corteza o raíces de plantas. Varias especies son consideradas plagas de

importancia económica en invernaderos y en la producción comercial de hongos comestibles.

En México el mosco fungoso negro se ha reportado atacando raíces y bulbos, principalmente en invernaderos y viveros de ornamentales, hortalizas y en jardines (Cibrián *et al.*, 2008; García, 2008; Villanueva *et al.*, 2013). Cibrián *et al.* (2008) menciona que en el estados de Jalisco y de México se tienen reportes de ataques severos en viveros forestales. Además, en el año 2010 en el vivero forestal de Temamatla, Estado de México, se presentó una abundancia de población de mosco fungoso negro, ocasionando cuantiosas pérdidas de plántulas de coníferas, especialmente de *Pinus montezumae*. Los daños causados por las larvas consisten en que consumen los pelos radiculares y las partes suculentas de la raíz de plántulas (Cibrián *et al.*, 2008). También, las larvas y adultos del mosco fungoso pueden causar daños indirectos al transportar en su cuerpo y transmitir hongos patógenos (Pundt, 1999). Los síntomas en las plántulas son: pérdida de vigor y hojas, marchitez, amarillamiento, escaso crecimiento, pudrición de raíz. En ataques severos puede causar la muerte de la plántula (Cibrián *et al.*, 2008; Landis *et al.*, 1989; Pundt, 1999).

Los métodos de control químico y biológico, generalmente se usan para manejar esta plaga. Sin embargo, la elaboración de estrategias eficientes de control de poblaciones requiere una completa identificación de especies y su conocimiento de sus estados de desarrollo (Lewandowski *et al.*, 2004).

En el centro de México en viveros forestales de coníferas el mosco fungoso negro se ha convertido en una plaga de primer orden. La falta de conocimiento del mosco fungoso negro sobre su manejo en viveros forestales, la escasa información en la identificación de especies, su biología y comportamiento. Así como, la capacidad de reproducción y habilidad de crear resistencia a los insecticidas de esta plaga. Motivaron realizar el presente trabajo.

OBJETIVOS

Los objetivos planteados en este trabajo son:

a) Identificación de las especies existentes de mosco fungoso negro en el vivero de Temamatla, México; que hongos se asociados a larvas y adultos; describir el daño causado al sistema radicular de las plántulas de *Pinus montezumae* (Lamb); determinar su biología y ciclo.

b) Evaluar diferentes insecticidas químicos y biológicos para el control de *Lycoriella ingenua* (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae) en Plántulas de *P. montezumae*.

I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 MOSCO FUNGOSO NEGRO

Los Dípteros de la familia Sciaridae son conocidos como mosco fungoso negro (Black Fungus Gnats), se encuentran en todos los continentes y se caracterizan por tener un gran número de especies (Menzel *et al.*, 2003). Se han descrito cerca de 2400 especies en todo el mundo. En la región neartica tienen descritas cerca de 150 especies de la familia Sciaridae, principalmente en Estados Unidos y Canadá. En México, Centro América y Sudamérica la familia Sciaridae está poco estudiada y solo se han descrito unas cuantas especies (Mohrig y Menzel, 2009).

Los adultos del mosco fungoso negro viven libres y con frecuencia son muy activos si se les molesta, viven en lugares con sombra y húmedos (Cibrián *et al.*, 2008). Las larvas viven en la materia orgánica en descomposición, debajo del suelo, debajo de la corteza de árboles o en troncos que están en descomposición, en hongos, en micro cavernas en el suelo, y en las hojas y raíces de plantas herbáceas (Menzel *et al.*, 2003; Mohrig y Menzel, 2009). Las larvas generalmente se alimentan de plantas en descomposición, excremento de animales, hongos, madera y raíces (Steffan, 1981; Menzel *et al.*, 2003; Mohrig y Menzel, 2009). Tienen una gran cantidad de plantas hospederas.

1.1.1 Importancia

Algunas especies de Sciaridae son reportadas como plagas de importancia económica en invernaderos de producción de ornamentales, hortalizas, flores y frutas, leguminosas forrajeras, coníferas, y en la producción comercial de hongos y en viveros (Aguilar y Ortega, 1996; Cibrián *et al.*, 2008; García, 2008; James *et al.*, 1995; Landis *et al.*, 1989; Hurley *et al.*, 2007; Keates *et al.*, 1989; Mansilla *et al.*, 2001; Menzel *et al.*, 2003, 2006; Mohrig y Menzel, 2009; Steffan, 1981; Springer 1995a; White *et al.*, 2000). Si en el sustrato donde se desarrollan las larvas no existen suficientes fuentes de alimento, las larvas se alimentan de raíces vivas de las plantas o de bulbos, semillas carnosas como las de encino.

Dentro de las especies de importancia económica de la familia Sciriadae están *Lycoriella ingenua* (Dufour. 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (= *Bradysia difformis* Frey). Las larvas de *L. ingenua* son consideradas como una de las principales plagas en el mundo en la producción comercial de hongos *Agaricus biosporus* (Lange) Imbach, se alimentan directamente del micelio, hacen galerías en los hongos, indirectamente dañan el sustrato, inhibiendo el crecimiento del micelio y los adultos pueden transportar agentes patógenos como nematodos, hongos y agentes contaminantes (Erler *et al.*, 2011; O'Connor y Keil, 2005; Smith *et al.*, 2006; White *et al.*, 2000). Las larvas de *B. impatiens* son reportadas atacando producciones comerciales de hongos, pero también en invernaderos de ornamentales (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex. Klotzch), forrajes y en viveros forestales de *Eucalyptus* y coníferas (Hurley *et al.*, 2007, 2010; Mansilla *et al.*,

2011; Villanueva *et al.*, 2013). También, se considera al mosco fungoso negro como un posible transmisor de hongos patógenos como, *Botrytis cinerea*, *Pythium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo-atrum*, *Verticillium fungicola*, *Fusarium circinatum* (Gardiner *et al.*, 1990; Gillespie y Menzies, 1993; James *et al.*, 1995; Hurley *et al.*, 2007, 2010; Kalb y Millar, 1986; Shamsad *et al.*, 2009).

Cibrián *et al.* (2008) reporta en México en los estados de Jalisco y Estado de México, infestaciones severas del mosco fungoso negro. Causando grandes pérdidas de coníferas.

1.1.2 Síntomas y daños

La primera señal de infestación por mosco fungoso negro es la presencia de adultos volando alrededor de las plantas hospedantes y en las zonas oscuras y húmedas. Si bien, los adultos pueden transportar hongos patógenos en su cuerpo. Las larvas son los verdaderos causantes de daños a las plantas. Las larvas pueden consumir por completo, pequeñas raíces, o solamente el exterior de las raíces grandes, dejando el tejido vascular en tiras. Cuando los síntomas se hacen evidentes, el daño es tan severo que el control de las larvas ya no es práctico (Cibrián *et al.*, 2008; Landis *et al.*, 1989; Pundt, 1999).

Los síntomas que presentan las plantas que son atacadas por el mosco fungoso negro son: pérdida de vigor repentino, amarillamiento, pudrición en raíz, escaso crecimiento, caída de hojas, marchitez, y en infestaciones severas la muerte de la planta. Pero se debe tener cuidado, estos síntomas pueden ser

confundidos con los de *Fusarium circinatum* (Cibrián *et al.*, 2008; Landis *et al.*, 1989; Pundt, 1999).

Las larvas del mosco fungoso negro en plántulas de leguminosas consumen los tejidos de la epidermis y el córtex; sin embargo, los tejidos del cilindro vascular lignificados no son comidos. Estos ataques de las larvas provocan el marchitamiento de la planta, pérdida de vigor y escaso crecimiento (Springer, 1995b).

1.1.3 Ciclo de vida

El ciclo de vida del mosco fungoso negro desde huevo a adulto puede variar de 3 a 5 semanas dependiendo de la temperatura (Mansilla *et al.*, 2001; Pundt, 1999; Villanueva *et al.*, 2013). Mansilla *et al.* (2001) reporta que *B. impatiens* a una temperatura de 23°C. ± 1 y 70 ± 1 % de humedad relativa, los adultos viven de 4 a 7 días; huevos 3 o 5 días; total del estadio larvario 9 a 13 días; pupa de 4 a 6 días. En total el ciclo completo tiene una duración de entre 20 a 31 días. Wilkinson y Daugherty (1970) reporta para *B. impatiens* que la duración del ciclo de completo, en promedio dura 27.5 días. Frouz y Nováková (2000) reportan para *L. ingenua* su ciclo completo puede durar 18 días a 25°C, hasta 40 días a 15°C., y que la duración del ciclo de vida está determinado por la temperatura.

1.1.4 Manejo

El mosco fungoso tiene un ciclo de vida muy corto de aproximadamente 30 días desde huevo hasta adulto; las hembras ponen de 100 a 200 huevos; presenta

varias generaciones (Cibrián *et al.*, 2008; Landis *et al.*, 1989; Pundt, 1999). Como consecuencia de su ciclo biológico corto y el gran número de huevos puestos por cada hembra las poblaciones se incrementan muy rápidamente. Además, las generaciones se traslapan. Estas características del ciclo biológico y reproductivas del mosco fungoso hacen difícil su manejo. Por tales motivos el manejo debe involucrar varias técnicas control (Cibrián *et al.*, 2008; García, 2008; Landis *et al.*, 1989; Pundt, 1999).

1.1.4.1 Control cultural. En el control del mosco fungoso negro en invernaderos y viveros, la sanidad e higiene juegan un papel primordial. Dentro de las acciones que se deben realizar son: desinfección del sustrato, desinfección de camas del vivero, así como los tubetes o charolas que se utilizan cada ciclo; Buena nivelación del terreno, para evitar encharcamientos; Revisión de material propagativo; En caso de usar compostas, se debe de verificar que este bien procesada y libre del mosco fungoso negro; adecuado manejo de la nutrición y fertilización de las plántulas que crecen en el vivero para garantizar su vigor; Establecer láminas de riego necesarias y adecuadas, para evitar problemas de excesos de agua y mal drenaje (relacionado también con un buen sustrato); Verificar la adecuada altura de las camas del vivero para evitar microclimas que proporcionen sombra y humedad; remoción de malezas, y en caso de haber plantas infectadas eliminarlas; aplicar una capa de jal o vermiculita (García, 2008; James *et al.*, 1995; Landis *et al.*, 2008; Pundt, 1999). En el caso de la producción de hongos comestibles se debe de hacer una correcta pasteurización del sustrato, desinfectar los invernaderos entre cultivos. También, mantener cerrados los

invernaderos (White, 1981). Además, de las recomendaciones anteriores. Se debe monitorear permanentemente la evolución de poblaciones de mosco fungoso negro, para realizar aplicaciones de insecticidas oportunamente (Cibrián *et al.*, 2008; Landis *et al.*, 1989; Pundt, 1999).

1.1.4.2 Control físico. El control de los adultos mediante este método consiste en colocar trampas pegajosas ya sean de color amarillo o rojas a una altura de 15 cm del follaje de las plantas, en una densidad de 10 a 20 trampas por cada 1000 metros cuadrados. Estas trampas se deben retirar periódicamente.

Para controlar las larvas el método consiste en enterrar rodajas de papa para atraer a las larvas. Retirarlas una vez por semana (García, 2008; Landis *et al.*, 1989; Pundt, 1999). Sin embargo, estos métodos son más eficientes para monitorear el comportamiento de la población.

1.1.4.3 Control químico. El control del mosco fungoso negro en infestaciones severas se realiza con insecticidas químicos. Estos disminuyen rápidamente las poblaciones de larvas, pero esto solo es una solución temporal (James *et al.*, 1995; Pundt, 1999). Mansilla *et al.* (2001) obtuvo resultados satisfactorios utilizando Flufenoxuron, diflebenzuron, azadiractina y deltrametrina. Aguilera y Ortega (1996) reportan que plantas de trébol rosado (*Trifolium pratense* L.) tratadas con clorpirifos, fueron protegidas al 100%. A pesar de la facilidad de conseguir los productos químicos y su gran variedad de presentaciones, tienen algunas desventajas como es el caso de los organofosforados que el uso repetido y gran número de generaciones que tiene el mosco fungoso, ocasiona que rápido

desarrollen resistencia el mosco fungoso negro (White, 1981). Erler *et al.* (2011) en la producción del hongo *Agaricus bisporus* obtuvo que los reguladores de crecimiento teflubenzuron, pyriproxyfen, novaluron y diflubenzuron pueden ser una alternativa de control de *Lycoriella ingenua*.

1.1.4.4 Control biológico. Este tipo de control ha resultado ser efectivo en larvas. Se realiza básicamente con dos entomopatógenos como la bacteria *Bacillus thuringiensis* subespecie israelensis y el nematodo entomofago *Steinernema feltiae*, y *S. carpocapsae* (Cibrián *et al.*, 2008; Cloyd y Dickinson, 2006; Landis *et al.*, 1989; Mansilla *et al.*, 2001; Pundt, 1999; Van Epenhuijsen *et al.*, 2001; White, 1999). Estos tipos de control son de fácil aplicación y se consiguen comercialmente.

II. PRIMER REPORTE SOBRE *Lycoriella ingenua* Y *Bradysia impatiens* (DIPTERA: SCIARIDAE) BIOLOGÍA Y HONGOS ASOCIADOS

Victor Hugo Marín Cruz¹

David Cibrián Tovar²

2.1 RESUMEN

Se estudiaron dos especies de mosco fungoso negro, *Lycoriella (Lycoriella) ingenua* (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae), que causan daño a plántulas de *Pinus montezumae* (Lamb, 1832) en viveros forestales. Estos dípteros se identificaron morfológicamente y por métodos moleculares y se citan por primera vez como plaga en viveros forestales de México. Para *L. ingenua* la proporción de sexos por cada macho fue 1.25 hembras; para esta especie se midieron huevos, pupas, larvas y cápsulas cefálicas. Con los datos morfométricos de longitud de cuerpo y ancho de la capsula cefálica de larvas y mediante el método de conglomerados jerárquicos se determinaron los instares larvarios de la especie. Para *B. impatiens* por cada macho existen 2.4 hembras. En la definición de los instares larvarios, el mejor parámetro fue el ancho de capsula cefálica. Ambas especies presentaron cuatro instares larvarios. Las dos especies se criaron en laboratorio a $21 \pm 2^\circ\text{C}$. El ciclo completo de *L. ingenua* requirió de 30.5 ± 3.5 días. Para *B. impatiens* el tiempo para concluir ciclos biológicos fue de 27.5 ± 2.5 días. Se determinó que las larvas de ambas especies consumen la raíz de *P. montezumae*. Se identificaron los hongos asociados a larvas y adultos de ambas especies, *Fusarium circinatum* fue el más importante y se registra por primera vez en viveros de *P. montezumae*; esta especie de hongo se identificó mediante morfología y por métodos moleculares.

Palabras clave: Mosco fungoso negro, ciclo biológico, instares larvarios, hongos asociados, proporción de sexos.

1 Tesista
2 Director

ABSTRACT

Lycoriella (Lycoriella) ingenua (Dufour, 1839) and *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae) are two black fungus gnats species studied that harm *Pinus montezumae* (Lamb, 1832) seedlings in forestry nurseries. These dipterous were morphological and molecularly identified and are mentioned for the first time as a pest in Mexico's forestry nurseries. To *Lycoriella ingenua* the proportion of sexes by each male was of 1.25 females; for this species eggs, pupas, larvae and cephalic capsules were measured. The morphometric data of body length and cephalic cage width of larvae through the hierarchical conglomerated method determined the larval instars of the species. To *B. impatiens* by each male there are 2.4 females. In the definition of the larval instars the best parameter was the one of the cephalic capsule. Both species presented four larval instars. Both species were bred under lab conditions at $21 \pm 2^\circ\text{C}$. The whole cycle of *L. ingenua* required 30.5 ± 3.5 days. For *B. impatiens* the time to conclude biological cycles was of 27.5 ± 2.5 days. It was determined that both species of larvae consume *P. montezumae* root. The fungi associated to larvae and fungi of both species were identified. *Fusarium circinatum* was the most important and it is registered for the first time in nurseries of *Pinus montezumae*; this species was morphological and molecularly identified.

Key words: black fungus gnats, biological cycle, larval instars, associated fungi, sex proportion.

2.2 INTRODUCCIÓN

Los adultos de la familia Sciaridae son pequeñas moscas que miden de 1-6 mm (Mohrig y Menzel, 2009); entre sus especies están los conocidos comúnmente como moscos fungosos negros, insectos que se constituyen como plagas en viveros e invernaderos; comprenden varios géneros y especies. Dentro de estos géneros se incluye *Lycoriella* Frey, 1972 y *Bradysia* Winnertz, 1867. Las larvas se alimentan de hongos, algas y materia orgánica en descomposición, eventualmente son capaces de perforar raíces sanas de diferentes especies y semillas carnosas cuando las condiciones son favorables, y en infestaciones severas pueden ocasionar la muerte de la planta (Aguilera y Ortega, 1996; Cibrián *et al.*, 2008; Landis *et al.*, 2008; Mansilla *et al.*, 2001; Springer, 1995a, b). Varias especies de la familia Sciaridae son reportadas como plagas de importancia económica en invernaderos y en la producción del hongo *Agaricus bisporus* (Lange) (Imbach) (Erlor *et al.*, 2011; Landis *et al.*, 1989; Loudon, 1978; O'Connor y Keil, 2005; Shin *et al.*, 2012; Smith *et al.*, 2006; Steffan, 1981; White *et al.*, 2000). Las plantas atacadas por el mosco fungoso negro presentan los síntomas de pérdida de vigor, marchitez, desprendimiento de hojas, escaso crecimiento, amarillamiento de follaje (Cibrián *et al.*, 2008, Landis *et al.*, 1989; Pundt, 1999). Además, las larvas y adultos del mosco fungoso pueden facilitar la infección de plántulas por llevar sobre su cuerpo esporas de hongos patógenos como *Pythium*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Verticillium* y *Phoma* (Braun *et al.*, 2009; Gardiner *et al.*, 1990; Gillespie y Menzies., 1993; Hurley *et al.*, 2007; James *et al.*, 1995; Kalb y Millar, 1986; Pundt, 1999).

En los últimos años se ha reportado al mosco fungoso negro alimentándose de las raíces de plántulas de árboles como eucaliptos y coníferas (Cibrián *et al.*, 2008; James *et al.*, 1995; Hurley *et al.*, 2007; Keates *et al.*, 1988; Landis *et al.*, 1989; Mansilla *et al.*, 2001; Menzel *et al.*, 2003, 2006). Según Cibrián *et al.* (2008) en México se tienen reportes de severas infestaciones del mosco fungoso en viveros forestales en el centro del país, causando cuantiosas pérdidas de plántulas de coníferas.

En el ciclo de producción de planta forestal de 2010-2011, en el vivero forestal de Temamatla, Estado de México se tuvieron infestaciones severas por el mosco fungoso, las pérdidas fueron de más del 40% de la cosecha de planta (1.5 millones de un total de 4 millones), la información básica para el manejo de la plaga fue reducida e incompleta, no se conocían las especies de mosco fungoso involucradas, ni sus ciclos y hábitos. Por ello se planteó el presente estudio con los objetivos de identificar y describir las especies existentes de mosco fungoso en el vivero de Temamatla, además, estudiar su ciclo biológico, hábitos y su relación con hongos patógenos de la raíz.

2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Los adultos y larvas de mosco fungoso negro fueron recolectados en octubre de 2012, de plántulas de *P. montezumae* del vivero forestal de Temamatla, Estado de México, en el momento de la recolecta las plántulas de pino tenían una edad de dos meses. Los adultos de mosco fungoso se capturaron

con un aspirador manual. Las larvas se tomaron con un pincel directamente de la raíz y del sustrato donde crece el pino.

2.3.1 Identificación de especies del mosco fungoso negro

Los adultos de mosco fungoso *Lycoriella (Lycoriella) Ingenua* (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) se conservaron en frascos con etanol al 96%. Para su identificación se montaron en laminillas con azul de algodón. En su estudio se usó un microscopio óptico Leica. Se usaron claves taxonómicas de la familia Sciridae de Mohrig y Menzel (2009), Steffan (1981), Komarov (2009); Menzel *et al.*, (2003); Shin *et al.*, 280129, y Villanueva *et al.*, (2013). La identificación de las especies se corroboró por medio de extracción de DNA. El método utilizado para extracción de DNA fue el usado por Hurley *et al.*, (2010).

2.3.2 Hongos asociados al mosco fungoso negro

Para determinar los hongos asociados al cuerpo de los insectos, se recolectaron adultos y larvas de ambas especies directamente de los contenedores donde crece *P. montezumae*. En un lote de 10 cajas de Petri con medio de cultivo de dextrosa papa agar (PDA) sin antibiótico se colocaron 10 larvas vivas por cada caja; también se colocaron 10 adultos vivos en cada una de 10 cajas de Petri. Las cajas de Petri se mantuvieron en una cámara de cría a una temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Se revisaron diariamente, al octavo día las colonias de hongos se reislaron para tener cultivos puros. Los géneros de hongos obtenidos se identificaron según la clave de Carrillo (2003) y un microscopio óptico

Leica. La caracterización molecular de las especies de hongos patógenos se realizó la extracción DNA con primers especies-específicos CIRC1A y CIRC4A para detectar *Fusarium* sp., según el método empleado Hurley *et al.*, (2007).

2.3.3 Ciclo biológico y comportamiento de *L. ingenua* y *B. impatiens*

2.3.3.1 Ciclo biológico. Los adultos de las dos especies previamente identificadas, se colocaron por separado en cámaras de cría. Estas cámaras consistieron en envases de plástico de medio litro, transparentes con tapa. Se colocaron diez repeticiones por género, cada una consistió en 10 hembras y dos machos adultos. Los envases de plástico se prepararon: cubriendo el piso con recortes de papel bond blanco, el papel se colocó para conservar la humedad. Además, se colocaron tres rodajas de papas (diámetro de 3 cm y de alto 1.5 cm) previamente desinfectadas mediante flameo con alcohol y mechero, a cada rodaja se le realizó, con una aguja de disección, cuatro ranuras con una profundidad de 0.5 cm, con el fin de que las hembras pusieran sus huevos en las ranuras. Para mantener la humedad en los envases, cada cuatro días se agregaron 3 ml de agua destilada, en el centro de las tapas se perforó un círculo (3 cm de diámetro) para introducir los adultos de mosco fungoso. Para que no escaparan los adultos, la perforación se selló con tapón de algodón. Las cámaras de cría se mantuvieron a una temperatura $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Una vez que las hembras pusieron los huevos, éstos se sacaron y se colocaron en grupos de 30-50 en cajas de Petri, preparadas con fondo de papel y una rodaja de papa. Se registró el desarrollo de esta población en las cajas de

Petri, hasta que inició la emergencia de nuevos adultos; conforme fueron emergiendo se separaron en parejas, macho y hembra; cada pareja fue puesta en una nueva caja de Petri, de esta manera se aseguró el desarrollo de cada especie, se usaron 15 repeticiones por cada especie, se tomaron datos todos los días hasta terminar el ciclo. La duración del ciclo biológico se determinó a partir de la aparición de los adultos hasta que emergieron nuevos adultos. Una vez que morían, los adultos se montaban en porta objetos y se determinaba la especie.

2.3.3.2 Numero de Huevos. Para determinar el número de huevos puestos por hembra, en un envase de medio litro (preparado de la misma forma que los anteriores) se colocaron un macho y una hembra adultos de la misma especie recién emergidos sin aparearse (se hicieron 15 repeticiones). Dentro se aparearon y las hembras ovipositaron; una vez que la hembra moría se revisó con un microscopio óptico estereoscópico las rodajas de papa. Se contó el número de huevos puestos por hembra y la forma en que los puso y agrupó. Este material se utilizó para medir largo y ancho de los huevos.

2.3.3.3 Pupa. Se midió el largo y ancho, se determinó el tiempo que tardan en emerger los adultos, además se observó y documentó el comportamiento de las mismas.

2.3.3.4 Instares larvales. La separación de instares larvales se hizo por medio de la disposición de los espiráculos, como lo reporta Steffan, (1981). Las larvas de la familia Sciaridae tienen cuatro instares: metapneusticos en el primer instar; mientras que en el segundo y tercer instar son proneusticos; en el cuarto

instar son hemipneusticos. Para confirmar la separación de instares se hicieron estudios morfométricos por cada especie; para *L. ingenua* se midieron el largo del cuerpo y ancho, y largo de la cápsula cefálicas; Para *B. impatiens* solo se midió el largo y ancho de la cápsula cefálica. Los datos de morfometría se analizaron mediante el Análisis de Conglomerados Jerárquico (Castellanos y Olguín, 2000). Este procedimiento del Análisis Multivariante está diseñado para encontrar agrupaciones naturales (conglomerados o clusters) dentro de un conjunto de datos, se basa en el supuesto de que los datos son generados por una distribución mezcla. En la función “mclust” del S-Plus V 6.1, 2001 está implementado este procedimiento. Para cada número posible de grupos este procedimiento obtiene la mejor clasificación y proporciona los valores AWE(k) (por sus siglas en inglés), obtenidos como una función del factor de Bayes del modelo sin agrupamiento vs la clasificación con k grupos. Para seleccionar el número de grupos en base a este criterio se puede seleccionar el valor k^* que tiene valor AWE máximo. Sin embargo, si $AWE(k^*-1)$ no difiere mucho de $AWE(k^*)$, por el principio de parsimonia, puede ser preferible k^*-1 .

2.3.3.5 Proporción de sexos. La proporción de sexos se calculó analizando la genitalia, de 750 individuos adultos de *L. Ingenua*; y 583 adultos de *B. impatiens*. Estos individuos se obtuvieron de cámaras de cría (misma preparación que las anteriores) donde se pusieron 10 hembras con dos machos, con cinco repeticiones por cada especie. Se esperó que el ciclo se completara y todos los adultos se colectaron en alcohol al 96%.

2.3.3.6 Comportamiento. Se recolectaron plántulas de pino que presentaron síntomas de ataque de mosco fungoso negro. El cepellón de las plántulas fue removido con agua corriente. Con un microscopio estereoscópico se revisaron las raíces que dieron positivo a la presencia de daños de larvas, se identificó el sitio de entrada de la larva a la raíz. Después, se realizó un corte transversal a cada raíz. Este corte se hizo del cuello de la raíz hacia abajo. Los daños en cada raíz causados por larvas se describieron. Además, en cajas de Petri se colocaron en extremos opuestos 10 larvas de segundo y tercer instar de mosco fungoso y una plántula de pino. Este proceso se realizó con 15 repeticiones. Las larvas y la plántula se colocaron con una separación de 7.5 cm. Se contabilizó el tiempo que tomaron las larvas en detectar la raíz y llegar a ellas.

Se observó el comportamiento de larvas y adultos en cámaras de cría. Se registró día con día durante el ciclo completo, para conocer de forma precisa sus hábitos en laboratorio de *L. ingenua*.

2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.4.1 Identificación de especies

Para la identificación a nivel de género se utilizaron las claves de Steffan (1981) y Mohrig y Menzel (2009), con ellas se caracterizaron a los géneros *Bradysia* Winnertz, 1867 y *Lycoriella* Frey, 1948. Para la identificación de *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) se utilizó la redescipción de Menzel *et al.*

(2003), Shin *et al.* (2012) y Mohrig *et al.* (2012). Para *Lycoriella Ingenua* (Dufour, 1839) se utilizó la clave de Komarov (2007), Shin *et al.* (2012) y Mohrig *et al.* (2012). La identificación se corroboró con el estudio molecular de cada especie.

2.4.1.1 Diagnosis *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912). Adulto: Macho. Color pardo oscuro a negro, longitud 2.25 mm. Cabeza: Puente ocular de 2 a 3 facetas de ancho. Antena corta comprimida y uniformemente oscura, longitud 1.27 mm; cuarto flagelómero (Fig. 1A) 1.6 veces más largo que ancho, con la superficie ligeramente rugosa. Palpo (Fig. 1B) moderadamente largo, amarillo a pardo claro, con tres segmentos, segmento basal con la fosa sensorial profunda, sensilas largas, ligeramente curvadas con punta roma; 7 sedas largas dispuestas sobre el segmento. Tórax pardo oscuro a negro, con áreas laterales pardo claras a amarillas. Coxas y fémures pardos claros a blanquecinos amarillo; tibias y tarsos oscurecidos por las sedas oscuras y gruesas. Postpronotum sin sedas. Mesonotum con sedas largas y laterales, y sedas cortas dispersas sobre la superficie (setulae). Katepisternum triangular. Escutelo con tres sedas largas. Lado interno de la tibia anterior con una hilera de 10 sedas (Fig. 1C); tibia media y posterior con dos sedas delgadas en forma de espolones, subiguales. Uñas tarsales sin dientes. Ala (Fig. 1D) longitud total 1.95 mm, anchura 0.80 mm, infuscada grisácea-parda; venas posteriores sin macrotriquias; base de la M más larga que la bifurcación de M. Genitalia compacta (Fig. 1E); sin lóbulo basal o grupo de sedas en la vista ventral. Gonocoxito corto, cubierto con sedas oscuras, así como sedas gruesas y largas principalmente en la base. Tergite 9 corto, trapecoide, ligeramente emarginado apicalmente con varias sedas largas.

Gonostilo (Fig 1F) 2.5 veces más largo que ancho, ápice con sedas gruesas, 8 subiguales espinas curvadas ventromedialmente y una espina apical (diente). Tegmen ligeramente más ancho que largo, redondeado apicalmente; edeago con base esclerotizada, longitud 0.1 mm.

Hembra. Similar al macho. Longitud 2.25 mm. Antena longitud 1.30 mm. Cuarto flagelómero 2.2 veces más largo que ancho. Palpo con el segmento basal con la fosa sensorial profunda y oscura, 7 sedas largas dispuestas sobre el segmento. Longitud del ala 2.8 mm.

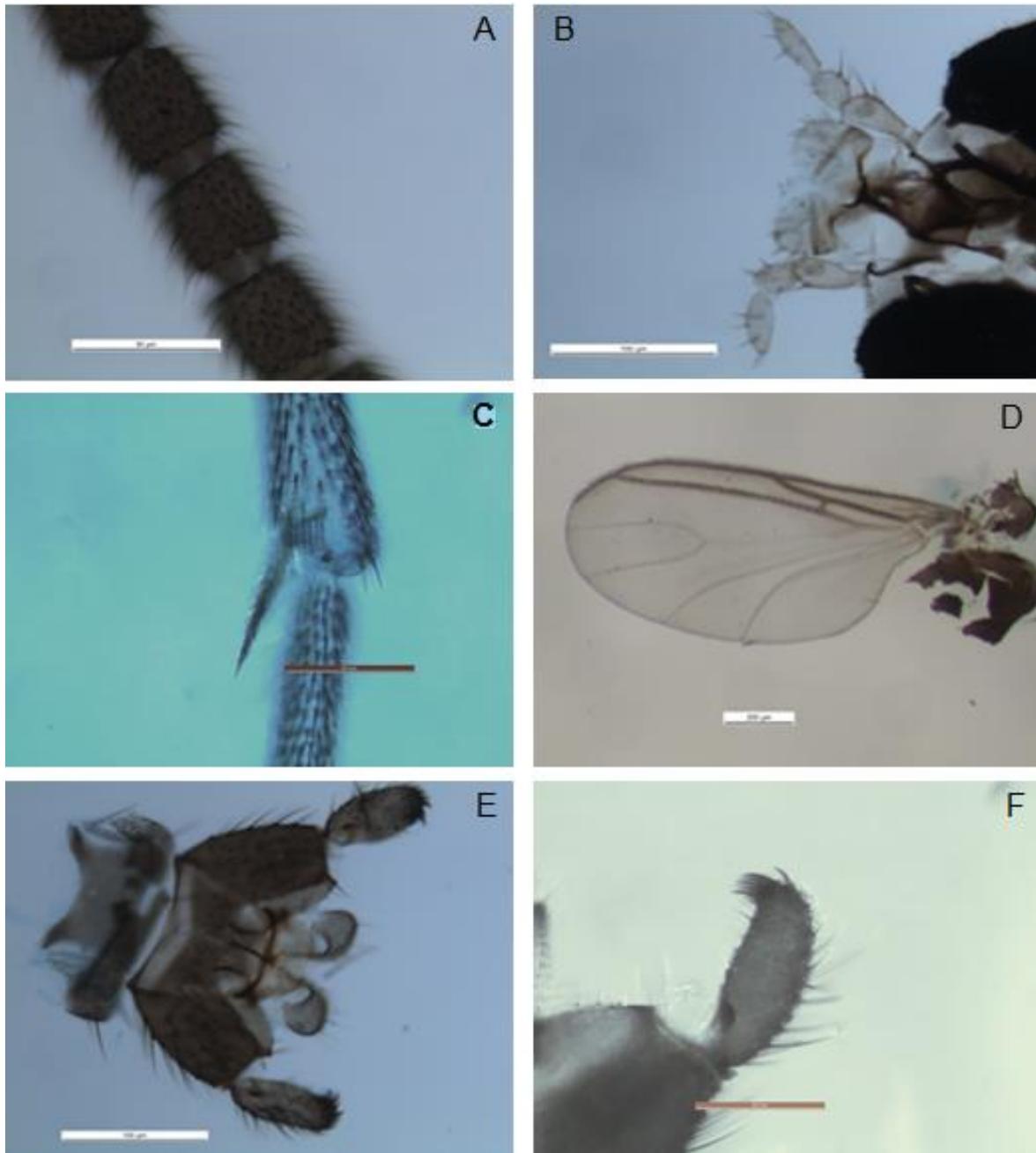


Figura 1. Macho adulto de *B. impatiens* (A-F) (A) Cuarto flagelómero. (B) Palpo. (C) Tibia anterior, peine apical. (D) Ala. (E) Genitalia, vista ventral. (F) Gonostilo, vista lateral.

En México *B. impatiens* es reportada como plaga común en los invernaderos de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzch) (Villanueva, 2013); sin embargo este insecto tiene distribución mundial, por ejemplo de Gran Bretaña se reporta atacando hongos comestibles en invernaderos (White *et al.*, 2000). Mansilla *et al.* (2001) la reportan causando daño en viveros de *Eucalyptus* en Italia. Hurley *et al.* (2007) y (2010) identificaron a *B. difformis* (sinonimia de *B. impatiens*) en viveros de coníferas en Sudáfrica. En México es la primera vez que se le reporta de viveros forestales. *B. impatiens* se extrajo del interior de raíces de plántulas de *P. montezumae*. Un total de 87 adultos de *B. impatiens* fueron colectados del vivero de Temamatla, México. Los cuales fueron procesados molecularmente; las secuencias genéticas se depositaron en el GenBank.

2.4.1.2 Diagnosis *Lycoriella (Lycoriella) ingenua* (Dufour, 1839). Macho (Fig. 2A). Cabeza: puente ocular con 4 facetas de ancho. Antena uniformemente oscura, longitud 1.48 mm; cuarto flagelómero (Fig. 2B) 2.1 veces más largo que ancho, cuello corto pero distinguible. Palpo (Fig. 2C) pardo claro, con tres segmentos, segmento basal con la fosa sensorial profunda, 8 sedas dorsales largas y dispuestas sobre el segmento. Tórax oscuro. Coxas y fémures pardo claras; tibias y tarso oscurecidos por las sedas oscuras y gruesas. Mesonotum con sedas largas y sedas cortas dispersas sobre la superficie (setulae). Katepisternum triangular. Escutelo con sedas largas. Lado interno de la tibia anterior compuesta de 14 sedas (Fig. 2D); tibia media y posterior con dos sedas delgadas en forma de espolones, subiguales. Uñas tarsales simples. Ala (Fig. 2E) longitud total 2.35 mm,

anchura 0.84 mm; venas posteriores sin macrotriquias; base de la M más larga que la bifurcación de M. Genitalia (Fig. 2F). Gonocoxito con lóbulo basal compuesto de 14 sedas (Fig. 2G). Tergite 9 triangular. Gonostilo (Fig. 2H) 3.3 veces más largo que ancho, ápice con sedas gruesas, curvadas ventromedialmente y varias sedas mediales a lo largo del margen interna, una seda larga, en forma de látigo cerca de la base; distintiva espina apical robusta y curvada. Tegmen más ancho que largo, ápice ligeramente emarginado; edeago con base esclerotizada, longitud 0.06 mm.

Hembra. Similar al macho. Longitud 3.0 mm. Antena longitud 1.25 mm. Cuarto flagelómero 2.28 veces más largo que ancho. Palpo con el segmento basal con la fosa sensorial profunda y oscura, 8 sedas largas dispuestas sobre el segmento. Longitud del ala 2.38 mm.

L. ingenua se reporta por primera vez en viveros forestales de México, causando daño a plántulas de *P. montezumae*. Pérez *et al.* (2013) reportan esta especie en México como plaga en la producción de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach en Perote, Veracruz. En el mundo *L. ingenua* es considerada una plaga principal en la producción del hongo *A. bisporus* (Erlar *et al.*, 2011; O'Connor y Keil, 2005; Shamsad *et al.*, 2009; White *et al.*, 2000). Para la determinación de la especie se recolectaron 48 adultos de *L. ingenua* los cuales fueron procesados molecularmente; las secuencias fueron depositadas en el GenBank.



Figura 2. Macho adulto de *L. ingenua* (A-H) (A) Macho, habito. (B) Cuarto flagelómero, vista lateral. (C) Palpo. (D) Tibia anterior, perine apical. (E) Ala. (F) Genitalia, vista ventral. (G) Lóbulo basal del gonocoxito, vista ventral. (H) Gonostilo, vista lateral.

2.4.1.3 Ovoposición de *L. ingenua*. Una hembra puede poner de 25-122 huevos, en promedio ovipositan 81 huevos (DE 32.27). Los huevos miden de largo 0.213 mm y de ancho 0.134 mm (rango 0.091-0.143 mm, DE = 0.0157, n = 66). Los huevos son puestos preferentemente en grietas, de manera individualmente o en grupos de 2 a 54 (Fig. 3A-C). Son lisos, blandos y de color blanco lechoso recién puestos. Conforme maduran se ponen de color amarillo claro semitransparentes brillante (Fig. 3D-F). A partir del segundo día se identifica la cabeza esclerosada de la larva, el tercer día se observar cabeza bien formada con sus mandíbulas, la cabeza de la larva puede ocupar hasta el 20% de la superficie del huevo. Frouz y Nováková (2001) reportan que una hembra de *L. ingenua* puede poner en promedio 53 huevos (rango 47-110). Wilkinson y Daugherty (1970) menciona que el rango de ovoposición *B. impatiens* es de 12 a 156 huevos, y en promedio 75 huevos por hembra.

Lewandowki *et al.* (2004) encontro medidas mayores para el largo y ancho de los huevos de *L. ingenua* (media de ancho 0.17mm y largo 0.29mm). O'connor y Kiel (2005) reportan que el número de huevos puestos por las hembras aumenta con el peso de estas. Otros resultados de la familia Sciaridae reportan que *B. impatiens* miden 0.24mm longitud y 0.16mm ancho (Mansilla, *et al.*, 2001).

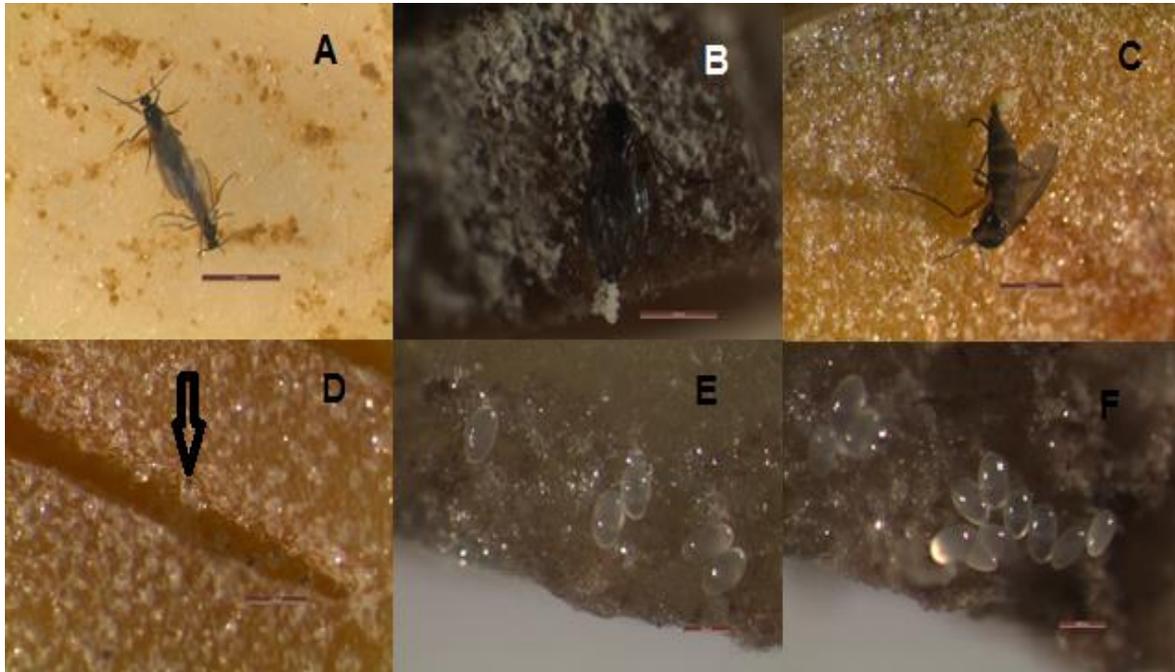


Figura 3. Oviposición de *Lycoriella ingenua*. (A) Hembra y macho de *L. ingenua* apareándose. (B y C) Hembras ovipositando. (D) Huevos puestos preferentemente en grietas o ranuras. (E y F) Huevos puestos de manera individual y en grupos.

2.4.1.4 Larvas. Son filiformes, de color blanco transparente, se puede observar su sistema digestivo, presentan capsula cefálica bien quitinizada desde el primer instar. Presenta cuatro instares larvarios.

2.4.1.5 Pupa. La pupa recién formada es de color blanco brillante (Fig. 4A-C); el segundo día cambia a color amarillo; después del tercer día es de color dorado brillante. La pupa es obtecta, sus apéndices están unidos al cuerpo y cubiertos por una cutícula fina (Fig. 4D-F). La pupa mide en promedio de largo 1.8026 mm (1.282-2.773 mm, DE = 0.4127, n = 24) y de ancho 0.5120 mm (0.677-0.438 mm, DE = 0.061, n = 24). Lewandowski *et al.* (2004) reporta que el promedio del largo de la pupa es de 2.539 mm (DE = 0.353).

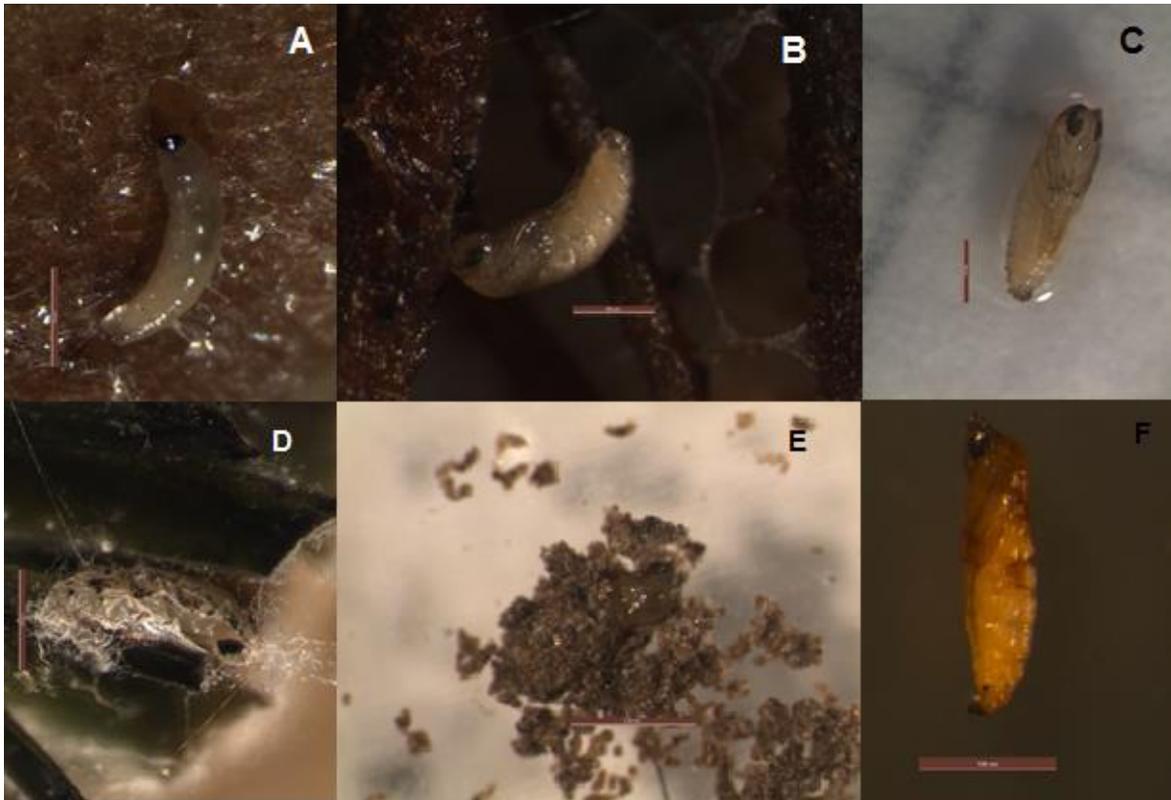


Figura 4. Hábitos de pupas de *L. ingenua* (A-F) (A) Prepupa se ve claramente cómo se contrae el cuerpo de la larva de cuarto instar. (B) Pupa de color blanco sujeta por hilos de seda de un día. (C) Pupa de color blanco de un día sin hilos de seda. (D) Pupa que construyo capullo con hilos de seda. (E) Pupa con capullo hecho de excremento y basura. (F) Pupa de tercer día de color dorado, no construyo capullo.

2.4.1.6 Medias de estadios de *Lycoriella ingenua*. En el Cuadro 1 presentan las medias del largo de los estadios de *L. ingenua*. Lewandowski *et al.* (2004) usando una dieta de turba y soja, reporta medias mayores que las obtenidas en este trabajo, sin embargo las diferencias se pueden deber a la dieta usada.

Cuadro 1. Medias del largo de los diferentes estadios de *L. ingenua* en mm.

Estadio	N	Rango	Promedio	DE
Huevo	66	0.126-0.243	0.210	0.025
Primer instar	54	0.419-0.966	0.678	0.182
Segundo instar	29	0.910-1.561	1.283	0.191
Tercer instar	33	1.734-3.681	2.368	0.6043
Cuarto instar	47	2.073-3.681	3.632	0.885
Pupa	24	1.282-2.773	1.803	0.4127

2.4.2 Ciclos biológicos y comportamiento *L. ingenua* y *B. impatiens*

2.4.2.1 Ciclo biológico *B. impatiens*. En condiciones de laboratorio, a una temperatura de $21^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$, en cajas de Petri, con una dieta a base de papa. El ciclo completo de *B. impatiens* tiene una duración de 27.5 (rango 25-30 días, n = 11 ciclos). La duración de cada estadio fue: huevos 4.5 días (rango 4-5 días); las larvas de primer instar 2 días; larvas de segundo instar 2.5 días (rango 2-3 días); larvas de tercer instar 4 días (rango 3.5-4.5 días); larvas de cuarto instar 4 días (rango 3-5 días); prepupa 1 día; pupa 4 días y adultos 5.5 días (rango 4.5-6.5 días). La duración de los cuatro instares larvarios fue de 12.5 días (rango 11-13

días), Mansilla *et al.* (2001) reporta resultados similares para *B. impatiens* (temperatura de 23°C ± 1°C) una duración de estados larvarios de entre 9 a 13 días, la duración del ciclo total es de 21-28 días.

2.4.2.2 Ciclo biológico *L. ingenua*. Bajo las mismas condiciones tuvo una duración de 30.5 días (rango 27-34 días, n = 12 ciclos). Por estadio fue: huevos 4 días (rango 3-5 días); larvas primer instar 2.5 días (rango 2-3 días); larvas de segundo y tercer instar presenta una duración similar 4 días (rango 3.5-4.5 días), larvas cuarto instar 6 días (rango 5-7 días). El total de duración de los instares de las larvas fue de 16.5 días (rango 14-19 días); prepupa 1 día; pupa 4 días (rango 3.5-4.5 días); adultos 5 días (rango 4.5-5.5 días). En el Cuadro 2 se presentan diferentes duraciones del ciclo biológico de *L. ingenua*. Frouz y Nováková (2001) reportan que la duración del ciclo biológico de *L. ingenua* depende fuertemente de la temperatura, este puede variar de 18 a 40 días con una temperatura respectivamente de 25°C y 15°C. Además, el uso de diferentes dietas puede influir en la duración del ciclo biológico.

Cuadro 2. Ciclos biológicos de *L. ingenua* de autores y temperaturas diferentes.

Duración promedio de estadio en días	Datos originales 21°C ± 2°C	*Steffan (1974) 20°C ± 2°C	Lewandowski <i>et al.</i> (2004) 24°C	Frouz y Nováková (2001) 22°C
Huevo	4	3.3	3	3.5
Larva instar I-IV	16.5	13.6	13	18.5
Pupa	5	3.1	4	1.5
Adulto	5	4		6
Total	30.5	24	20	29.5

*Steffan reporta a *Lycoriella mali*, pero es sinonimia de *Lycoriella ingenua*.

2.4.3 Comportamiento y ecología *Lycoriella ingenua* y *Bradysia impatiens*

2.4.3.1 Comportamiento. La hembra ovíparita en lugares húmedos, bajo las condiciones de este estudio las hembras depositaron los huevos en las ranuras echas en las rodajas de papas.

Las larvas de *L. ingenua* ocasionalmente pueden llegar a comer los cuerpos de los adultos muertos, larvas débiles o de instares menores, huevos y pupas que no han eclosionado vivos y muertos. Las larvas por general no construyen capullos, pero en ocasiones los hacen con excremento y basura. Además, las larvas llegan a sujetarse con hilos de seda antes de pupar. Estos comportamientos también son reportados por Steffan (1981).

Las larvas de cuarto instar de *L. ingenua* cuando inician la prepupa dejan de moverse y comer; son de color blanco; contraen el cuerpo hasta reducirlo a dos terceras partes del tamaño de la larva de cuarto instar. La talla final del adulto es similar al de la pupa, este comportamiento coincide con el reportado por (Lewandowski *et al.*, 2004).

En ocasiones el hongo al crecer invade a los huevos y captura a los adultos del mosco fungoso negro ocasionándoles la muerte (Fig. 5A-C). Este hongo no se identificó. En la Fig. 5C se observa una hembra que murió mientras ponía sus huevos.



Figura 5. (A-C) Hongos que invaden a huevos y capturan adultos. (A) huevos invadidos por micelio de hongo. (B-C) Adultos capturados por micelio de hongos.

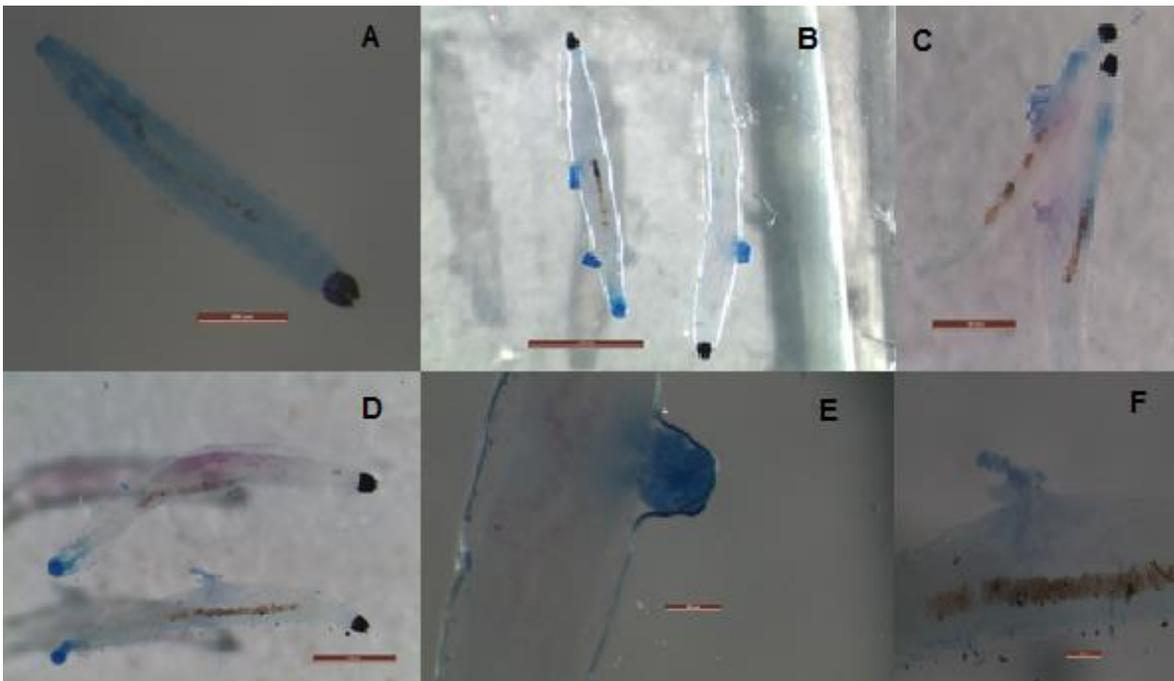


Figura 6. (A-F) Larvas libres e infestadas por nematodos. (A) Larva libre de infestación de nematodo. (B y E) Larvas con deformaciones causadas por nematodos. (D) Nematodos en rojo en larvas. (C, D y F) Nematodos emergiendo de larvas.

Se encontró un nematodo que infesta a las larvas de *L. ingenua* y *B. impatiens*, causándoles deformación del cuerpo en forma de círculo (Fig. 6B,CyE), posteriormente causa la muerte. En la Fig. 6A se observa una larva libre de nematodos. En la Fig. 6C,DyF se puede ver al nematodo en rojo dentro de la larva y al nematodo emergiendo de larvas. Este nematodo no se identificó.

2.4.4 Proporción de sexos

Ambas especies presentaron en todos los ciclos machos y hembras, por lo que son disgenicas tal como lo reporta Steffan (1974). La proporción de sexos de *L. ingenua* después de analizar la genitalia de 750 adultos fue de 44.40% machos (333 individuos) por 55.60% hembras (417 hembras). Por cada macho de *L. ingenua* se tiene 1.25 hembras. En el caso de *B. impatiens* se revisó la genitalia 583 adultos, la proporción fue de 29.33 machos por 70.77 hembras (171 machos y 412 hembras). En *B. impatiens* por cada macho que se tiene 2.41 hembras.

2.4.5 Instares larvarios de *B. impatiens*

Se implementó el procedimiento de conglomerados jerárquicos a las medidas de amplitud de la cápsula cefálica de la muestra de 94 larvas usando la función mclust del programa S-PLUS. En la Figura 7, se muestran los primeros 9 valores $AWE(k)$ $k = 1, 2, \dots, 9$.

En base con los valores de AWE de seleccionar como número de grupos k^* , aquel que maximiza $AWE(k)$, se obtiene que las larvas de *B. impatiens* pasaron

por cuatro instares ($k^* = 4$) antes de prepupar. En las Figuras 8 y 9, se grafican los cuatro grupos que se obtuvieron con el método de conglomerados jerárquico.

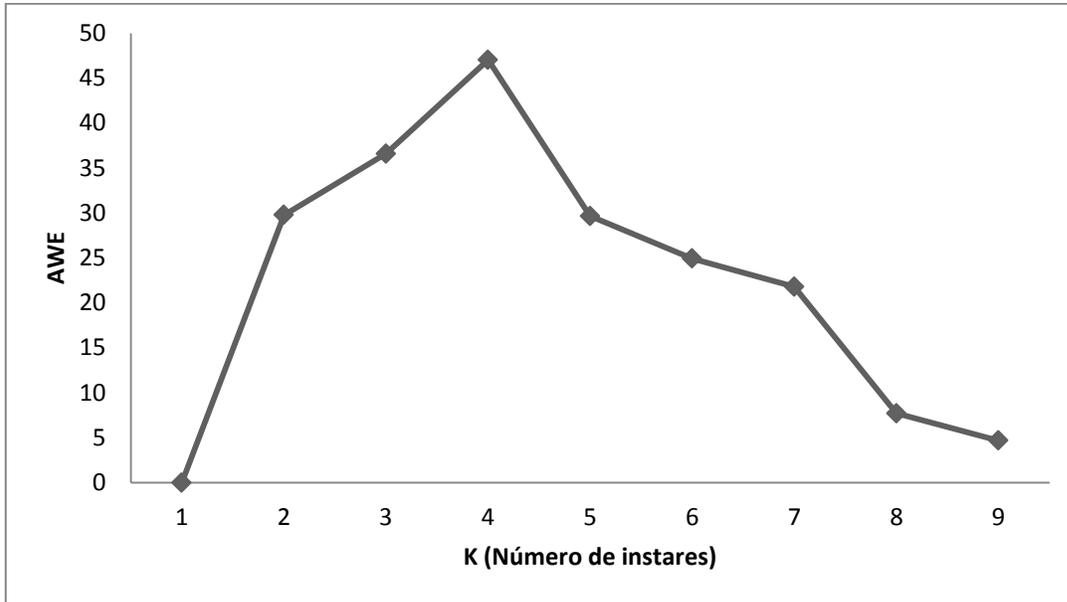


Figura 7. Valores $AWE(k)$ de la función $mclust$ del S-PLUS obtenidos de las mediciones de amplitud de la capsula cefálica de la muestra de larvas de *B. impatiens*.

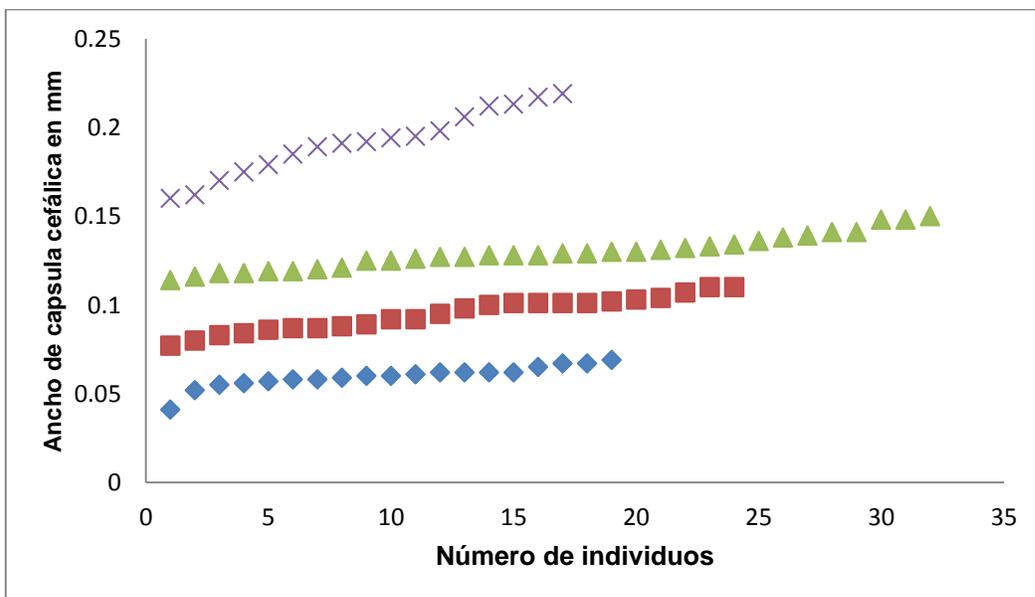


Figura 8. Instares larvales de *B. impatiens*.

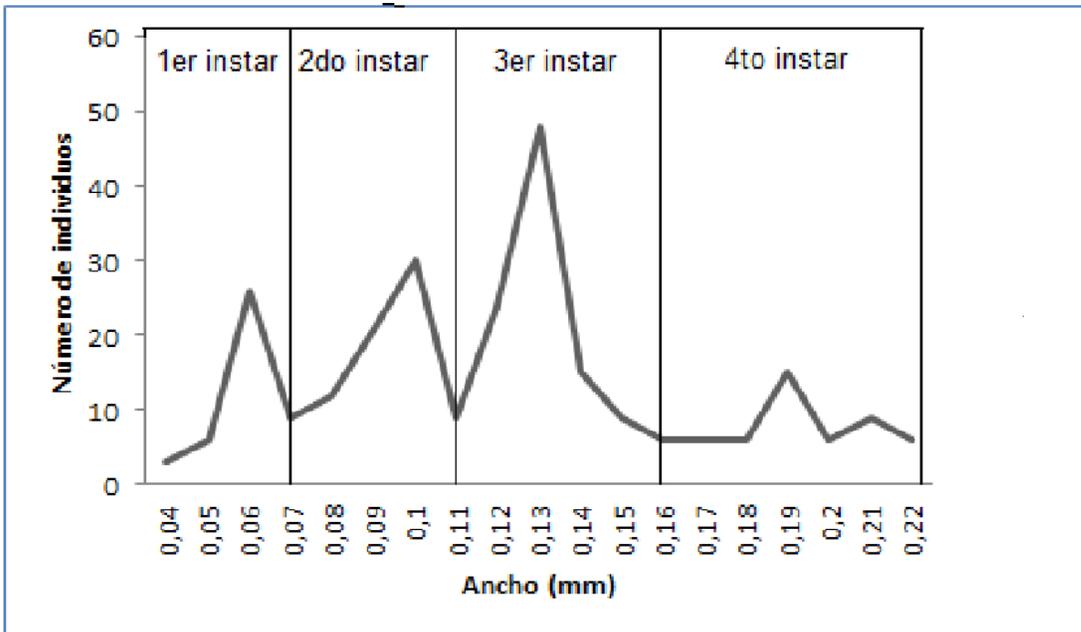


Figura 9. Ancho de capsula cefálica por estadio de *B. impatiens*.

Los cuatro instares larvarios obtenidos de *B. impatiens* obtenidos con el procedimiento de conglomerados jerárquicos concuerdan con los reportados para la familia Sciaridae por Steffan (1981). Mansilla *et al.* (2001); Steffan (1974) también reportan cuatro instares para esta especie.

2.4.6 Instares larvarios de *L. ingenua*

Se implementó el procedimiento de conglomerados jerárquicos a las mediciones de amplitud de cápsula cefálica y largo del cuerpo para la muestra de 182 larvas. En la Figura 10, se muestran los primeros 10 valores AWE que se obtuvieron $k = 1, 2, \dots, 10$.

De la Figura 10, se obtiene que el optimizador de los valores AWE se determinan en $k^* = 4$ instares. Y así, las larvas de *L. ingenua* pasan por cuatro instares antes de prepupar. Estos cuatro instares larvarios concuerdan con los

reportados por otros autores (Lewandowski *et al.*, 2004; Frouz y Nováková, 2001; Steffan, 1981). En la Figura 11, se muestran los cuatro grupos que se obtuvieron con el método de conglomerados jerárquico.

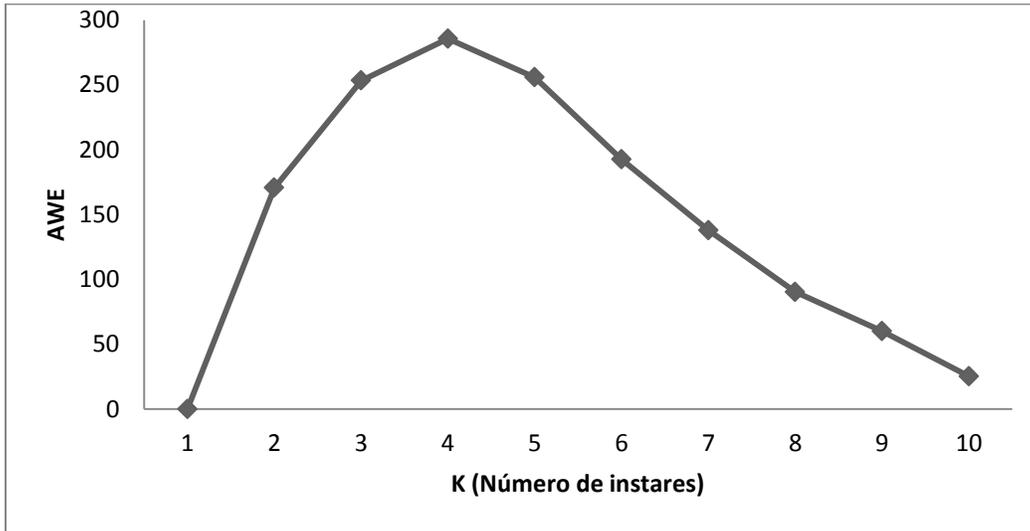


Figura 10. Valores AWE obtenidos al agrupar con la amplitud de la cápsula cefálica y largo del cuerpo de la muestra de *L. ingenua* con el procedimiento de conglomerados jerárquicos.

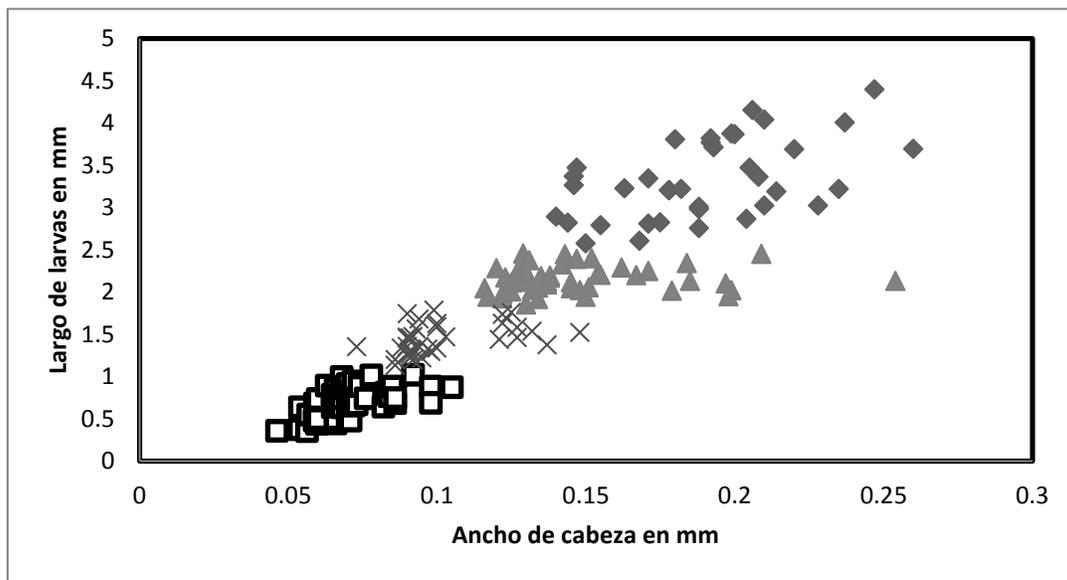


Figura 11. Representación gráfica de los 4 instares larvales de *L. ingenua* obtenidos con conglomerados jerárquicos.

2.4.7 Disposición de espiráculos en larvas

El primer instar son metaneuísticas, solo tienen un par de espiráculos en el último segmento abdominal; las de segundo y tercer son hemipneústicas, solo tienen un par de espiráculos en el primer segmento del tórax; y las de cuarto instar son proneústicas tienen un par de espiráculos en el primer segmento del tórax y en el abdomen tienen un par de espiráculos por segmento, concuerda con lo reportado por Steffan (1981) para las larvas de la familia Sciaridae. Sin embargo, este método no permite separar los instares dos y tres. Para la separación de instares larvarios se pueden usar los métodos como la medición del ancho de la capsula cefálica y largo del cuerpo de la larva o el de conglomerados jerárquicos.

2.4.8 Hongos asociados al mosco fungoso negro

En este estudio se aislaron de las larvas de *B. impatiens* y *L. ingenua* los géneros de hongos, *Verticillium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Aspergillus* y *Mucor*. De los adultos de mosco fungoso negro se aislaron cinco géneros, *Verticillium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, y *Aspergillus*. En condiciones de laboratorio las larvas se alimentan de los siete géneros de hongos aislados. Teniendo preferencia de alimentarse de hongos, en lugar de PDA. De *Fusarium* se obtuvo la especie de *Fusarium circinatum* Nirenberg et O'Donnell, el cual es un importante patógeno de especies *Pinus*. (Wingfield, et al., 2008). Las secuencias de este hongo fueron depositados en GenBank.

Los adultos y larvas del mosco fungoso pueden ser medio de transporte de hongos patógenos y no patógenos (Gardiner, 1990; Hurley *et al.*, 2007, 2010; James *et al.*, 1995; Kalb y Miller, 1986; Pundt, 1999; Shamshad *et al.*, 2009). Los moscos fungosos adultos son muy activos en el vivero. De este modo dispersan los hongos. El mosco fungoso puede ser un posible vector de *Botrytis cinérea*, *Fusarium* y *Phoma* (James *et al.*, 1995; Keates *et al.*, 1989; Mansilla *et al.*, 2001).

En el vivero de Temamatla los adultos de mosco fungoso puede ser responsables de diseminar *F. circinatum* en las platabandas. Además, las larvas pueden ser el vector que inocula las plántulas de pino con *F. circinatum*. Debido que las larvas podrían llevar en el integumento a *Fusarium circinatum*. Cuando las larvas se alimentan de las raíces del pino abren heridas. El hongo es introducido a la raíz en el cuerpo de las larvas o dejan una herida por donde entra el hongo (James *et al.*, 1995; Pundt, 1999; Springer, 1995b). Sin embargo, en Sudáfrica en viveros forestales de coníferas *B. impatiens* parece no tener un rol importante en mover hongos patógenos (Hurley *et al.*, 2007).

2.4.9 Daño en raíz de plántulas de *Pinus montezumae*

Las larvas atacaron la raíz principal del *P. montezumae*. Primero empiezan por comer la rizodermis (Fig.12B), después perforan la exodermis, que es el tejido de protección de la raíz (James, 2003) (Fig. 12G). La herida causada en la raíz es la puerta de entrada para diversos patógenos. Las larvas se instalan en el córtex y consumen el parénquima cortical, que es una zona rica en reservas de la raíz (James, 2003; Mirov, 1967). Las larvas se mueven dentro del córtex de manera

vertical sin perforar la exodermis que sirve como protección. La exodermis conserva la humedad dentro de la raíz (Fig. 12C-D). Creando un microclima con condiciones adecuadas para el desarrollo de las larvas y hongos. Las larvas detienen su consumo de la raíz en la endodermis, que es un tejido de protección y que puede estar lignificado; sin embargo, cuando este comienza a pudrirse es consumido por las larvas. Por último se alimentan del xilema y el floema. De esta manera queda la raíz como un tubo, con un centro que está formado por la medula lignificada y una parte exterior que constituye la exodermis lignificada. Así, dentro de este tubo las larvas se mueven libremente principalmente hacia el cuello de la raíz. En *Trifolium incarnatum* L., las larvas del mosco fungoso consumen de forma similar la epidermis y el córtex. Los tejidos vasculares lignificados no son consumidos (Springer, 1995a). Las plántulas de pino al no tener una apropiada comunicación con raíz. Muestran síntomas de daños en la parte aérea que se observa como marchitez, escaso crecimiento, pérdida de acículas y de vigor. Estos síntomas pueden ser confundidos con alguna enfermedad causada por hongos (Fig.12H-I). Estos resultados son similares a los obtenidos por Pundt (1999); Springer (1995a). Las Fig. 12E- F muestran raíces atacadas por larvas del mosco fungoso pero solo quedan evidencias de estos ataques. Las evidencias consisten en excrementos y mudas de capsulas cefálicas. La Fig. 12A se puede observar una raíz de *P. montezumae* libre de ataque de larvas.

Las raíces concentran el ataque de larvas en los primeros 3-5 cm partiendo del cuello de la raíz hacia cofia. Esta zona corresponde en las plántulas al área de maduración de la raíz, lugar de almacenamiento de reservas. El mayor número de

larvas dentro de la raíz se encontró en esta zona. Hasta 35 larvas por raíz de todos los instares. Por otro lado el tiempo que las larvas necesitaron para reconocer y trasladarse a la raíz en las cajas de Petri fue en promedio de 15 minutos (DE = 10).

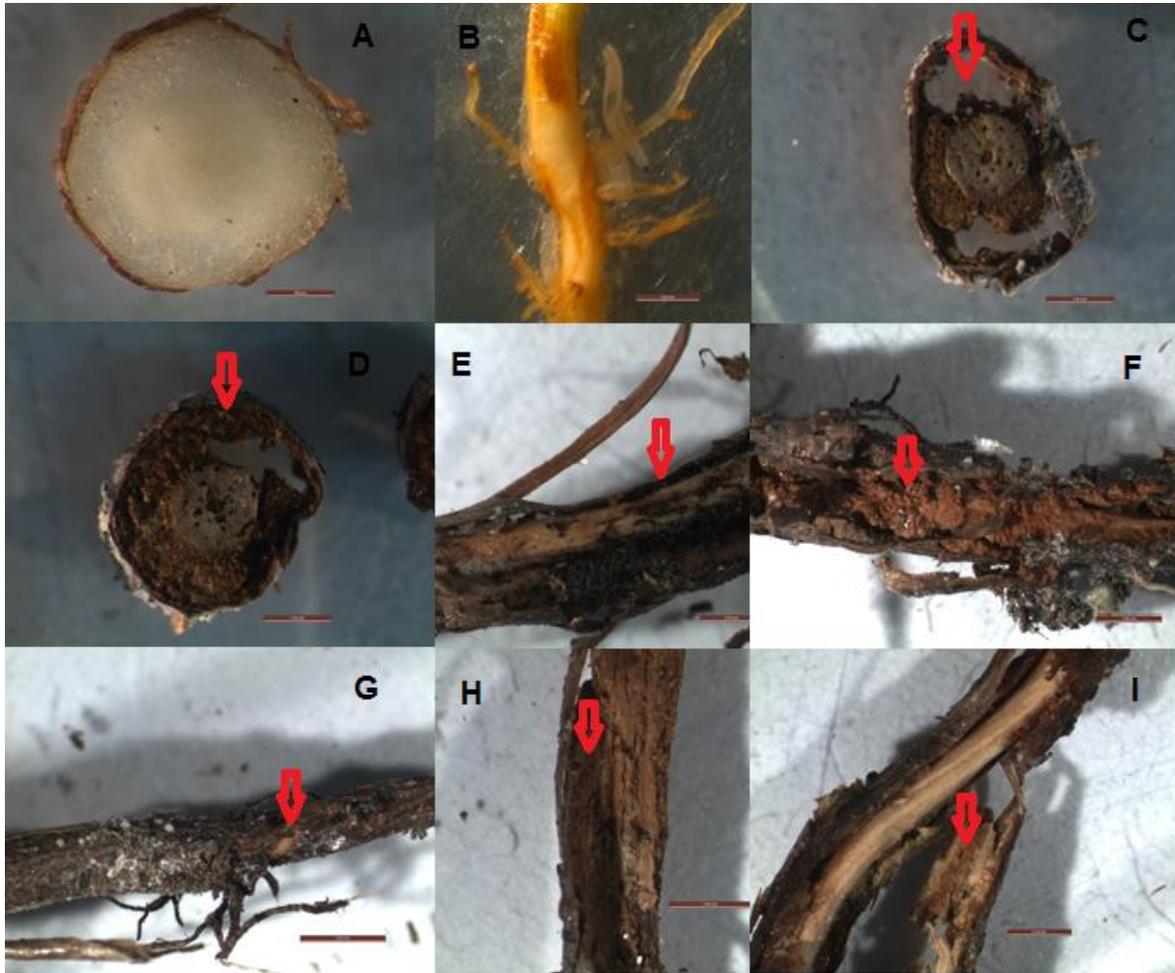


Figura 12. Raíz de *Pinus montezumae* (A-I) (A) Corte transversal de raíz de pino, sin ataque de larvas. (B) Larva *L. ingenua* comiendo pelos radiculares. (C) Corte transversal donde se aprecia el córtex consumido por larvas y exodermis sin consumir que sirve como protección a larvas. (D) Corte transversal que muestra excremento acumulado de larvas. (E) Raíz con evidencia de presencia de larvas. (F) Raíz consumida completamente por larvas, excremento y mudas. (G) Perforación de entrada de larvas a la raíz. (H y I) Raíces muerta por otras causas diferentes al mosco fungoso negro, el córtex se encuentra muerto pero no fue consumido por las larvas.

Las raíces concentran el ataque de larvas en los primeros 3-5 cm partiendo del cuello de la raíz hacia la cofia. Esta zona corresponde en las plántulas al área de maduración de la raíz, lugar de almacenamiento de reservas. En esta área ocurren varios procesos al mismo tiempo. Se incrementa la absorción de agua y minerales por los pelos radiculares (James, 2003). El mayor número de larvas dentro de la raíz se encontró en esta zona. Hasta 35 larvas por raíz de todos los instares. Por otro lado el tiempo que las larvas necesitaron para reconocer y trasladarse a la raíz en las cajas de Petri fue en promedio de 15 minutos (DE= 10).

2.5 CONCLUSIONES

Por primera vez en México se identifica a *B. impatiens* y *L. ingenua* en viveros forestales atacando plántulas de coníferas.

En el vivero forestal de Temamatla, Estado de México las larvas y adultos de *L. ingenua* y *B. impatiens* se asociación con varios géneros de hongos. Estos hongos pueden ser transportados dentro del sustrato de los tubetes por las larvas, y entre contenedores y platabandas por los adultos.

Los daños causados en la raíz por las larvas del mosco fungoso pueden ocasionar la muerte de las plántulas de *P. montezumae*. Las larvas de mosco fungoso son capaces de detectar en 15 minutos la raíz del pino.

El ciclo biológico de *B. impatiens* a 21°C \pm en laboratorio fue de 27.5 días con cuatro instares larvarios, además el ancho de la capsula cefálica es un

parámetro que sirve para separar los instares larvarios. Por cada macho se tienen 2.4 hembras.

El ciclo biológico de *L. ingenua* a $21^{\circ}\text{C} \pm$ en laboratorio fue 30.5 días, presenta cuatro instares larvarios, los mejores parámetros para separarlos son el ancho de la capsula Cefálica y largo del cuerpo en combinación. Por cada macho se tienen 1.25 hembras.

Por último la duración del ciclo biológico y la talla de los diferentes instares de estas especies de Sciaridae, están estrechamente relacionados con la temperatura y las dietas.

AGRADECIMIENTOS

Al Mayor de Caballería Teodoro Ariel Ake Dzib Jefe del vivero forestal militar Temamatla; a Ing. Alberto González Enríquez, Ing. Oscar Andree Azuara González y a Ing. Alejandro Castro Moreno personal técnico del Vivero de Temamatla, por su apoyo en la fase campo en el control del mosco fungoso.

2.6 LITERATURA CITADA

Aguilera, P. A. y K. F. Ortega. 1996. *Bradysia coprophila* (Lintner) (Diptera: Sciaridae) en Trébol Rosado (*Trifolium pratense* L.). Agricultura Técnica, 56(2): 135-138.

Braun, S. E., J. P. Sanderson, E. B. Nelson, M. L. Daughtrey y S. P. Wraight. 2009. Fungus gnat (*Bradysia impatiens*) feeding and mechanical wounding inhibit *Pythium aphanidermatum* infection of geranium seeding (*Pelargonium x hortorum*). Phytopathology, 99(12): 1421-1428.

Carrillo, L. (2003). Los hongos de los alimentos y forrajes. Argentina. Universidad de Salta.

Castellanos, P. M. y M. M. Olguín. 2000. Determinación de instares de larvas por medio de técnicas estadísticas. Tesis de Licenciatura en Estadística. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México. México.

Cibrián, T. D., D. S. García y M. B. Don Juan. 2008. Manual de identificación y manejo de plagas y enfermedades en germoplasma y planta producida en viveros. Comisión Nacional Forestal. México.

Erler, F., E. Polat, H. Demir, M. Catal y G. Tuna. 2011. Control of mushroom sciarid fly *Lycoriella ingenua* populations with insect growth regulators applied by soil drench. Journal of Economic Entomology, 104(3): 839-844.

Frouz, A. y A. Nováková. 2001. A new method for rearing the sciarid fly, *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae), in the laboratory: posible implications for the study of fly-fungal interactions. Pedobiologia, 45: 329-340.

Gardiner, R. B., W. R. Jarvis y J. L. Shipp. 1990. Ingestion of *Phytium* spp. by larvae of the fungus gnat *Bradysia impatiens* (Diptera:Sciaridae). *Annals of Applied Biology*, 116: 205-212.

Gillespie, R. D. y J. G. Menzies. 1993. Fungus gnats vector *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Annals of Applied Biology*, 123: 539-544.

Hurley, B. P., B. Slippers, T. A. Coutinho, B. D. Wingfield, P. Govender y M. J. Wingfield. 2007. Molecular detection of fungi carried by *Bradysia difformis* (Sciaridae: Diptera) in South African forestry nurseries. *Southern Hemisphere Forestry Journal*, 69(2): 103-109.

Hurley, B. P., B. Slippers, B. D. Wingfield, P. Govender, J. E. Smith y M. J. Wingfield. 2010. Genetic diversity of *Bradysia difformis* (Sciaridae: Diptera) populations reflects movement of an invasive insect between forestry nurseries. *Biol Invasions*, 12: 729-733.

James, D. M. 2003. *Botany an introduction to plant biology*. (3a ed.). Jones and Bartlett Publishers. EUA. Massachusetts.

James, R. L., R. K. Dumroese y D. L. Wenny. 1995. *Botrytis cinérea* carried by adult fungus gnats (Diptera: Sciaridae) in container nurseries. *Tree Planters Notes*, 46(2): 48-53.

Kalb, D. W. y R. L. Millar. 1986. Dispersal of *Verticillium albo-atrum* by the fungus gnats (*Bradysia impatiens*). *Plant Disease*, 70: 752-753.

Keates, S. E., R. N. Sturrock y J. R. Sutherland. 1989. Populations of adult fungus gnats and shore flies in British Columbia container nurseries as relates to nursery environment, and incidence of fungi on the insects. *New Forests*, 3: 1-9.

Komarov, S. S. 2009. A review of species of the sciarid-fly genus *Lycoriella* Frey (Diptera, Sciaridae) of the Altai fauna. *Entomological Review*, 89(2): 175-180.

Landis, T. D., R. W. Tinus, S. E. McDonald y J. P. Barnett. 1989. The biological component: nursery pest and micorrhizae. *In: The container tree nursery manual*. Vol 5. Agriculture Handbook 674. Washington D. C. USDA. Forest Service.

Loudon, B. J. 1978. A new species of *Lycoriella* Frey (Diptera: Sciaridae) infesting cultivates mushrooms in new south wales. *J. Aust. Ent. Soc.* 17: 163-166.

Lewandowski, M., A. Sznyk y A. Bednarek. 2004. Biology and morphometry of *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *Biol. Lett.* 41(1): 41-50.

Mansilla, J. P., M. I. Pastoriza y R. Pérez. 2001. Estudio sobre la biología y control de *Bradysia paupera* Tuomikoski (= *Bradysia difformis* Frey) (Diptera: Sciaridae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 27: 411-417.

Menzel, F., J. E. Smith y J. P. Chandler. 2006. The sciarid fauna of the British isles (Diptera: Sciriadae), including descriptions of six new species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 146: 1-147.

Menzel, F., J. E. Smith y B. N. Colauto. 2003. *Bradysia difformis* Frey and *Bradysia ocellaris* (Comstock): two additional neotropical species of black fungus gnats (Diptera: sciaridae) of economic importance: a redescription and review. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 96(4): 448-457.

Mirov, N. T. 1967. *The genus pinus*. Ronal Press Company. EUA, New York.

Mohrig, W. y F. Menzel. 2009. Sciaridae (Black fungus gnats). *In: B.V. Brown, A. Borkent, J. M. Cumming, D. M. Wood, N. E. Woodley y M. A. Zumbado,*

eds. Manual of Central American Diptera vol 1. Monograph Publishing program. Canadá: National Research Council of Canada. p: 279-292.

Mohring, W., K. Helelr, H. Hippa, P. Vilkamaa y F. Menzel. 2012. Revision of Blanck Fungus Gnats (Diptera: Sciaridae) of North America. *Studia dipterologica*, 19(1/2): 141-286.

O'Connor, L. y C. B. Keil. 2005. Mushroom host influence on *Lycoriella mali* (Diptera: Sciaridae) life cycle. *J. Econ. Entomol*, 98(2): 342-349.

Pérez, M. C., M. R. I. Rojas, R. R. Alatorre, R. F. Hernández y C. G. Otero. 2013. Análisis de la variación intraespecífica de *Conidiobolus coronatus* usando RAPD y secuencias ITS. *Enferm. Infecc. Microbiol Clin.*, xxx(xx):xxx-xxx, 1-6.

Pundt, L. 1999. Fungus gnats are a serious pests. *Yankee Grover*, 9-10.

Radin, B., W. V. R. Dos-Santos, L. B. Brito, S. Witter y S. J. R. Pfeifer. 2009. *Bradysia* sp. em morangueiro. *Ciência Rural*, 39(2): 547-550.

Shamshad, A., A. D. Clift y S. Mansfield. 2009. The effect of tibia morphology on vector competency of mushroom sciarid flies. *Journal of Applied Entomology*, 133(6): 484-490.

Shin, S. G., H. S. Lee y S. Lee. 2012. Dark winged fungus gnats (Diptera: Sciaridae) collected from shiitake mushroom in Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 15: 174-181.

Smith, J. E., P.F. White, R. N. Edmondson y D. Chandler. 2006. Effect of different *Agaricus* species on the development of the mushroom sciarid fly *Lycoriella ingenua*. *Entomologia Experimentalis et applicata* 120: 63-69.

S-PLUS 6.1 for Windows Guide to Statistics, (2001). Volumen 2, Insightful Corporation, Seattle, WA. p. 141-146.

Springer, T. L. 1995a. Fungus gnats (Diptera: Sciaridae) feeding damage to legume seedling. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 68(2): 240-242.

Springer, T. L. 1995b. Vulnerability of pasture and range legumes to fungus gnats. *Crop Science*, 35: 534-536.

Steffan, W. A. 1981. Sciaridae. *In*: J. F. McAlpine, B. V. Peterson, G. E. Shewell, H. J. Teskey, J. R. Vockeroth y D. M. Wood, eds. *Manual of Nearctic Diptera*, vol. 1. Research Branch Agriculture Canada Monograph 27. Canadá p: 247-255.

Steffan W. A. 1974. Laboratory studies and ecological notes on Hawaiian Sciaridae (Diptera). *Pacific Insects*, 16(1): 41-50.

Villanueva, S. E. 2013. Nematodos entomopatógenos en el control de la mosca negra (Diptera: Sciriadae) en noche buena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex. Klotzch). Tesis doctoral, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Edo de México, México.

Wilkinson, J. D. y D. M. Daugherty. 1970. The biology and immature stages of *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Annals of the Entomological Society of America*, 63: 656-660.

Wingfield, M. J., A. Hammerbacher, R. J. Ganley, E. T. Steenkamp, T. R. Gordon, B. D. Wingfield y T. A. Coutinho. 2008. Pitch canker by *Fusarium circinatum* a growing threat to pine plantations and forest worldwide. *Australasian Plant Pathology*, 37: 319-334.

White, P. F., J. E. Smith y F. Menzel. 2000. Distribution of Sciaridae (Dipt.) species infesting comercial mushroom farms in Britain. *Entomologist's Monthly Magazine*, 136: 207-209.

III. SEGUNDO REPORTE SOBRE CONTROL DE MOSCO FUNGOSO NEGRO, *Lycoriella ingenua* (Dufour) Y *Bradysia impatiens* (Johannsen) (DIPTERA: SCIARIDAE), EN *Pinus montezumae* (Lamb)

Victor Hugo Marín Cruz¹

David Cibrián Tovar²

3.1 RESUMEN

ABSTRACT

Los moscos fungosos negros *Lycoriella ingenua* (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912), son insectos que afectan significativamente la producción de plántulas de *Pinus montezumae* (Lamb, 1832) en viveros de México. Para ofrecer una alternativa de control de estos insectos, en el vivero forestal de Temamatla, México, se probaron cinco insecticidas químicos: oxamil, spirotetramat, imidacloprid, carbofuran, clorpirifos, y el bioplaguicida *Bacillus thuringiensis* var. *Israeliensis* (BTI). Estos productos se aplicaron en tres dosis, durante un periodo de cuatro meses. La eficacia de los tratamientos se evaluó en porcentaje de plantas sin daño. De los tratamientos, el imidacloprid en dosis alta y media generó una protección del 100%. Después, oxamil y spirotetramat en dosis alta protegió al 96.17% y 95.75%; de la planta tratada, clorpirifos (dosis media) 95.74%; imidacloprid (dosis baja) 95.29%. Ocho tratamientos protegieron del 91.5% a 79.43%. Cuatro no fueron diferentes al control. Los resultados sugieren que no todos los productos evaluados, en sus diferentes dosis, son efectivos para el control del mosco fungoso negro. Sin embargo, algunas dosis y productos pueden ser efectivos para controlar el mosco fungoso negro en plántulas de *P. montezumae*.

The black fungus gnats *Lycoriella Ingenua* (Dufour, 1839) and *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) are insects that affect meaningfully the seedling production of *Pinus montezumae* (Lamb, 1832) in Mexico nurseries. To offer an alternative to control these insects, in the forestry nursery in Temamatla, Mexico; Five chemical insecticides were tested: oxamil, spirotetramat, imidacloprid, carbofuran, clorpirifos and the biopesticide *Bacillus thuringiensis* var. *Israeliensis* (BTI). These products were applied in three doses for a 4 month period. The efficiency of the treatments was evaluated on the percentage of unharmed plants. Of the treatments, the imidacloprid in a high dose generated a protection of 100%. Then, the spirotetramat and oxamil protected 96.17% and 95.75% of the treated plant respectively; the clorpirifos (in a high and half doses) 95.74%, and the imidacloprid (in a low dose) 95.29%. Eight treatments protected from 91.5% to 79.43%. Four were no different to control. The results suggest that not all the evaluated products, in different doses, are effective to control the black fungus gnats. Nevertheless, some doses and products can be effective to control the black fungus gnats in *P. montezumae* seedlings.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, control químico, dosis, mosco fungoso negro, vivero forestal, plántulas.

Key word: *Bacillus thuringiensis*, black fungus gnats, chemical control, Forestry nursery, seedlings, treatment.

1 Tesista

2 Director

3.2 INTRODUCCIÓN

En México, el mosco fungoso negro *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae) es considerado una plaga mayor en los viveros que se ubican en el centro del país (Cibrián *et al.*, 2008). En los meses de primavera a otoño, las condiciones ambientales de alta humedad y temperatura son adecuadas para que la población aumente rápidamente, siendo muy abundante en pocas semanas. Poblaciones grandes de adultos de mosco fungoso pueden ser un problema en la producción de plántulas, debido que sobre su cuerpo pueden llevar esporas de hongos patógenos, (Gillespie y Menzies, 1993; Pundt, 1999; Shamshad *et al.*, 2009; Springer, 1995a). Las larvas se alimentan de materia orgánica en descomposición, hongos y raíces de plantas sanas (James *et al.*, 1995; Mohrig y Menzel, 2009; Steffan, 1981); las cuales, al ser heridas, quedan expuestas a hongos patógenos (James *et al.*, 1995; Kalb y Millar, 1986; Pundt, 1999). Gardiner *et al.* (1990) demostró que las larvas de *Bradysia impatiens* ingieren estructuras fúngicas de *Pythium* spp., y una vez que pasan por el tracto digestivo las oosporas germinan.

En Temamatla México, las plántulas atacadas por larvas del mosco fungoso negro presentan síntomas que son confundidos con los de otros patógenos: pérdida de vigor, marchitez súbita, pudrición de raíz, follaje amarillento, escaso crecimiento y caída de hojas, estos síntomas también son reportados por Cibrián *et al.* (2008); Pundt (1999); Springer (1995a); (1995b). En Canadá y Estados

Unidos, el mosco fungoso causa daños en viveros que usan el sistema de producción en “contenedores” (Keates *et al.*, 1989; James *et al.*, 1995).

De las especies de mosco fungoso negro de importancia económica y amplia distribución mundial, están *Lycoriella ingenua* y *Bradysia impatiens*.

L. ingenua es plaga principal en la producción del hongo comestible champiñón *Agaricus bisporus* Lange (Imbach) (Agaricaceae) (O’Connor y Keil, 2005; Erler *et al.*, 2011; Shamshad *et al.*, 2009; White *et al.*, 2000; White *et al.*, 1999; White, 1981). En Rusia *L. ingenua* puede ser una plaga en invernaderos (Komarov, 2009).

B. impatiens es menos común que *L. ingenua* en la producción de champiñones (White *et al.*, 2000), pero más común en viveros e invernaderos; esta especie se reporta en Italia en donde causa daños en viveros de *Eucalyptus* (Mansilla *et al.*, 2001) y en Sudáfrica en donde ataca raíces de plántulas de pino en viveros (Hurley *et al.*, 2007, 2010).

El control del mosco fungoso se hace por medio de insecticidas químicos, reguladores de crecimiento y biológicos. Erler *et al.* (2011) obtuvo buenos resultados de control de *L. ingenua* en la producción de *A. bisporus*, aplicando en el riego diferentes reguladores de crecimiento. Mansilla *et al.* (2001) reportan que en condiciones de laboratorio en cajas de Petri los insecticidas flufenoxuron, diflubenzuron, deltametrina y azadiractina controlan las larvas de *B. difformis*.

En el vivero forestal de Temamatla, México, desde el año 2010 se reportó al mosco fungoso negro, atacando raíces de plántulas de *Pino montezumae*. Los

daños afectaron todo el sistema de producción y redujeron las metas en 2011 y 2012. Para el control de estos insectos se hicieron aplicaciones consecutivas de insecticidas, principalmente oxamil, carbofuran, y clorpirifos, pero sin lograr controles aceptables; por ello, se decidió desarrollar el presente estudio con el objetivo de ofrecer nuevas alternativas químicas y con insecticidas racionales para el control de este insecto.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1 Ensayo de control del mosco fungoso negro

El ensayo se realizó en el vivero forestal de Temamatla, Estado de México, el cual se ubica a 2,270 altitud, en las coordenadas geográficas 99°11'15'' longitud oeste y 19°45'11'' latitud norte. El clima predominante en la región es templado subhúmedo, se clasifica como un CW2, las temperaturas más altas se presentan en los meses de abril a junio. Las temperaturas máxima y mínima extremas van de los 26°C a 29°C y de los 5°C a 3°C respectivamente. Las temperaturas más bajas se presentan de octubre a enero. La temperatura media anual es de 12.5°C, lluvias en verano.

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Se usaron tres dosis por producto: media (recomendada por el fabricante); alta 20% más que la media; baja 20% menos que

la media, y un testigo al que solo se aplicó agua de riego (Cuadro uno). Cada dosis se aplicó a un contenedor de plástico con 54 tubetes.

El volumen del tubete fue de 210 ml. La proporción del sustrato usado en los tubetes fue de 1 parte de turba, 2 de perlita, 2 de vermiculita y 66,66 gr de fertilizante iniciador. Las dosis se diluyeron en agua de riego, y se aplicó con regadera manual. Se realizaron seis aplicaciones, con un intervalo de 20 días. La primer aplicación se realizó el 1 de febrero de 2013 cuando las plántulas tenían una edad de cuatro meses. Esto fue con el fin de que las plántulas de pino se infestaran de manera natural del mosco fungoso, que ya se encontraba en las platabandas del vivero desde producción anterior. Antes de cada aplicación las plántulas de pino se contaron. Registrando las plántulas sanas y enfermas. Todas las plantas enfermas se recolectaron veinte días después de última aplicación.

Para determinar si la causa de que parecieran enfermas se debía a la presencia o ataque de las larvas del mosco fungoso cada planta se asignó a una de cuatro categorías: a) larvas muertas dentro de la raíz; b) larvas vivas dentro de raíz; c) evidencia de que hubo excremento de larvas y mudas de cabezas de larvas; d) larvas vivas junto y fuera de la raíz. Cada raíz se examinó haciendo un corte longitudinal, se retiró la corteza externa, y se revisó el cuello de la raíz. Además, se examinó aleatoriamente el 10% de las plantas sanas. Las plantas que mostraban síntomas de enfermedad debido a otros factores como hongos, daño mecánico, ataque de otros insectos, no se incluyeron en el conteo del porcentaje de daño por larvas del mosco fungoso.

Cuadro 1. Tratamientos, ingrediente activo, formulación y dosis usada por tratamiento.

Tratamiento	Ingrediente activo	Formulación	Dosis
T1	Oxamil	24% por L	Alta 1.2 ml/L
T2	Oxamil	24% por L	Media 1 ml/L
T3	Oxamil	24% por L	Baja 0.8 ml/L
T4	Clorpirifos	480g por L	Alta 1.2 ml/L
T5	Clorpirifos	480g por L	Media 1 ml/L
T6	Clorpirifos	480g por L	Baja 0.8 ml/L
T7	Imidacloprid	350g por L	Alta 0.6 ml/L
T8	Imidacloprid	350g por L	Media 0.5 ml/L
T9	Imidacloprid	350g por L	Baja 0.4 ml/L
T10	Spirotetramat	15.30% por L	Alta 0.6 ml/L
T11	Spirotetramat	15.30% por L	Media 0.5 ml/L
T12	Spirotetramat	15.30% por L	Baja 0.4 ml/L
T13	Carbofuran	350g por L	Alta 1.2 ml/L
T14	Carbofuran	350g por L	Media 1 ml/L
T15	Carbofuran	350g por L	Baja 0.8 ml/L
T16	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>Israeliensis</i>	0.6%	Alta 1.2 g/L
T17	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>Israeliensis</i>	0.6%	Media 1 g/L
T18	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>Israeliensis</i>	0.6%	Baja 0.8 g/L
T19	Agua (testigo)	-	-

3.3.2 Eficacia de tratamientos

La eficacia de los tratamientos se calculó usando el porcentaje de plantas dañadas, con presencia o evidencia de larvas. Esta evaluación se hizo con respecto al total de las 54 plántulas de *P. montezumae* por tratamiento.

Porcentaje de plantas dañadas = (plantas con presencia de daño o larvas / total de plantas) X 100.

Con el porcentaje de plántulas dañadas por tratamiento, se calculó el porcentaje de plántulas sanas para los diferentes tratamientos.

Porcentaje de plantas sanas = 100% de plantas – porcentaje de plantas con daño.

Los datos en porcentaje se modificaron usando la transformación angular o arcoseno. Estos datos tienden a una distribución binomial, en lugar de una distribución normal. Esta distribución tiene la característica de que las varianzas se relacionan con las medias. La transformación angular se realizó con la siguiente fórmula:

$$\text{Arcoseno}\sqrt{\text{porcentaje}/100}$$

Con los datos originales en porcentaje y transformados se realizó un análisis de varianza ANOVA, una prueba de medias de Tukey para seleccionar el tratamiento más eficiente. Además, para comparar la eficacia de los tratamientos se realizó una comparación de medias de contrastes ortogonales con un nivel de

significancia del 5% ($\alpha = 0.05$). Esta prueba se utiliza cuando se tienen un conjunto de tratamientos contra otro conjunto de tratamientos.

3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ANOVA realizado a los porcentajes originales y transformados (arcoseno) de protección a las plántulas de *P. montezumae* contra el mosco fungoso negro se evidenció que el valor de “F” observado para los tratamientos resultó altamente significativo con una probabilidad ($P < 0.0001$); se concluyó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Cuadro dos).

Cuadro 2. Análisis de varianza de porcentajes de protección de plántulas por tratamiento.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr>F
Entre muestras	18	7866.734	437.047	75.14	<.0001
Error	57	331.543	5.816		
Total correcto	75	8198.28			

En la separación de medias de Tukey (Cuadro tres), los mejores tratamientos fueron el imidacloprid en dosis alta y baja, en los cuales las medias son significativamente diferentes al nivel del 5%, dando una protección del 100 %. Los tratamientos que también tuvieron un buen desempeño fueron spirotetramat alta (96.17%), oxamil alta (95.75), clorpirifos media (95.74), e imidacloprid alta (95.29). Solamente oxamil baja, carbofuran alta, BTI baja y carbofuran baja no

fueron significativamente diferentes al testigo, este último tuvo una mortalidad de plántulas del 43.39 %.

Cuadro 3. Prueba de medias deTukey, para eficacia de protección de plantas.

Tratamiento	Media original %	Media transformada
T7 Imidacloprid alta	100.00 A	90.00 A
T8 Imidacloprid media	100.00 A	90.00 A
T10 Spirotetramat alta	95.753 AB	79.675 B
T1 Oxamil alta	96.168 AB	78.733 BC
T5 Clorpirifos alta	95.743 AB	78.130 BCD
T9 Imidacloprid baja	95.290 AB	77.800 BCD
T4 Clorpirifos alta	91.533 BC	73.173 CDE
T2 Oxamil media	90.490 BCD	72.113 DE
T14 Carbofuran alta	86.443 CDE	68.430 EF
T12 Spirotetramat baja	84.900 DEF	67.173 EF
T16 <i>B. thuringiensis</i> var. israeliensis alta	84.618 DEF	67.063 EF
T18 <i>B. thuringiensis</i> var. israeliensis baja	80.675 EFG	63.975 FG
T6 Clorpirifos baja	79.598 FG	63.200 FGH
T11 Spirotetramat medio	79.438 FG	63.035 FGH
T3 Oxamil baja	75.003 GH	60.033 GHI
T13 Carbofuran alta	72.893 H	58.628 GHI
T17 <i>B. thuringiensis</i> var. Israeliensis baja	70.895 H	57.365 HI
T15 Carbofuran baja	70.090 H	56.890 HI
T19 agua (testigo)	69.693 H	56.613 I

El Cuadro cuatro muestra los resultados de los contrastes ortogonales evaluados. El contraste C1 compara todos los tratamientos contra el testigo, se obtuvo son significativamente diferentes al testigo. El contraste C2 compara los insecticidas químicos contra el BTI, donde los insecticidas químicos son significativamente diferentes al BTI; el contraste C3 compara los insecticidas que se han usado tradicionalmente en el vivero de Temamatla para controlar al mosquito fungoso negro contra dos insecticidas nuevos, existen diferencias altamente significativas entre estos productos; en el contraste C4 compara los insecticidas oxamil, imidacloprid, spirotetramat, carbofuran contra el clorpirifos el cual pertenece a los organofosforados. En este último contraste también existen diferencias altamente significativas.

Cuadro 4. Contrastes ortogonales calculados a partir de transformación arcoseno.

Contraste	GL	SC	CM	Valor F	Pr>F
C1 Oxamil, clorpirifos, imidacloprid, spirotetramat, carbofuran y <i>B. thuringiensis</i> var. israeliensis vs testigo	1	710.0	710.0	117.60	0.0001
C2 Oxamil, clorpirifos, imidacloprid, spirotetramat, y carbofuran vs <i>B. thuringiensis</i> var. Israeliensis	1	809.9	809.9	134.16	0.0001
C3 Oxamil, clorpirifos y carbofuran vs , imidacloprid, spirotetramat	1	1518.9	1518.9	251.59	0.0001
C4 Oxamil, imidacloprid, spirotetramat y carbofuran vs clorpirifos	1	1648.9	1648.9	273.13	0.0001

El imidacloprid fue el mejor insecticida; en sus dosis alta y media lograron la protección del 100% de las plantas, la dosis baja alcanzó un valor 95.29%. Previamente Cloyd y Dickinson (2006) reportan al imidacloprid como adecuado para controlar larvas de *Bradysia* sp nr. *Coprophila* en invernaderos.

Las dosis de spirotetramat en dosis alta protegió al 96.75% de las plantas; en cambio, las dosis baja y media tuvieron el 84.90% y 79.43%. En todas las raíces evaluadas en estos tratamientos, solo en una se encontraron larvas muertas, en el resto se tuvo rastros de larvas. Por lo que es muy probable que el producto si controle las larvas de mosco fungoso. Este es un producto sistémico, perteneciente al grupo derivados de los ácidos tetrónicos y tetrámicos, no es persistente en el ambiente y no es bioacumulable; su modo de acción inhibe la síntesis de lípidos; este producto es de movilidad dual podría ser aplicado al follaje y al suelo, lo cual permite facilidad de aplicación.

Oxamil. Las dosis alta y media; lograron la protección de 96.17% y 90.49% de las plantas. Sin embargo la dosis baja obtuvo una protección del 75.00% no logrando ser diferente significativamente con el testigo.

Clorpirifos. Las dosis media, alta y baja; obtuvieron un 95.74%, 91.53% y 79.60 de protección de plántulas. Los resultados de clorpirifos concuerdan con los obtenidos por Aguilera y Ortega, (1996) que tuvieron buenos resultados al asperjar en bolsas de plástico mensualmente clorpirifos en dosis de 0.58 litros/ha en *Trifolium pratense* L. para controlar *Bradysia Coprophila* (Lintner).

Carbofuran. La dosis media obtuvo un 86.44% de protección. La dosis alta y baja obtuvieron una protección de 72.89% y 56.89%, no diferenciándose significativamente del testigo. Además, se observó que la dosis alta causó clorosis en las plántulas de *P. montezumae*. Por lo que pudo tenerse una sobredosis del producto, siendo tóxico para las plántulas, causando estrés. Haciendo susceptibles las plántulas de pino al ataque del mosco fungoso. Además, los cortes de las raíces en este tratamiento en dosis alta y media se encontraron larvas muertas y evidencia de larvas. Mientras que la dosis baja se encontraron larvas vivas, muertas y evidencia de larvas. Estos resultados sugieren que el carbofuran no controló eficientemente el mosco fungoso negro.

BTI en dosis alta y baja protegieron en 84.62% a 80.67%. Estos fueron significativamente diferentes al testigo. La dosis media de BTI (70.89%) no fue diferente al testigo. Varios estudios reportan que BTI puede ser efectivo para el control de larvas de mosco fungoso negro (James *et al.*, 1995; White, 1999). Van Epenhuijsen *et al.*, (2001) reporta que el BTI puede reducir las poblaciones *Bradysia* sp. nr. *paupera* en plántulas de tabaco. Sin embargo, la efectividad es por solo unos cuantos días (James *et al.*, 1995; Pundt, 1999). Según Pundt (1999) el BTI tiene una efectividad de 48 horas, por lo que es necesario repetir el tratamiento de dos a tres veces. Cloyd y Dickinson (2006) encontraron evidencia que el BTI no controla larvas de segundo y tercer instar del mosco fungoso negro. Los bajos niveles de protección del BTI en este estudio, pueden deberse a que la evaluación de larvas se realizó a los 20 días de la última aplicación. Además,

pudo contribuir que entre aplicaciones se dejó un periodo de 20 días tiempo suficiente para que se volvieran a infestar nuevamente de larvas.

Clorpirifos, carbofuran y oxamil en dosis bajas no protegieron las plántulas adecuadamente, se tuvo larvas vivas dentro de las raíces. Esto se puede atribuir que el mosco fungoso ha desarrollado resistencia a dosis bajas de estos productos. En Temamatla se ha usado en repetidas veces clorpirifos, carbofuran y oxamil para combatir este insecto. El desarrollo de resistencia del mosco fungoso negro se atribuye al ciclo biológico de aproximadamente un mes (Frouz y Nováková, 2001; Lewandowski *et al.*, 2004; Mansilla *et al.*, 2001; Pundt, 1999; Stefan, 1974; Wilkinson y Daugherty, 1970). Además, la estrategia que tiene este insecto es sobreponer sus generaciones. White (1981) reporta que *Lycoriella auripila* (Winn) ha desarrollado resistencia a los organofosforados (clorpirifos). También, se puede deber a que estos tratamientos son un 20% menor a las dosis recomendadas por el fabricante.

3.5 CONCLUSIONES

Los insecticidas químicos: oxamil, spirotetramad, imidacloprid, carbofuran, clorpirifos, pueden ser efectivos para el control de las larvas del mosco fungoso negro. El uso de insecticidas solo debe ser parte de una serie de acciones, que permitan mantener las poblaciones de mosco fungoso por debajo de su umbral económico. Además, se debe tener cuidado con la cantidad aplicada de producto, la frecuencia y la rotación de productos.

El carbofuran en dosis alta puede ser toxico para las plántulas de *P. montezumae*. En dosis bajas el carbofuran no controla al mosco fungoso.

En el caso del control biológico de BTI no se obtuvieron los mejores resultados. Por lo que se sugiere realizar estudios posteriores para conocer sus alcances para controlar al mosco fungoso en viveros forestales. Las aplicación de este producto deben ser de dos a tres con un periodo entre aplicación de cuatro días.

AGRADECIMIENTOS

Al Mayor de Caballería Teodoro Ariel Ake Dzib Jefe del vivero forestal militar Temamatla; a Ing. Alberto González Enríquez, Ing. Oscar Andree Azuara González y a Ing. Alejandro Castro Moreno personal técnico del Vivero de Temamatla, por su apoyo en la fase campo en el control del mosco fungoso.

3.6 LITERATURA CITADA

Aguilera, P. A., y K. F. Ortega (1996). *Bradysia coprophyla* (Lintner) (Diptera: Sciaridae) en Trébol Rosado (*Trifolium pratense* L.). Agricultura Técnica. 56 (2): 135-138.

Cibrián, T. D., D. S. García y M. B. Don Juan (2008). Manual de identificación y manejo de plagas y enfermedades en germoplasma y planta producida en viveros. Comisión Nacional Forestal. México. pp. 60-61

Cloyd, A. R., y A. Dickinson (2006). Effect of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis* and neonicotinoid insecticides on the fungus gnat *Bradysia* sp. nr. *Coprorhyla* (Linter) (Diptera: Sciaridae). Pest Management Science. 62 (2): 171-177.

Erler, F., E. Polat, H. Demir, M. Catal y G. Tuna (2011). Control of mushroom sciarid fly *Lycoriella ingenua* populations with insect growth regulators applied by soil drench. Journal of Economic Entomology. 104 (3): 839-844.

Frouz, A., y A. Nováková (2001). A new method for rearing the sciarid fly, *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae), in the laboratory: posible implications for the study of fly-fungal interactions. Pedobiologia. 45, 329-340.

Gardiner, R. B., W. R. Jarvis y J. L. Shipp (1990). Ingestion of *Pythium* spp. by larvae of the fungus gnat *Bradysia impatiens* (Diptera:Sciaridae). Annals of Applied Byology. 116, 205-212.

Gillespie, R. D., y J. G. Menzies (1993). Fungus gnats vector *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Annals of Applied Biology. 123, 539-544.

Hurley, B. P., B. Slippers, T. A. Coutinho, B. D. Wingfield, P. Govender y M. J. Wingfield (2007). Molecular detection of fungi carried by *Bradysia diffirmis* (Sciaridae: Diptera) in South African forestry nurseries. Southern Hemisphere Forestry Journal. 69 (2): 103-109.

Hurley, B. P., B. Slippers, B. D. Wingfield, P. Govender, J. E. Smith y M. J. Wingfield (2010). Genetic diversity of *Bradysia diffirmis* (Sciaridae: Diptera) populations reflects movement of an invasive insect between forestry nurseries. Biol Invasions. 12, 729-733.

James, R. L., R. K. Dumroese y D. L. Wenny (1995). *Botrytis cinérea* carried by adult fungus gnats (Diptera: Sciaridae) in container nurseries. Tree Planters Notes. 46 (2): 48-53.

Kalb, D. W., y R. L. Millar (1986). Dispersal of *Verticillium albo-atrum* by the fungus gnats (*Bradysia impatiens*). Plant Disease. 70, 752-753.

Keates, S. E., R. N. Sturrock y J. R. Sutherland (1989). Populations of adult fungus gnats and shore flies in British Columbia container nurseries as relates to nursery environment, and incidence of fungi on the insects. New Forests, 3, 1-9.

Komarov, S. S. (2009). A review of species of the sciarid-fly genus *Lycoriella* Frey (Diptera, Sciaridae) of the Altai fauna. Entomological Review. 89 (2): 175-180.

Lewandowski, M., A. Sznyk y A. Bednarek (2004). Biology and morphometry of *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). Biol. Lett. 41 (1): 41-50.

Mansilla, J. P., M. I. Pastoriza y R. Pérez (2001). Estudio sobre la biología y control de *Bradysia paupera* Tuomikoski (= *Bradysia diffirmis* Frey) (Diptera: Sciaridae). Bol. San. Veg. Plagas, 27, 411-417.

Mohrig, W., y F. Menzel (2009). Sciaridae (Black fungus gnats). *In*: B. V. Brown, A. Borkent, J. M. Cumming, D. M. Wood, N. E. Woodley y M. A. Zumbado. (Eds.), *Manual of Central American Diptera vol 1* (pp. 279-292). Canadá: National Research Council of Canada Monograph Publishing Program.

O'Connor, L., y C. B. Keil (2005). Mushroom host influence on *Lycoriella mali* (Diptera: Sciaridae) life cycle. *J. Econ. Entomol.* 98 (2): 342-349.

Pundt, L. (1999). Fungus gnats are a serious pests. *Yankee Grover.* 9-10.

Shamshad, A., A. D. Clift y S. Mansfield (2009). The effect of tibia morphology on vector competency of mushroom sciarid flies. *Journal of Applied Entomology.* 133 (6): 484-490.

Springer, T. L. (1995a). Vulnerability of pasture and range legumes to fungus gnats. *Crop Science.* 35, 534-536.

Springer, T. L. (1995b). Fungus gnats (Diptera: Sciaridae) feeding damage to legume seedling. *Journal of the Kansas Entomological Society.* 68 (2): 240-242.

Steffan W. A. (1981). Sciaridae. *In*: J. F. McAlpine, B. V. Peterson, G. E. Shewell, H. J. Teskey, J. R. Vockeroth y D. M. Wood (eds.). *Manual of Nearctic Diptera*, vol. 1. (pp. 247-255). Canadá: Research Branch Agriculture Canada Monograph 27.

Steffan W. A. (1974). Laboratory studies and ecological notes on Hawaiian Sciaridae (Diptera). *Pacific Insects.* 16 (1): 41-50.

Van Epenhuijsen, C. W., B. B. Page y J. P. Koolard (2001). Preventative treatments for control of fungus gnats and shore flies. *New Zealand Plant Protection.* 54, 42-46.

Wilkinson, J. D., y D. M. Daugherty (1970). The biology and immature stages of *bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). Annals of the Entomological Society of America, 63 (3): 656-660.

White, P. F., J. E. Smith y F. Menzel (2000). Distribution of Sciaridae (Dipt.) species infesting comercial mushroom farms in Britain. Entomologist's Monthly Magazine. 136, 207-209.

White, P. F. (1999). Comparative effects of three insect growth regulator insecticides and a dipteran-active strain of *Bacillus thuringiensis* on cropping of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. Annals of Applied Biology. 134 (1): 35-43.

White, P. F. (1981). Chemical control of the mushroom sciarid, *Lycoriella auripila* (Winn.). Mushroom Sci. 12, 265-273.

4. DISCUSIONES Y CONCLUSIONES GENERALES

En México se identifica por primera vez las especies de mosco fungoso negro de *B. impatiens* y *L. ingenua* en viveros forestales atacando plántulas de coníferas.

En el vivero forestal de Temamatla, Estado de México las larvas y adultos de *L. ingenua* y *B. impatiens* se asocian con siete géneros de hongos. Estos hongos pueden ser transportados dentro del sustrato de los tubetes por las larvas, y entre contenedores y platabandas por los adultos.

Los daños causados en la raíz por las larvas del mosco fungoso pueden ocasionar la muerte de las plántulas de *P. montezumae*.

Las larvas de mosco fungoso son capaces de detectar en 15 minutos la raíz del pino.

El ciclo biológico de *B. impatiens* a $21^{\circ}\text{C} \pm$ en laboratorio fue de 27.5 días con cuatro instares larvarios, además el ancho de la capsula cefálica es parámetro sirve para separar los instares larvarios. Por cada macho se tienen 2.4 hembras.

El ciclo biológico de *L. ingenua* a $21^{\circ}\text{C} \pm$ en laboratorio dura 30.5 días, presenta cuatro instares larvarios, los mejores parámetros para separarlos son el ancho de la capsula Cefálica y largo del cuerpo en combinación. Por cada macho se tienen 1.25 hembras.

La duración del ciclo biológico y la talla de los diferentes instares de estas especies de la familia Sciaridae, están estrechamente relacionados con la temperatura y las dietas con las que son alimentadas las larvas de mosco fungoso negro.

Los insecticidas químicos: oxamil, spirotetramad, imidacloprid, carbofuran y clorpirifos, son efectivos para el control de las larvas del mosco fungoso negro.

Se recomienda el uso de los insecticidas químicos oxamil, spirotetramad, imidacloprid y clorpirifos, para el control del mosco fungoso negro, cuando sus poblaciones son elevadas.

El carbofuran en dosis alta puede ser toxico para las plántulas de *P. montezumae*. En dosis bajas el carbofuran no controla al mosco fungoso. Este producto no se recomienda para el manejo de este insecto.

El control biológico de BTI no se obtuvo los mejores resultados. Por lo que se sugiere realizar estudios posteriores para conocer sus alcances para controlar al mosco fungoso en viveros forestales. Las aplicación de este producto deben ser de dos a tres con un periodo entre aplicación de cuatro días.

5. LITERATURA GENERAL CITADA

Aguilera, P. A. y K. F. Ortega. 1996. *Bradysia coprophila* (Lintner) (Diptera: Sciaridae) en Trébol Rosado (*Trifolium pratense* L.). Agricultura Técnica, 56(2): 135-138.

Cibrián, T. D., D. S. García y M. B. Don Juan. 2008. Manual de identificación y manejo de plagas y enfermedades en germoplasma y planta producida en viveros. Comisión Nacional Forestal. México.

Cloyd, A. R., y A. Dickinson (2006). Effect of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis* and neonicotinoid insecticides on the fungus gnat *Bradysia* sp. nr. *Coprorhyla* (Linter) (Diptera: Sciaridae). Pest Management Science. 62 (2): 171-177.

Erler, F., E. Polat, H. Demir, M. Catal y G. Tuna. 2011. Control of mushroom sciarid fly *Lycoriella ingenua* populations with insect growth regulators applied by soil drench. Journal of Economic Entomology, 104(3): 839-844.

Frouz, A. y A. Nováková. 2001. A new method for rearing the sciarid fly, *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae), in the laboratory: posible implications for the study of fly-fungal interactions. Pedobiologia, 45: 329-340.

García, P. F. (2008). Fungus Gnast. Insecto plaga en ornamentales. INIFAP.

Gardiner, R. B., W. R. Jarvis y J. L. Shipp. 1990. Ingestion of *Phytium* spp. by larvae of the fungus gnat *Bradysia impatiens* (Diptera:Sciaridae). Annals of Applied Byology, 116: 205-212.

Gillespie, R. D. y J. G. Menzies. 1993. Fungus gnats vector *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Annals of Applied Biology*, 123: 539-544.

Hurley, B. P., B. Slippers, T. A. Coutinho, B. D. Wingfield, P. Govender y M. J. Wingfield. 2007. Molecular detection of fungi carried by *Bradysia diffirmis* (Sciaridae: Diptera) in South African forestry nurseries. *Southern Hemisphere Forestry Journal*, 69(2): 103-109.

Hurley, B. P., B. Slippers, B. D. Wingfield, P. Govender, J. E. Smith y M. J. Wingfield. 2010. Genetic diversity of *Bradysia diffirmis* (Sciaridae: Diptera) populations reflects movement of an invasive insect between forestry nurseries. *Biol Invasions*, 12: 729-733.

James, R. L., R. K. Dumroese y D. L. Wenny. 1995. *Botrytis cinérea* carried by adult fungus gnats (Diptera: Sciaridae) in container nurseries. *Tree Planters Notes*, 46(2): 48-53.

Kalb, D. W. y R. L. Millar. 1986. Dispersal of *Verticillium albo-atrum* by the fungus gnats (*Bradysia impatiens*). *Plant Disiase*, 70: 752-753.

Keates, S. E., R. N. Sturrock y J. R. Sutherland. 1989. Populations of adult fungus gnats and shores flies in British Columbia container nurseries as relates to nursery environment, and incidence of fungi on the insects. *New Forests*, 3: 1-9.

Landis, T. D., R. W. Tinus, S. E. McDonald y J. P. Barnett. 1989. The biological component: nursery pest and micorrhizae. *In: The container tree nursery manual*. Vol 5. Agriculture Handbook 674. Washington D. C. USDA. Forest Service.

Lewandowski, M., A. Szynek y A. Bednarek. 2004. Biology and morphometry of *Lycoriella ingenua* (Dipetera: Sciaridae). *Biol. Lett*, 41(1): 41-50.

Mansilla, J. P., M. I. Pastoriza y R. Pérez. 2001. Estudio sobre la biología y control de *Bradysia paupera* Tuomikoski (= *Bradysia difformis* Frey) (Diptera: Sciaridae). Bol. San. Veg. Plagas, 27: 411-417.

Menzel, F., J. E. Smith y J. P. Chandler. 2006. The sciarid fauna of the British isles (Diptera: Sciriadae), including descriptions of six new species. Zoological Journal of the Linnean Society, 146: 1-147.

Menzel, F., J. E. Smith y B. N. Colauto. 2003. *Bradysia difformis* Frey and *Bradysia ocellaris* (Comstock): two additional neotropical species of black fungus gnats (Diptera: sciaridae) of economic importance: a redescription and review. Ann. Entomol. Soc. Am. 96(4): 448-457.

Mohrig, W. y F. Menzel. 2009. Sciaridae (Black fungus gnats). In: B.V. Brown, A. Borkent, J. M. Cumming, D. M. Wood, N. E. Woodley y M. A. Zumbado, eds. Manual of Central American Diptera vol 1. Monograph Publishing program. Canadá: National Research Council of Canada. p: 279-292.

O'Connor, L. y C. B. Keil. 2005. Mushroom host influence on *Lycoriella mali* (Diptera: Sciaridae) life cycle. J. Econ. Entomol, 98(2): 342-349.

Pundt, L. 1999. Fungus gnats are a serious pests. Yankee Grover, 9-10.

Radin, B., W. V. R. Dos-Santos, L. B. Brito, S. Witter y S. J. R. Pfeifer. 2009. *Bradysia* sp. em morangueiro. Ciência Rural, 39(2): 547-550.

Shamshad, A., A. D. Clift y S. Mansfield. 2009. The effect of tibia morphology on vector competency of mushroom sciarid flies. Journal of Applied Entomology, 133(6): 484-490.

Smith, J. E., P.F. White, R. N. Edmondson y D. Chandler. 2006. Effect of different *Agaricus* species on the development of the mushroom sciarid fly *Lycoriella ingenua*. *Entomologia Experimentalis et applicata* 120: 63-69.

Springer, T. L. 1995a. Fungus gnats (Diptera: Sciaridae) feeding damage to legume seedling. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 68(2): 240-242.

Springer, T. L. 1995b. Vulnerability of pasture and range legumes to fungus gnats. *Crop Science*, 35: 534-536.

Steffan, W. A. 1981. Sciaridae. *In*: J. F. McAlpine, B. V. Peterson, G. E. Shewell, H. J. Teskey, J. R. Vockeroth y D. M. Wood, eds. *Manual of Nearctic Diptera*, vol. 1. Research Branch Agriculture Canada Monograph 27. Canadá p: 247-255.

Van Epenhuijsen, C. W., B. B. Page y J. P. Koolard (2001). Preventative treatments for control of fungus gnats and shore flies. *New Zealand Plant Protection*. 54, 42-46.

Villanueva, S. E. 2013. Nematodos entomopatógenos en el control de la mosca negra (Diptera: Sciriadae) en noche buena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex. Klotzch). Tesis doctoral, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Edo de México, México.

Wilkinson, J. D. y D. M. Daugherty. 1970. The biology and immature stages of *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Annals of the Entomological Society of America*, 63: 656-660.

White, P. F., J. E. Smith y F. Menzel. 2000. Distribution of Sciaridae (Dipt.) species infesting commercial mushroom farms in Britain. *Entomologist's Monthly Magazine*, 136: 207-209.

White, P. F. (1999). Comparative effects of three insect growth regulator insecticides and a dipteran-active strain of *Bacillus thuringiensis* on cropping of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Annals of Applied Biology*. 134 (1): 35-43.

White, P. F. (1981). Chemical control of the mushroom sciarid, *Lycoriella auripila* (Winn.). *Mushroom Sci.* 12, 265-273.