



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DIVISIÓN DE CIENCIAS FORESTALES

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES

PRUEBAS DE ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DEL MOSCO FUNGOSO *Bradysia impatiens* JOHANNSEN 1912 (DIPTERA: SCIARIDAE)

**Que como requisito parcial para obtener el grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES**

Presenta:

MIRIAM GUADALUPE HUERTA VÁZQUEZ

Bajo la supervisión de:

DR. DAVID CIBRIÁN TOVAR



APROBADA



Chapingo, Texcoco, Estado de México. Junio del 2021.

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

PRUEBAS DE ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DEL MOSCO FUNGOSO *Bradysia impatiens* JOHANNSEN 1912 (DIPTERA: SCIARIDAE)

Tesis realizada por **MIRIAM GUADALUPE HUERTA VÁZQUEZ** bajo la supervisión 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 CIBRIAN TOVAR

ASESOR:



DR. VÍCTOR HUGO MARÍN CRUZ

ASESOR:



DR. ANTONIO VILLANUEVA MORALES

ASESOR:



DRA. EVERT VILLANUEVA SÁNCHEZ

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ABREVIATURAS USADAS	VII
DEDICATORIAS.....	VIII
AGRADECIMIENTOS.....	IX
DATOS BIOGRÁFICOS.....	X
RESUMEN GENERAL.....	XI
1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	13
1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL.....	13
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
1.3 OBJETIVOS	15
1.4 HIPÓTESIS	15
1.5 LITERATURA CITADA.....	16
2. CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	18
2.1 Marco teórico.....	18
2.1.1 Generalidades del mosco fungoso.....	18
2.1.2 Daños y relaciones con hongos patógenos.....	22
2.1.3 Técnicas de monitoreo.....	22
2.1.4 Distribución e importancia.....	23
2.1.5 Tácticas de combate.....	23
2.1.6 Hongos entomopatógenos (HEP)	25
2.1.7 Bacterias entomopatógenas	32
2.1.8 Nematodos entomopatógenos (NEP)	35
2.2 Marco metodológico	41
2.2.1 Metodología para la obtención de cría de <i>Bradysia impatiens</i>	41

2.2.2	Metodología para bioensayo	42
2.2.3	Análisis estadístico.....	44
2.3	LITERATURA CITADA	45
3.	CAPÍTULO III. Efectividad de entomopatógenos en el combate del mosco fungoso <i>Bradysia Impatiens</i> Johansen 1912 (Diptera: Sciaridae)	54
3.1	Introducción.....	55
3.2	Materiales y Métodos	56
3.3	Resultados y Discusión	58
3.4	Conclusiones.....	63
3.5	Reconocimiento	63
3.6	Literatura citada	64
4.	CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES GENERALES	66

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de los hongos entomopatógenos.....	25
Cuadro 2 Características de los tratamientos evaluados para el control de <i>Bradysia impatiens</i> en viveros forestales.	43
Cuadro 3. Test tipo III de efectos fijos.....	58
Cuadro 4. Medias de mínimos cuadrados.....	59
Cuadro 5 Ajuste para comparaciones múltiples: Tukey-Kramer.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Adultos de <i>B. impatiens</i>	19
Figura 2. Estados inmaduros de <i>Bradysia difformis</i>	20
Figura 3. Ciclo de vida de <i>B. impatiens</i>	21
Figura 4 <i>Bacillus thuringiensis</i>	28
Figura 5. <i>Metarhizium anisopliae</i>	29
Figura 6. Esquema del desarrollo de un hongo entomopatógeno	31
Figura 7. Vista microscópica de <i>Bacillus thuringiensis</i>	34
Figura 8. Juvenil infectivo (JI) de <i>Steinernema feltiae</i>	38
Figura 9. Ciclo biológico del nematodo <i>Steinernema feltiae</i>	40
Figura 10. Procedimiento para establecer una cría de mosco fungoso	42
Figura 11. Medias de los tratamientos	60

ABREVIATURAS USADAS

HEP: Hongos entomopatógenos

MIP. Manejo integrado de plagas

NEP. Nematodos entomopatógenos

IJ. Infeccivos juveniles

DEDICATORIAS

A Dios por brindarme la vida y fuerza para seguir logrando mis metas, a pesar de las adversidades.

A mis dos salvavidas en esta vida y al Ángel que cuida de nosotros desde el cielo.

A mi familia que siempre me ha brindado su apoyo en cada momento de mi vida.

A todos los estudiantes, especialmente a los de posgrado, nunca se desanimen en su camino y sigan preparándose para lograr sus metas.

A todos los amigos que forman parte de mi vida, en especial a los de la maestría, pues en esta etapa, generamos fuertes lazos de vida.

A todas las personas que estuvieron involucradas de manera directa o indirecta en este trabajo.

A todas las víctimas de desapariciones en México, en especial a ti MGCC, tú sabes lo que pienso, deseo que la paz nos devuelva el derecho de tenerte de regreso. La esperanza en cada uno de los seres queridos nos mantiene de pie, seguiremos buscando hasta encontrarlos.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio forma parte del proyecto del Fondo Sectorial CONACYT-CONAFOR A-S-67865 “Monitoreo, evaluación de daños, manejo preventivo y control de la secadera y pudrición de raíz causadas por *Fusarium* spp, y las moscas fungosas *Bradysia* y *Lycoriella*”.

Al CONACyT por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y a la Dirección General de Investigación y Posgrado a través de la División de Ciencias Forestales y Claustro de la Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales por las facilidades otorgadas para concluir la maestría.

A la Coordinación de la Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales, Dr. Monterroso, Dra. Ma. Amparo Borja y a Magaly por su invaluable apoyo.

A los profesores de la División de Ciencias Forestales que gracias a su formación y empeño aprendí conocimientos nuevos.

A mi comité de tesis, Dr. David Cibrián Tovar, Dr. Víctor Hugo Marín Cruz, Dr. Antonio Villanueva Morales, y Dra. Evert Villanueva Sánchez por todos los conocimientos aportados en mi desarrollo profesional y observaciones a esta investigación. A ustedes mi respeto, admiración y mi eterno agradecimiento.

A la CEAV por el apoyo brindado en este periodo, en especial a la Lic. Irais Campos Saldaña, por la motivación y consejos.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre	Miriam Guadalupe Huerta Vázquez
Fecha de nacimiento	8 de mayo de 1989
Lugar de nacimiento	Tlaxcala, Tlax.
Profesión	Ing. Forestal

Desarrollo académico

Licenciatura	Ing. Forestal, Cursada en Universidad Autónoma Chapingo
Maestría	Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales, en la Universidad Autónoma Chapingo

RESUMEN GENERAL

EFFECTIVIDAD DE ENTOMOPATÓGENOS EN EL COMBATE DEL MOSCO FUNGOSO *Bradysia impatiens* JOHANSEN 1912 (DIPTERA: SCIARIDAE)¹

El mosco fungoso negro, *Bradysia impatiens*, es una plaga de primer orden en viveros de coníferas con sistema de producción en contenedor. Se evaluó el efecto de cuatro organismos entomopatógenos de cepas comerciales, en el control de mosco fungoso negro. Mediante bioensayos en condiciones de laboratorio, se probaron cuatro entomopatógenos en larvas jóvenes del mosco fungoso. Las tasas de mortalidad se analizaron a través del ajuste de un modelo lineal generalizado con función de liga logit. Las tasas de mortalidad fueron: la bacteria *Bacillus thuringiensis var israelensis*, 87%; el nematodo *Steinernema feltiae*, 84%; los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* fueron 77% y 74% respectivamente. Un control positivo con insecticida tuvo un 100% de mortalidad y el control negativo un 6%. Se confirmaron diferencias significativas ($p = 0.0055$) con el control negativo. Estos microorganismos se pueden utilizar como táctica de control biológico para el mosco fungoso.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis var. israelensis*, *Beauveria bassiana*, control biológico, *Metarhizium anisopliae*, *Steinernema feltiae*.

¹ Tesis de Maestría en Ciencias, Programa de Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Miriam Guadalupe Huerta Vázquez
Director de tesis: Dr. David Cibrián Tovar

ABSTRACT

EFFICACY OF ENTOMOPATHOGENS IN THE CONTROL OF THE FUNGUS GNAT *Bradysia impatiens* JOHANSEN 1912 (DIPTERA: SCIARIDAE)²

The Black Fungus Gnat, *Bradysia impatiens*, is a main pest in conifer nurseries with a container production system. Evaluate the effect of four entomopathogenic organisms of commercial strains, in the control of black fungus gnats. Through bioassays in laboratory conditions, four entomopathogens were tested in young larvae of black fungus gnats; mortality rates were through the fit of a binomial generalized linear model with logit link function. Mortality rates were: the bacteria *Bacillus thuringiensis var israelensis*, 87%; the nematode *Steinernema feltiae*, 84 %; the fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* were 77% and 74% respectively. A positive control with insecticide had 100 % mortality and the negative control 6%. Significant differences ($p=0.0055$) with the negative control was confirmed. These microorganisms can be used as biological control tactic for the Black Fungus Gnat.

Keywords: *Bacillus thuringiensis var. israelensis*, *Beauveria bassiana*, biological control, *Metarhizium anisopliae*, *Steinernema feltiae*.

² Master of Science's thesis, Programa de Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Miriam Guadalupe Huerta Vázquez
Director de tesis: Dr. David. Cibrián Tovar

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Un vivero forestal es el sitio, en el cual se producen plántulas forestales que posteriormente serán llevadas a campo para diferentes fines. Debido a esto es importante cuidar los aspectos técnicos que conlleven a obtener planta de calidad y asegurar una mayor sobrevivencia en campo. Uno de los aspectos que requieren especial atención, es el monitoreo sanitario de la planta y en caso de existir presencia de poblaciones de insectos u otros agentes patógenos que rebasen el umbral económico de daño, se deben implementar acciones de control.

Específicamente se estudió el caso de *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912 (Diptera: Sciaridae), al estado adulto se le conoce como mosco fungoso negro (Black Fungus Gnat) (Menzel et al. 2003; Menzel et al. 2020). Alrededor del mundo se describe la presencia de este insecto en invernaderos y viveros de ornamentales y especies forestales, hortalizas y en jardines (White et al. 2000; García, 2008; Santos et al. 2012; Villanueva-Sánchez et al. 2013; Marín et al. 2015a; Han et al. 2015). Dentro de las principales plagas y enfermedades que causan pérdidas en viveros de México se encuentran el hongo pudridor *Fusarium* y el mosco fungoso *Bradysia*; de este díptero se reportan ataques severos en viveros forestales de los estados de Jalisco y México (Cibrián et. al. 2008). Marín et al. (2015a) reportan por primera vez la ocurrencia de *B. impatiens* en plántulas de *Pinus montezumae* Lamb, 1832, además mencionan daños del 30% a la producción en el ciclo 2010-2011. En conclusión, el mosco fungoso negro se ha convertido en una plaga de primer orden en viveros forestales con producción en contenedor de clima templado-frío.

Los daños que ocasiona *Bradysia*, son de tipo directo, cuando la larva consume las finas raíces de la plántula y de tipo indirecto, ya que puede ser vector de hongos fitopatógenos (White et al. 2000; Cibrián et al. 2008; Marín-Cruz, 2017).

Debido a la importancia de esta plaga, se sugiere la aplicación de una estrategia de manejo integrado de plagas, en la cual se deben considerar todas las tácticas de control posibles. Dentro del control biológico, se encuentran los organismos entomopatógenos, los cuales se definen como parásitos obligados o facultativos de insectos, con una alta capacidad de esporulación y supervivencia. Sus mayores ventajas, están en la manipulación, adaptación a diferentes ambientes, especificidad y capacidad de penetración directa a través del tegumento (Allendes, 2007). En la presente tesis se hace uso de organismos entomopatógenos como alternativa de control biológico en el manejo de *B. impatiens*, para su aplicación en viveros forestales.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, el uso de químicos para el control de poblaciones del mosco fungoso es común; no obstante, debido al rápido ciclo del mosco fungoso, en promedio de 28 días, y a un uso inadecuado de estos productos, se ha desarrollado resistencia a varios insecticidas.

Ante este panorama, el presente estudio experimenta el control microbiano con microorganismos entomopatógenos; específicamente la utilización de los hongos *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin y *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin, la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* Berliner, y el nematodo *Steinernema feltiae* Filipjev.

El estudio se justifica por las ventajas ecológicas y económicas respecto al uso de insecticidas, lo cual representa una utilidad inmediata a viveristas dedicados a la producción de planta en contenedor.

1.3 OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar, mediante bioensayos en laboratorio, la efectividad de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, y el nematodo *Steinernema feltiae* en el control de larvas de mosco fungoso *Bradysia impatiens*.

Objetivo particular

1. Determinar el organismo entomopatógeno que ocasiona mayor mortalidad a larvas de *Bradysia impatiens*.

1.4 HIPÓTESIS

Ho. Ninguno de los microorganismos entomopatógenos propuestos es eficiente para el control de *B. impatiens*.

Ha. Al menos uno de los microorganismos entomopatógenos propuestos, será eficiente para el control de *B. impatiens*

1.5 LITERATURA CITADA

- Allendes, G. L. (2007). Evaluación de ocho cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* (Metsch.) sorokin., para el control de *Aleurothrixus floccosus* Maskell. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Facultad Agrónoma.
- Cibrián, T. D; García, D. S. y Don Juan, M. B. (2008). Manual de identificación y manejo de plagas y enfermedades en germoplasma y planta producida en viveros. Comisión Nacional Forestal. Guadalajara, Jal., México.
- Cloyd, R. A. (2015). Ecology of Fungus Gnats (*Bradysia* spp.) in Greenhouse Production Systems Associated with Disease-Interactions and Alternative Management Strategies. *Insects*, 6(2), 325–332. <https://doi.org/10.3390/insects6020325>
- García, P. F. (2008). Fungus gnat. Insecto plaga en ornamentales. Desplegable informativo No. 31. INIFAP, Zacatepec, Morelos, México.
- Han, Q X., Cheng, D M., Luo, J., Zhou, C Z., Lin, Q S, and Xiang, M M. (2015). First report of *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae) damage to phalaenopsis orchid in China. *J. Asia-Pac. Entomol.* 18: 77–81.
- Marín-Cruz, V. H., Cibrián-Tovar, D., Méndez-Montiel, J. T., Pérez-Vera, O. A., y Cadena-Meneses, J. A. (2015a). Control del mosco fungoso negro, *Lycoriella ingenua* (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae) en *Pinus montezumae* Lamb. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 6(27), 90–100. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v6i27.283>
- Marín-Cruz, V. H., Cibrián-Tovar, D., Méndez-Montiel, J. T., Pérez-Vera, O. A., Cadena-Meneses, J. A., Huerta, H., Rodríguez-Yam, G., y Cruz-Rodríguez, J. A. (2015b). Biología de *Lycoriella ingenua* y *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Madera y Bosques*, 21, 113–128.

- Marín-Cruz, V. H., Huerta, H., Rodríguez N, S. (2017). Familia Sciaridae. En: Cibrián T., D. (Ed.). Fundamentos de Entomología Forestal. (pp: 444-446). Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México, México.
- Menzel, F., J. E. Smith & 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. *Annals of the Entomological Society of America* 96(4):448-457.
- Menzel, F., Salmela, J., & Viikmaa, P. (2020). New species and new records of black fungus gnats (Diptera: Sciaridae) from the Viidumäe Nature Reserve, Estonia. *European Journal of Taxonomy*, 720(1), 62-76. <https://doi.org/10.5852/ejt.2020.720.1115>
- Santos, A., Zanetti, R., Almado, R P., Serrao, J E., Zanuncio, J C. (2012). First report and population changes of *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae) on *Eucalyptus* nurseries in Brazil. *Fla. Entomol.* 95: 569–572.
- Villanueva-Sánchez, Evert, Ibáñez-Bernal, Sergio, Lomelí-Flores, J. Refugio, Valdez-Carrasco, Jorge. (2013). Identificación Y Caracterización De La Mosca Negra, *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae) en el Cultivo de Nochebuena (*Euphorbia Pulcherrima*) en el Centro De México. *Acta Zoológica Mexicana (Nueva Serie)*, 29(2), 363-375.
- 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 (1636/1639:207-209).

2. CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Marco teórico

2.1.1 Generalidades del mosco fungoso

Mohring et al. (2012) realizaron una revisión de la familia Sciaridae de Norteamérica y determinaron que el nombre *Bradysia difformis* es sinónimo de *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912. Por lo cual, se adopta el nombre científico de *Bradysia impatiens*, cuyo nombre común es mosco fungoso negro o black fungus gnat. De esta familia, se han descrito alrededor de 2400 especies en todo el mundo, en países como; Estados Unidos, Gran Bretaña, Japón, Rusia, España, Brasil, Azerbaijan, Republica Checa, Finlandia, Alemania, Holanda, Suiza, Italia (Menzel et al. 2003).

Descripción de *Bradysia impatiens*

Adulto

Los adultos se reconocen principalmente por las siguientes características: el ala es simple y constantemente de color grisáceo-pardo (infuscada); la base de a vena M es más larga que la bifurcación de M; las venas M y Cu presentan la horquilla ("Y"); son de color pardo oscuro a negro (Marín-Cruz et al. 2017a). La longitud de adultos varía según los diferentes investigadores, Mohrig y Menzel (2009); Mohrig et al. (2012) refieren una longitud mayoritaria de 2-3 mm, mientras que Menzel et al. (2003) mencionan que la longitud de su cuerpo es de 1 a 7 mm, Marín-Cruz et al. (2017a) determinó que el tamaño principalmente es de 1-6 mm de longitud del cuerpo y rara vez más de 10 mm, Mansilla et al. (2001) los diferenciaron en términos del tamaño de los diferentes sexos, al demostrar que los machos de *B. difformis* son más cortos (2,5 mm) en longitud corporal que las hembras (3 mm). Las hembras poseen de forma única un abdomen largo y abultado que termina con un ovipositor, mientras que los machos se distinguen por un abdomen más estrecho, que termina con una pinza presil, la cual le permite sujetar a la hembra (Figura 1).



Figura 1. Adultos de *B. impatiens*.
a) Hembra, b) Macho, c) Adulto vista general.
Fuente: Eleusis Llanderal Arango

Huevo

La hembra deposita algunos huevos sobre, dentro o cerca de una fuente de alimento, de manera que al eclosionar puedan alimentarse inmediatamente. (Castro, 2017). El huevo es liso y blando, recién ovipositado es de color blanco lechoso y conforme se desarrolla se torna de color amarillo claro semitransparente y brillante (Figura 2). La hembra oviposita en promedio 81 huevos individualmente o en grupos (Marín-Cruz et al. 2017a). Miden 0.24 mm de longitud y 0.16 mm de ancho (Mansilla et al. 2001).

Larva

Son eucéfalas, con la cápsula cefálica en color negro, el abdomen tiene 18 segmentos. La coloración es blanca y ligeramente traslúcida (Figura 2). Dentro del estado larval se pueden reconocer cuatro instares (Marín-Cruz et al. 2017a). Normalmente estos estadios se diferencian por su longitud, de acuerdo con las siguientes medidas: 0,4-0,6 mm (primer estadio), 0,6-1,25 mm (segundo estadio), 1,25-2,5 mm (tercer estadio) y 2,5–4,75 mm (cuarto estadio) (Mansilla y Pastoriza 2001). Harris et al. (1995), describe la ocurrencia de larvas a una profundidad de 2 cm, sin embargo, pueden aparecer a profundidades mayores.

Pupa

En esta etapa el organismo utiliza las reservas acumuladas durante la fase larvaria, la pupa es obtecta; recién formada es de color blanco brillante y después del tercer día se vuelve de color dorado brillante (Marín-Cruz et al. 2017a) (Figura 2).

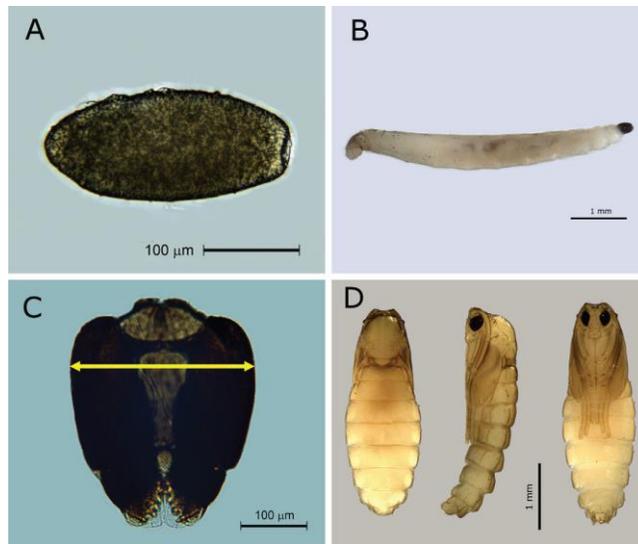


Figura 2. Estados inmaduros de *Bradysia difformis*.

A) Huevo, vista lateral, B) Larva, vista lateral, C) Cápsula cefálica de larva de último estadio, vista dorsal y D) Pupa, vista dorsal, lateral y ventral.

Fuente: Villanueva-Sánchez (2013).

Ciclo biológico

De acuerdo a lo citado por diversos autores, la duración del ciclo se encuentra estrechamente relacionado a las condiciones de humedad relativa y temperatura. Marín-Cruz et al. (2017a) menciona un promedio de 30 días, Mansilla et al. (2001) menciona que a temperatura de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ y $70\pm 1\%$ se completa un ciclo de 3-4 semanas, Villanueva-Sánchez et al. (2013) reporta para *Bradysia difformis* un lapso de 26-28 días a 25°C y 70% de HR (Figura 3).

Marín et al. (2016), señala tres características que favorecen la resistencia de poblaciones de mosco fungoso a los insecticidas organosintéticos: 1) Ciclo de vida corto (más de diez generaciones por año); 2) Especie muy prolífica, y 3) Traslape de poblaciones y estados (durante todo el año), aunado a lo anterior, se hacen aplicaciones frecuentes de insecticidas en periodos cortos (cada 30 días), por lo cual crea resistencia a los insecticidas químicos. Este último punto se debe tener en consideración para el manejo del mosco fungoso, como lo menciona Cloyd y Anderson (2013) esta resistencia se presenta a nivel de la población y es de carácter hereditario, por lo que cualquier insecto sobreviviente puede pasar estos rasgos a su progenie.



Figura 3. Ciclo de vida de *B. impatiens*.

Fuente: Marín-Cruz (2019b)

2.1.2 Daños y relaciones con hongos patógenos

Aunque los moscos fungosos son principalmente micófagos, también se les ha descrito como herbívoros oportunistas, lo que los convierte en importantes plagas de las plantas (Katumanyane et al. 2018). Las larvas consumen la rizodermis, después perforan la exodermis, y se alimentan de todo el tejido de la raíz, la cual queda ahuecada como un tubo. Las plántulas, al no tener una apropiada comunicación con la raíz, presentan síntomas de daños en la parte aérea que se manifiestan como marchitez, cambio de color, escaso crecimiento, pérdida de acículas y vigor (Springer 1995; Pundt, 1999; Marín-Cruz, 2017a).

Los síntomas pueden ser confundidos con alguna enfermedad causada por hongos, por ejemplo, *Fusarium circinatum*. Además, las larvas y adultos de mosco fungoso pueden facilitar la infección de plántulas al llevar sobre su cuerpo esporas de hongos patógenos como *Pythium*, *Fusarium*, *Botrytis* y *Verticillium*, entre otros (Jarvis et al. 1993; Marín-Cruz et al. 2017a).

2.1.3 Técnicas de monitoreo

La aplicación de técnicas que nos permitan establecer la presencia de poblaciones de mosco fungoso, así como la cantidad de la población, es de relevancia, a fin de adoptar tácticas de control planificadas. Para el monitoreo de larvas de mosco fungoso Harris et al. (1995) proponen el uso de discos de papa y zanahoria lo cual consiste en enterrar las rodajas para atraer a las larvas y retirarlas una vez por semana (García, 2008; Landis et al. 1989; Pundt, 1999).

Para monitorear los mosquitos adultos Bealmear (2010) recomienda utilizar trampas adhesivas amarillas, las cuales además permiten capturar adultos para evitar que pongan huevos. Como lo mencionan Katumanyane et al. (2018), estos dípteros son voladores débiles por lo cual se requiere la colocación de trampas pegajosas cerca de la superficie del medio de crecimiento.

2.1.4 Distribución e importancia

La distribución de *Bradysia* es amplia, se encuentra presente en todos los continentes en afectaciones a ornamentales, producción de cultivos hortícolas y en especies forestales. Marín-Cruz (2019b), menciona que *B. impatiens* ha sido diseminada por el hombre con el movimiento de plantas. Para el caso específico de producción forestal, *Bradysia* es reportado en Italia causando daños en viveros de *Eucalyptus* (Mansilla et al. 2001). En Sudáfrica *Bradysia* ataca las raíces de plántulas de pino en algunos viveros (Hurley et al. 2007; Katumanyane et al 2018).

Marín *et al.*, (2015b) menciona que, para el vivero forestal de Temamatla, Estado de México, la población de mosco fungoso negro, causó pérdidas de plántulas de *Pinus montezumae*, de hasta el 30% reconociéndola como plaga de primer orden.

2.1.5 Tácticas de combate

El manejo básicamente es de cuatro tipos; el cultural, que se encuentra encaminado a las condiciones de higiene y de infraestructura en el vivero; el físico que se basa en la colocación de trampas; el químico que considera el uso de insecticidas y el biológico, este último en aumento. A continuación, se enlistan estas tácticas, las cuales son un compendio de Cibrián et al. (2008) y Marín-Cruz (2019b).

Control cultural. En el control del mosco fungoso en invernaderos y viveros, la sanidad e higiene juegan un papel primordial. Las acciones que se realizan son: remoción de malezas, desinfección del sustrato, camas del vivero y de tubetes o charolas utilizadas en cada ciclo. Se recomienda una buena nivelación del terreno, con la finalidad de evitar encharcamientos.

En caso de usar compostas, se debe verificar que este bien procesada y libre del mosco fungoso. Se debe revisar el 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) y verificar la adecuada altura de las camas del vivero para evitar microclimas que proporcionen sombra y humedad (Cibrián et al. (2008); Marín-Cruz (2019b).

Control físico. El control de los adultos mediante este método consiste en colocar trampas pegajosas ya sean de color amarillo 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 (Cibrián et al. 2008; Marín-Cruz 2019b).

Control químico. El control del mosco fungoso negro en infestaciones severas se realiza con insecticidas químicos. Mansilla et al. (2001) obtuvo resultados satisfactorios utilizando Flufenoxuron, diflebenzuron, azadiractina y deltrametrina. Marín-Cruz et al. (2015a) reportan que los insecticidas oxamil, espirotetramat, imidacloprid, y clorpirifos, son efectivos para el control de las larvas de la mosca fungosa negra.

Control biológico. Es el uso de un organismo para reducir la densidad de población de otro organismo (Van Lenteren 2012). Esta táctica es eficaz, sin embargo, Katumanyane et al. (2018) sugiere combinar el control biológico con tácticas de saneamiento cultural, físico y químico.

Katumanyane et al. (2018); Cloyd y Dickinson (2006); Landis et al. (1989); Mansilla et al. (2001); Pundt (1999); White (1999) proponen la utilización de esta táctica mediante la aplicación de organismos vivos, como agentes de control mencionan a ácaros depredadores, *Bacillus thuringiensis* subespecie *israelensis*, *Steinernema feltiae*, y *S. carpocapsae*.

Dentro del control biológico se encuentra el control microbiano; los cuales son organismos causantes de enfermedades, se denominan entomopatógenos e incluyen bacterias, hongos, rickettsias, protozoarios, nematodos y virus. Desde un punto de vista sustentable, dichos organismos representan una táctica con alto potencial, sobre todo por las bondades ecológicas que ofrecen.

En viveros el control microbiano ha resultado efectivo en larvas. Entre sus ventajas se encuentra que son de fácil aplicación y acceso (se consiguen comercialmente), además, se debe considerar el potencial de organismos entomopatógenos nativos, los cuales presentan una mayor adaptabilidad, no obstante, su principal desventaja es el proceso que conlleva su aislamiento y estudio.

Para esta investigación, se estudió la efectividad en el control de larvas de mosco fungoso que tuvieron los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, y el nematodo *Steinernema feltiae*.

2.1.6 Hongos entomopatógenos (HEP)

Clasificación taxonómica

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de los hongos entomopatógenos.

Reino:	Fungí
División:	Ascomycota
Clase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales
Familia:	Clavicipitaceae
Géneros principales:	<i>Beauveria</i> <i>Isaria</i> <i>Metarhizium</i>
Especies de importancia	<i>B. bassiana</i> (Bals.) Vuillemin <i>B. pseudobassiana</i> S.A. Rehner & Humber <i>I. fumosorosea</i> Wize <i>M. anisopliae</i> (Metschn.) Sorokin <i>M. brunneum</i> (Petch) <i>M. guizhouense</i> Q.T. Chen & H.L. Guo

Los patógenos más utilizados y producidos son los hongos *Metarhizium spp* y *Beauveria bassiana*. El potencial de estos hongos se basa en su capacidad infectiva, además producen numerosos metabolitos secundarios que pueden utilizarse como agentes de control. Sin embargo, a pesar de su enorme potencial en los procesos de biocontrol, el uso de HEP se ha subestimado debido al desconocimiento de sus capacidades (Litwin et al. 2020).

Consideraciones en el uso de hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son organismos heterogéneos que desempeñan diversas funciones ecológicas. Por ejemplo, las especies del género *Metarhizium* y *Beauveria*, que se encuentran comúnmente en el suelo, no solo controlan las poblaciones naturales, sino que también forman relaciones complejas con las plantas. Se describen como endófitos de raíces, tallos y hojas de plantas (Litwin et al. 2020).

Cañedo y Ames, (2004), enlistan las principales ventajas:

1. Presentan grados variables de especificidad, pueden ser específicos a nivel de familia o especies muy relacionadas.
2. Si el entomopatógeno encuentra las condiciones adecuadas para introducirse y colonizar un ecosistema, se reproduce y renueva en forma continua, es decir, se vuelve persistente, haciendo innecesarias nuevas aplicaciones.
3. Se pueden aplicar mezclas de hongos entomopatógenos con dosis subletales de insecticidas para lograr efectos sinérgicos superiores a los logrados con aplicaciones de cada producto por separado.
4. No contaminan el medio ambiente ni afectan al hombre u otros animales superiores.
5. Cuando el hongo no llega a causar la muerte directamente, se presentan efectos secundarios que alteran el normal desarrollo del ciclo de vida del insecto. Estos se denominan insectistáticos (Marín-Cruz et al., 2017b).

De la misma manera, se deben considerar las siguientes desventajas de hongos entomopatógenos, Cañedo y Ames, (2004):

1. Sensibilidad a la variación de las condiciones climáticas como temperaturas extremas, desecación y luz ultravioleta. Estas limitantes están siendo contrarrestadas mediante el uso de aditivos (protectores solares, aceites, antidesecantes).
2. Requieren de condiciones de almacenamiento más exigentes que las moléculas inorgánicas, para evitar que pierdan su patogenicidad.
3. En general, los insecticidas biológicos no matan instantáneamente. Alcanzan buenos niveles de control entre una y tres semanas después de la aplicación, dependiendo de la plaga y del ambiente. Sin embargo, el insecto deja de ser plaga al ser parasitado por el hongo, deja de alimentarse mucho antes de morir, disminuyendo el daño.

Importancia y antecedentes en su aplicación

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* tiene alto potencial de afectar a un amplio rango de insectos, especialmente Orthoptera, Coleoptera y Lepidoptera. aunque diferentes cepas expresan virulencia específica a taxones particulares (Zimmermann, 1993).

Como ya se mencionó, otro aspecto potencial de los HEP son sus metabolitos, Marín et al. (2018) reportaron en condiciones de invernadero con plántulas de *P. montezumae* producidas en tubetes que los metabolitos y conidios de *B. bassiana* ofrecen una protección de entre el 97-100% durante dos meses.

Generalidades de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin

Beauveria bassiana es un habitante natural del suelo y un parásito obligado de varias especies de insectos (Zimmermann, 2007).

Las características morfológicas más importantes de *B. bassiana* es la siguiente, Cañedo y Ames (2004)

Colonia: la colonia en PDA a los 14 días es algodonosa a polvorienta, blanca. A medida que va pasando el tiempo se vuelve amarillenta, cremosa. El revés es de color rojizo al centro y amarillento alrededor.

Conidióforos: de 1-2 μ de diámetro donde nacen células conidiógenas en grupos grandes.

Células conidiógenas (c.cs.): están agrupadas formando grupos compactos grandes y a veces solitarias, en forma de botellitas de 3 a 6 x 3 a 5 μ . En ciertos casos, las c.cs. se ramifican formando c.cs secundarias. Al final de las c.cs se forma un raquis que sostiene las conidias.

Raquis: hasta de 20 μ de longitud y 1 μ de diámetro, denticulado, que sostiene una conidia en cada dentícula.

Conidias: hialinas, globosas a subglobosas, de 2 a 3 x 2 a 2.3 μ . que se insertan sucesivamente en el raquis en forma opuesta.



Figura 4 *Bacillus thuringiensis*

Fuente: Cruz-Cruz (2020).

Generalidades de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin

Cañedo y Armes (2004) realizan la siguiente descripción:

Colonia: pegada al medio, completamente redonda, de colores oliváceo, amarillento, verdoso, marrón oscuro, dependiendo del aislamiento. Revés incoloro a marrón, a veces verdoso citrino.

Conidióforo: nace del micelio y es irregularmente ramificado con dos a tres ramas en cada septa. De 4 a 14 μ de longitud x 1.5 a 2.5 de diámetro.

Fiálides: cilíndricos en forma de clava, adelgazados en el ápice. Miden 6 a 13 μ de longitud y 2 a 4 μ de diámetro.

Conidias: unicelulares, cilíndricas y truncadas, formadas en cadenas muy largas, hialinas a verde oliváceo. Miden 3.5 a 9 μ de longitud x 1.5 a 3.5 μ de diámetro.



Figura 5. *Metarhizium anisopliae*

Fuente: Vázquez Chacón (2020)

Mecanismo de infección de los hongos entomopatógenos.

La enfermedad producida por hongos se denomina micosis Cañedo y Ames (2004). A continuación, se describe el proceso infeccioso (Samson, et al, 1988; Tanada y Kaya 1993; Cañedo y Ames 2004; Butt et al., 2016; Litwin et al., 2020).

El proceso inicial es el de **adhesión**, inicia cuando una espora, fragmento o cualquier estructura del hongo con la capacidad para desarrollar una colonia se adhiere a un huésped. Los hongos, además, pueden infectar a los insectos a través de las aberturas corporales como son cavidad bucal, espiráculos y otras aberturas externas. El hongo puede producir una estructura llamada apresorio, la cual ayuda a la adhesión de la espora.

Si existen condiciones apropiadas de humedad y temperatura ambiental habrá **germinación** (La temperatura óptima para el crecimiento y germinación de HEP se encuentra entre 20 y 30° C y valores de humedad relativa superiores a 90%). La espora que germina en el insecto forma un tubo germinativo el cual funciona como una hifa de penetración de la cutícula. A su vez, el hongo genera enzimas que degradan la cutícula; quitinasas, proteasas y lipasas. El éxito de la germinación y penetración no dependen necesariamente del porcentaje de germinación sino del tiempo de duración de la germinación, modo de germinación, agresividad del hongo, tipo de espora y susceptibilidad del hospedante.

La **penetración** dentro del hemocele por parte de la hifa es el resultado de la degradación enzimática de la cutícula y la presión mecánica ejercida por el tubo germinativo. Además, depende de las propiedades de la cutícula, grosor, esclerotización, presencia de sustancias nutricionales y antifungosas y estado de desarrollo del insecto. La digestión del integumento se produce mediante las enzimas (proteasas, aminopeptidasas, lipasas, estererasas y quitinasas). Cuando la hifa ha llegado al hemocele, se pueden producir diferentes reacciones de defensa del insecto frente a un cuerpo extraño.

Finalmente se logra el **desarrollo del hongo** que resulta en la muerte del insecto: luego de que llegue al hemocele, el hongo puede evitar la defensa inmune del insecto produciendo células parecidas a levaduras, llamadas blastosporas, que se multiplican y dispersan rápidamente, desarrollando protoplastos, elementos discretos que no son reconocidos por los hemocitos del hospedante.

Las toxinas producidas juegan un rol muy importante en el modo de acción de los hongos entomopatógenos. La muerte del insecto se produce con mayor rapidez cuando es afectado por un hongo entomopatógeno que produce cantidades considerables de toxinas, ya que se adiciona la toxemia a la destrucción de los tejidos y a las deficiencias nutricionales. Con el desarrollo del hongo en el hemocele, se producen los síntomas fisiológicos del insecto afectado como convulsiones, carencia de coordinación y comportamientos alterados (deja de alimentarse, reduce su movimiento), entra en un estado letárgico y finalmente muere, lo que puede ocurrir relativamente rápido o en unos cuantos días.

Con la muerte del insecto termina el desarrollo parasítico del hongo y empieza la fase saprofítica: el hongo crece en el hemocele formando masas miceliales que salen al exterior fundamentalmente por las regiones intersegmentales (esporulando sobre el cadáver y produciendo inóculo para infectar a otros insectos) y por las aberturas naturales (espiráculos, boca y ano).

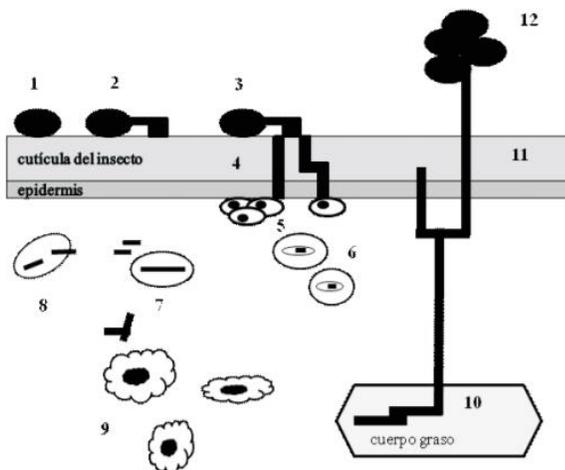


Figura 6. Esquema del desarrollo de un hongo entomopatógeno

1. Adhesión de la espora a la cutícula del insecto, 2. Germinación y formación del apresorio, 3. Penetración de la cutícula, 4. Crecimiento lateral y penetración en la epidermis, 5. Agregación de los hemocitos en el lugar de penetración fúngica, 6. Fagocitosis de cuerpos hifales por células fagocitas del insecto, 7. Transformación a cuerpos levaduriformes, 8. Evasión del sistema inmune, 9. Propagación en el hemocele, 10. Transformación a cuerpo hifal, 11. Esporulación y germinación atravesando la cutícula del insecto, 12. Diseminación de las esporas.

Fuente: Téllez-Jurado (2009).

2.1.7 Bacterias entomopatógenas

Las enfermedades infecciosas causadas por bacterias son llamadas bacteriosis. En general, las bacterias entomopatógenas causan algún tipo de septicemia al invadir al hemocele, con una consecuente reproducción y daño de la homeostasis del individuo infectado. La distribución de las bacterias es cosmopolita. El número de bacterias que causan enfermedades infecciosas letales a los insectos es relativamente bajo, si lo comparamos con otros microorganismos, como los hongos (Ibarra y Del Rincón, 2020).

Dentro de este grupo, se tiene unos de los casos más exitosos y estudiados; *Bacillus thuringiensis* (Bt) el cual pertenece a la familia Bacillaceae, es una bacteria gram positiva de origen natural que se encuentra en los suelos. Contiene esporas que producen toxinas que atacan específicamente y sólo afectan a las larvas de mosquito, mosca negra y mosquito de los hongos.

Importancia y antecedentes en su aplicación

Bacillus thuringiensis var. *israelensis* Berliner (Bti), se ha desarrollado rápidamente como bioplaguicida para el control de varios dípteros vectores de enfermedades en humanos. Diversos autores mencionan que Bti es efectivo para el control de larvas mosco fungoso negro en invernaderos y en cultivos de champiñones. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) registró cinco cepas diferentes de Bti que se encuentran en 48 productos de plaguicidas actualmente aprobados para uso en entornos residenciales, comerciales y agrícolas, principalmente para el control de larvas de mosquito. Mas del 90 % del mercado de bioinsecticidas lo cubren productos a base de alguna raza de esta bacteria (Glare y O' Callaghan, 2000).

Generalidades de *Bacillus thuringiensis* Berliner

Bacillus thuringiensis es una bacteria aerobia y Gram positiva, La principal característica de Bt es que durante el proceso de esporulación produce una inclusión paraesporal formada por uno o más cuerpos cristalinos de naturaleza proteica con propiedades insecticidas, estas proteínas se llaman Cry (del inglés cristal) o δ -endotoxinas (Ibarra y Del Rincón, 2020).

Ciclo biológico

Se divide en dos fases: crecimiento vegetativo y esporulación. Durante la fase de crecimiento vegetativo las células de Bt se dividen activamente por fisión binaria y se obtienen dos células idénticas con forma de barra con extremos romos de aproximadamente 3 μm de largo y 1.2 μm de ancho.

Después, con el agotamiento de los nutrientes, comienza la fase de esporulación durante la cual se forman esporas e inclusiones parasporales de naturaleza proteica conocidas también como cristales parasporales o simplemente cristales.

Estos cristales pueden poseer diferentes morfologías: la más común es la bipiramidal, pero existen cristales cúbicos, esféricos y amorfos que son algunas de las más comunes y poseen actividad toxica hacia insectos de diferentes órdenes. (Ibarra y Del Rincón 2020). Los cristales de Bt pueden estar constituidos por dos tipos de proteínas: Cry y Cyt (Sauka y Benintende 2008).



Figura 7. Vista microscópica de *Bacillus thuringiensis*

Modo de acción

El mecanismo de acción de las proteínas Cry ha sido ampliamente estudiado en larvas de lepidópteros, y de manera general se acepta que estas son proteínas formadoras de poros en las membranas de las células epiteliales del intestino de los insectos susceptibles. El primer modelo que explica el efecto tóxico de las proteínas Cry, plantea que las mismas ejercen su actividad tóxica al interactuar físicamente con receptores que se encuentran en las células epiteliales del intestino de las larvas.

La unión de la proteína al receptor permite que estas se inserten en la membrana de las células epiteliales, abran un poro iónico y provoquen un desequilibrio osmótico que afecta la funcionalidad de la célula y finalmente estallen. Las células mueren y en consecuencia se pierde la integridad de la pared intestinal. Los primeros síntomas que se observan a partir de que las larvas de insectos susceptibles ingieren los cristales y esporas de Bt, son el cese de la ingesta, la parálisis del intestino y finalmente la muerte (Knowles y Ellar, 1987).

2.1.8 Nematodos entomopatógenos (NEP)

Los nematodos entomopatógenos (NEP) son parásitos obligados o a veces facultativos de insectos. Viven en el suelo y mediante estímulos químicos ubican a su huésped.

Los nematodos utilizados para el control biológico de insectos, la familia Steinernematidae y Heterorhabditidae, son las más estudiadas. Se han descrito aspectos de su biología, efectividad como agentes de control biológico, genética, biotecnología, técnicas y seguridad (Kaya, 1993).

Consideraciones en el uso de NEP

La selección de determinada especie de NEP para el control de una plaga de insectos en particular, se basa en varios factores, incluido el rango de hospedadores del nematodo, su estrategia de búsqueda de hospedadores, su tolerancia a los factores ambientales y sus efectos sobre la supervivencia y la eficacia Katumanyane et al. (2018). Cloyd (2015) menciona que la efectividad de estos nematodos depende directamente de diversos factores como; rango de aplicación, tiempo de aplicación, planta hospedante y específicamente la especie de nematodo utilizada.

Dentro de los factores ambientales la eficacia de los NEP está influenciada por factores bióticos y factores abióticos, que incluyen especialmente la radiación ultravioleta, la humedad relativa y las fluctuaciones de temperatura.

Los resultados que se obtienen con el uso de NEP también pueden ser insatisfactorios debido a una manipulación, transporte y almacenamiento inadecuados (Shapiro-Ilan et al. 2010). Específicamente Katumanyane et al. (2018) señala que, en la aplicación de campo, algunos factores que influyen son: el tipo de cultivo y sustrato, la concentración de nematodos y el método de aplicación además se ha determinado que la textura del suelo afecta la eficacia de los NEP. Para Kaya et al. (1993) los cuatro factores más críticos son la humedad, la temperatura, la patogenicidad del insecto objetivo y la estrategia de alimentación.

Una de las características mencionadas, es que son compatibles con el MIP, Katumanyane et al. (2018), expone que los NEP se pueden aplicar junto con productos químicos. plaguicidas cal, enmiendas del suelo y fertilizantes. Además, también se ha reportado su compatibilidad con otros agentes de biocontrol.

Importancia y antecedentes en su aplicación

La tendencia de utilizar nematodos entomopatógenos (NEP) va en aumento, en aras de la ecología y economía de productos. Diversos autores exponen que estos nematodos, pueden ser aplicados en gran escala y se pueden integrar con otras tácticas en un programa de MIP para el control de plagas de insectos en la agricultura horticultura y silvicultura. Se consideran relativamente específicos para sus plagas objetivo, presentan gran habilidad para localizar a su hospedero, pueden ser cultivados *in vitro*, son seguros para animales, plantas y humanos y su aplicación es con equipo convencional.

Existen antecedentes de ensayos exitosos de diversos Steinermatidos, Mafla (2006), evaluó el efecto de *Steinernema sp*, sobre larvas de *Ancognatha scarabeoides*, en laboratorio e invernadero, esta plaga es de importancia en cultivos de papa y trigo en Colombia. El resultado fue que las larvas presentaron mortalidad del 100% con la concentración de 150 nematodos por ml a los 18 días de montada la prueba en condiciones de laboratorio, para la fase de invernadero se obtuvo un porcentaje de mortalidad de larvas del 79.3% con concentración de 87 nematodos/ml, lo cual se encuentra relacionado a condiciones ambientales que afectan el desarrollo de los nematodos, como lo son la temperatura y la radiación solar.

Los nematodos entomopatógenos, son útiles contra plagas que habitan en el suelo o en hábitats crípticos, de tal manera Del Pino (2016) analiza la efectividad de aplicación de estos como control biológico, y resalta la capacidad de los NEP para buscar y matar insectos en hábitats donde los insecticidas químicos fallan.

Gouge & Hague (1995b), señala que *S. feltiae* es más eficiente para controlar poblaciones de sciaridos, y *S. carpocapsae* mostro una menor capacidad de infección en el control de algunas especies de dípteros, esto se puede deber a que *S. carpocapsae* tiende a permanecer cerca de la superficie del suelo y no se desplaza lejos (Poinar, 1990), es decir la estrategia es tipo emboscadora, espera e infecta (Kaya, 1990).

Mansilla & Pastoriza (2001) determinaron 90% de control de larvas de *B. paupera*. Harris et al. (1995) no encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos que utilizan *S. feltiae* en comparación con los tratamientos que utilizan el insecticida químico diazinón, por lo cual sugiere que *S. feltiae* podría resultar una alternativa biorracional a la convencional. Katumanyane et al. (2018) describe la presencia de *Bradysia impatiens* en viveros de pinos forestales de Sudáfrica, y menciona que el control se ha logrado principalmente mediante el uso de insecticidas químicos, pero también, en gran medida, el uso de agentes de control biológico como los nematodos entomopatógenos.

Katumanyane et al. (2019). Realizo un estudio del uso potencial de nematodos entomopatógenos para el control de *B. impatiens*, bajo condiciones de laboratorio a diferentes temperaturas, en el sur de África, y concluye que los NEPs, tienen alto potencial para el control.

Generalidades de *Steinernema feltiae*

Steinernema feltiae (Filipjev, 1947)., son gusanos redondos no segmentados de cuerpo suave. Pertenecen a la familia Steinernematidae, y del orden Rhabditida. La principal característica es la asociación con bacterias del género *Xenorhabdus*. *S. feltiae* infecta alrededor de 100 especies de 11 órdenes de insectos (Sáenz y Luque, 2000).

La infectividad del nematodo se encuentra estrechamente relacionada con el estadio larval del hospedero, siendo optimo en el de larva, además el contenido de humedad es importante.

Finalmente, la temperatura es el mayor factor que puede influenciar el control de larvas del mosco fungoso, el ciclo de vida del entomopatógeno no se completa a altas temperaturas (30° a 37°C). Para presentar al menos dos generaciones, la temperatura óptima se encuentra entre 20° y 24°C (Sáenz y Luque 2000). Alatorre-Rosas (2020) menciona un rango de 8°-30°C para infectar y de 10° a 35°C para reproducirse. *Steinernema feltiae* presenta una estrategia de búsqueda intermedia Alatorre-Rosas (2020).



Figura 8. Juvenil infectivo (JI) de *Steinernema feltiae*

Fuente: Laznik (2008)

Asociación mutualista con su bacteria

Diversos estudios atribuyen el éxito de *S. feltiae*, a la asociación mutualista con la bacteria *Xenorhabdus*, la cual se encuentra en sus intestinos (Kaya et al. 1993; Kaya & Koppenhöfer 2004). La bacteria en cuestión tiene la capacidad de matar a su huésped insecto, por lo cual se puede deducir que el verdadero patógeno del insecto es la bacteria. La bacteria *Xenorhabdus* mata al insecto por septicemia (es decir, infección bacteriana de la hemolinfa), lo que facilita la degradación de los tejidos relacionados, de modo que el nematodo, junto con su descendencia, pueda alimentarse del cadáver.

Las bacterias letales ayudan a establecer las condiciones adecuadas para el crecimiento y la reproducción del nematodo, así como a inhibir una mayor colonización del cadáver por otros microorganismos o, en algunos casos, por otros nematodos de la misma y/o una especie diferente (Hazir et al. 2004). La asociación nematodo-bacteria es lo que permite la efectividad de los NEP (Shapiro-Ilan et al. 2010).

Ciclo biológico

El ciclo consiste en un estado de huevo, cuatro estadios juveniles (separados por mudas y denominados J1 a J4), y un estado adulto, en el cual se diferencia macho y hembra. Se inicia con el estado de vida libre o juvenil infectivo (JI). Muchos nematodos presentan una fase temporal llamada “juvenil dauer” en respuesta a varios tipos de estrés ambiental o nutricional (Sáenz y Luque, 2000; Alatorre-Rosas 2020) (Figura 9)

En condiciones ideales los juveniles infectivos, salen del cadáver de 7 a 15 días después de la infección, después de lo cual comienzan a buscar nuevos huéspedes (Kaya et al. 1993; Sáenz y Luque, 2000)

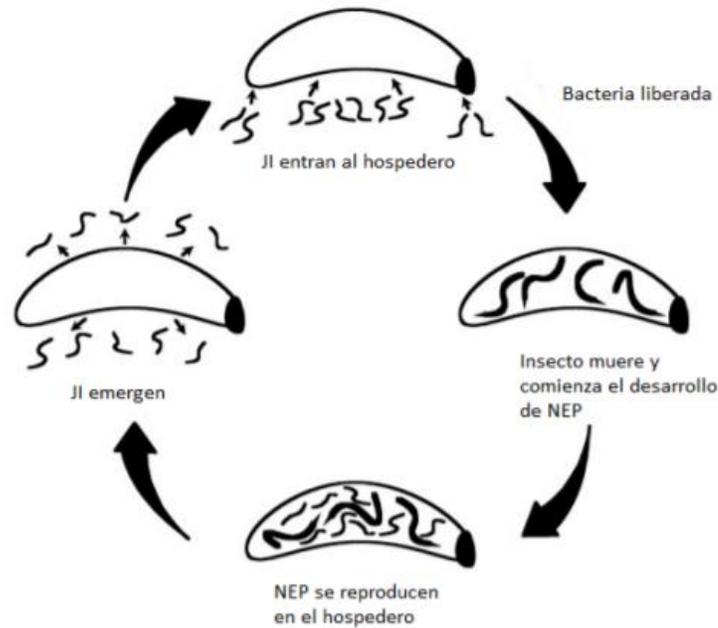


Figura 9. Ciclo biológico del nematodo *Steinernema feltiae*.

Fuente: Shapiro-Ilan et al. (2010)

Modo de acción

El estado infectivo de estos nematodos presenta atributos tanto de parásito como de patógeno de insectos (Alatorre-Rosas, 2020). Como parásitos tienen quimiorreceptores y son capaces de moverse, por lo que tienen habilidad para buscar a su huésped; como patógenos, los nematodos llevan la bacteria en su intestino y la liberan dentro del huésped, asociación que los hace más virulentos (Kaya y Gaugler, 1993 citado por Alatorre-Rosas, 2020).

El juvenil infectivo (JI), penetra al cuerpo del insecto huésped por aberturas naturales (boca, ano y espiráculos), los juveniles infectivos penetran el homocelo a través de la pared del intestino medio o tráqueas, posteriormente el insecto es inoculado por la bacteria asociada del género *Xenorhabdus*, la bacteria prolifera, causa la muerte del insecto por septicemia en 24-72 horas y establece condiciones favorables para la reproducción del nematodo. La literatura menciona que los nematodos se alimentan, se desarrollan y se reproducen dentro del cadáver del insecto. Los JI se alimentan de las células bacterianas y los tejidos del huésped en descomposición.

2.2 Marco metodológico

2.2.1 Metodología para la obtención de cría de *Bradysia impatiens*

En septiembre de 2019, se estableció una cría en el insectario de la División de Ciencias Forestales (DICIFO), la cual procedía de viveros forestales ubicados en varios estados de la república y los cuales tenían presencia de poblaciones de este insecto. De septiembre a diciembre del 2020, se aumentó la cría con adultos y larvas de planta infectada con mosco fungoso, ubicada en los invernaderos del insectario de la DICIFO. Esta cría fue la fuente del material que se utilizó en los ensayos.

La metodología utilizada para la obtención de la cría de mosco fungoso fue la de Marín et al. (2015); la cual consiste en utilizar recipientes de plástico con capacidad de medio litro, con una tapa en la cual se realiza un orificio para introducir los adultos y permitir ventilación, el orificio quedó cubierto con una gasa y algodón. El sustrato utilizado fue de dos tipos; caña molida y la mezcla que más se utiliza en viveros forestales (60 % peat moss, 20% de vermiculita y 20 % de agrolita), en ambos casos el sustrato estuvo saturado de agua. Como fuente de alimento se adicionaron rodajas de papa. Finalmente se colocaron 10 adultos (hembras y machos), este método de cría proporciona muchas ventajas ya que se puede tener disponibilidad de larvas, optimizando recursos. La cría se mantuvo a temperatura ambiente (25°C), fotoperiodo 12:12 (Figura 10). Cada cuatro días se revisaba que existiera humedad y en caso necesario se adicionaba de 2-3 ml de agua purificada. Además, debido a que las poblaciones tienden a perder su variabilidad genética, se intercambiaban mosquitos de los diferentes frascos.



Figura 10. Procedimiento para establecer una cría de mosco fungoso

2.2.2 Metodología para bioensayo

Se estableció un diseño simple aleatorio con seis tratamientos; cuatro microorganismos. Un testigo positivo y uno negativo, provenientes de cepas comerciales. En total se establecieron tres repeticiones por tratamiento. Cada repetición contenía diez larvas, dando un total de 30 larvas por tratamiento.

Previo a establecer el experimento, de la cría de mosco fungoso, se colectaron larvas de 2 y 3° instar mediante un pincel, para evitar dañarlas, las larvas se sumergieron en agua destilada para eliminar residuos que pudieran tener del frasco original de cría.

Cada repetición consto de: 10 larvas; la dosis comercial respectiva de cada tratamiento (Cuadro 1); sustrato con base en mezcla común utilizada en viveros forestales (60 % peat moss, 20% de vermiculita y 20 % de agrolita) cernido finamente (las partículas median menos de 1mm) y con un espesor de 0.2mm, este proceso permite visualizar y facilitar el conteo de los individuos; las larvas se alimentaron con papa molida esterilizada. Todo lo anterior se estableció en cajas Petri estériles desechables con medida de 60 x 15 mm. Se realizaron 3 replicaciones cada cuatro días. Las lecturas fueron cada 24 horas durante un periodo de 20 días, periodo en el cual las larvas murieron o emergieron. Diariamente se contabilizaban larvas vivas y muertas, así como emergencia de adultos, además se monitoreaba: el estado de la larva, presencia de alteraciones en el comportamiento; cuando había individuos muertos, se observaba si la causa de muerte se debía al tratamiento aplicado. Como lo cita la literatura la emergencia de adulto se reportó desde el décimo día, en estos casos se extrajeron los adultos para que no hubiera reproducción entre ellos.

Cuadro 2 Características de los tratamientos evaluados para el control de *Bradysia impatiens* en viveros forestales.

Trat.	Nombre comercial	Entomopatógeno	Presentación	% de ingrediente activo	Dosis Recomendada
1	<i>Beauveria-bassiana</i> ®	<i>Beauveria bassiana</i>	Líquido	<i>B. bassiana</i> 1x10 ¹² Esporas/litro	1x10 ¹² / ha
2	Metarhizium - Anisopliae Green®	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Líquido	<i>M. anisopliae</i> 1%. 1x10 ¹² Esporas/litro	1x10 ¹² / ha
3	Gnatrol®	<i>Bacillus thuringiensis var. israelensis</i>	Gránulos dispersables	<i>Bacillus thuringiensis</i> subespecie <i>israelensis</i> (Potencia 3000 unidades toxicas internacionales U.T.I./mg)	8-16 g/m ² de sustrato
4	Entonomem®	<i>Steinernema feltiae</i>	Gel	50 millones de nematodo por bolsa	500 000 nematodos/m ²
5	Testigo positivo. Engeo®	-	Líquido	Thiametoxam (141g de ia. /L a 20°C). Lambda cyalotrina (160 g de ia. /L a 20°C).	400 ml/ha
6	Testigo negativo. Agua destilada	-	-	-	-

2.2.3 Análisis estadístico

Por la naturaleza de los datos se ajustó un modelo mixto lineal generalizado (GLM) con distribución binomial y función de liga Logit a la proporción de muertos, para cada tratamiento. Para comprobar cuál fue el mejor tratamiento se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey- Kramer el cual compara las medias para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$). El análisis se realizó mediante el software SAS 9.4 ®.

2.3 LITERATURA CITADA

- Alatorre-Rosas, R. (2020). Nematodos parásitos de insectos. En: Arredondo B, H. C., Tamayo M, F., y Rodriguez del Bosque, L. A. (Eds). *Fundamento y practica del control biológico de plagas y enfermedades*. (271-309). Colegio de posgraduados. Montecillos, Texcoco, Estado de Mexico. Editorial del Colegio de Posgraduados.
- Bealmear, S. R. (2010). Fungus Gnat Integrated Pest Management. *Fact Sheet. University of University of Arizona Cooperative Extension, Publication AZ1531*. Disponible en: <http://cals.arizona.edu/pubs/insects/az1531.pdf>.
- Butt, T.M., Coates, C.J., Dubovskiy, I.M., y Ratcliffe, N.A. (2016). Entomopathogenic Fungi: New Insights into Host-Pathogen Interactions. *Advances in Genetics*, 94: 307-364. Doi: 10.1016/bs.adgen.2016.01.006.
- Cañedo, V. y Ames, T. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. *Centro internacional de la papa (CIP)*. 68. Lima, Perú.
- Castro-Torres, R. (2017). Ciclo biológico. En: Cibrián T. D. (Ed.). *Fundamentos de Entomología Forestal*. (pp: 48). Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México, México.
- Cibrián, T. D., García, D. S., y Don Juan, M. B. (2008). Manual de identificación y manejo de plagas y enfermedades en germoplasma y planta producida en viveros. Comisión Nacional Forestal. Guadalajara, Jal (pp: 132-141). México.
- Cloyd, A. & Anderson, T. (2013). Fungus gnats & insecticide resistance, en <http://ballpublishing.com/GrowerTalks/ViewArticle.aspx?articleid=19841>, consultado el 02/01/2021.
- Cloyd, R. (2015). Ecology of Fungus Gnats (*Bradysia* spp.) in Greenhouse Production Systems Associated with Disease-Interactions & Alternative Management Strategies. *Insects*, 6(2), 325–332. Doi: [10.3390/insects6020325](https://doi.org/10.3390/insects6020325).

- Cloyd, A. R. & Dickinson, A. (2006). Effect of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and neonicotinoid insecticides on the fungus gnat *Bradysia* sp. nr. *coprophyla* (Linter) (Diptera: Sciaridae). *Pest Management Science*, 62(2), 171-177.
- Castro-Torres, R. (2017). Ciclo biológico. En: Cibrián T. D. (Ed.). *Fundamentos de Entomología Forestal*. (48). Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México, México.
- Cruz-Cruz, D., Gómez-Ruiz, J., Barrera, J.F., Sánchez-Peña, S., & Mora, J.F. (2020). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* against Immature Stages of *Diaphorina citri* under Laboratory Conditions. *Southwestern Entomologist*, 45, 609 - 620.
- García-del Pino, F. (2006). Los Nematodos entomopatógenos agentes de control de plagas. En: Josep-Jacas, P. (Ed). *El control biológico de plagas y enfermedades*. Universitat Jaume.
- García, P. F. (2008). Fungus gnat. Insecto plaga en ornamentales. Desplegable informativo No. 31. INIFAP, Zacatepec, Morelos, México.
- Glare, T. R. & O'Callaghan, M. (2000). *Bacillus thuringiensis*: Biology, Ecology & Safety. ISBN: 978-0-471-49630-4. 368.
- Gouge, D. H. & Hague, N. G. M. (1995a). The development of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) in the sciarid fly *Bradysia paupera* (Diptera: Sciaridae). *Annals of Applied Biology* 126: 395-401.
- Gouge, D. H. & Hague, N.G.M. (1995b). The susceptibility of different species of sciarid flies to entomopathogenic nematodes. *Journal of Helminthology*, 69, 313-318. DOI: 10.1017/S0022149X00014887.

- Harris, M. A., Oetting, R. D., & Gardner, W. A. (1995). Use of entomopathogenic nematodes and a new monitoring technique for control of fungus gnats, *Bradysia coprophila* (Diptera: Sciaridae), in floriculture. In *Biological Control*, Vol. 5, Issue 3, 412–418. Doi: <https://doi.org/10.1006/bcon.1995.1049>.
- Hazir, S., Kaya, H., Stockand, P., & Keskün, N. (2004). Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil Pests. *Turkish Journal of Biology*, 27, 181-202.
- Hurley, B.P., Slippers, B.T.A., Coutinho, B.D., Wingfield, P., Govender & Wingfield, M.J. (2007). Molecular detection of fungi carried by *Bradysia difformis* (Sciaridae: Diptera) in South African forestry nurseries. *Southern Hemisphere Forestry Journal*, 69(2),103-109.
- Ibarra, J. E. y Reinoso, P. (2020). En: Arredondo B, H. C., Tamayo M. F. y Rodriguez del Bosque, L. A. (Eds). Fundamento y practica del control biológico de plagas y enfermedades. 311-329. Colegio de posgraduados. Montecillos, Texcoco, Estado de Mexico. Editorial del Colegio de Posgraduados.
- Jarvis, W. R., Shipp, J. L. y Gardiner, R. B. (1993). Transmission of *Pythium aphanidermatum* to greenhouse cucumber by the fungus gnat *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Annals of Applied Biology*, Vol. 122, Issue 1, 23-29). Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1993.tb04010.x>
- Katumannane, A., Ferreira, T. & Malan, A. P. (2018). A Review of *Bradysia* spp. (Diptera: Sciaridae) as Pests in Nursery and Glasshouse Crops, With Special Reference to Biological Control Using Entomopathogenic Nematodes. *African Entomology*, 26(1), 1-13.
- Katumannane, A., Malan, A. P., Tiedt, L. R., & Hurley BP. (2019) *Steinernema bertusi* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from South Africa. *Nematol*, 22 (13), 343-360. <https://doi.org/10.1163/15685411-00003309>

- Kaya, H. K. (1990). Soil ecology. *In*: Gaugler, R. & Kaya, H. K. (eds). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton, FL, 93–116.
- Kaya, H. & Gaugler, R. (1993). Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*. 38, 181-206. 10.1146/annurev.en.38.010193.001145.
- Kaya, H., Bedding, A.R. & Akhurst, J.R. (1993). An overview of insect-parasitic and entomopathogenic nematodes. *In*: Bedding, A.R., Akhurst, J.R. & Kaya, K.H. (Eds) *Nematodes and the Biological Control of Insect Pests*. 1–15. CSIRO Publications, Melbourne, Australia.
- Kaya, K.H. & Koppenhöfer, M.A. (2004). Biological control of insects and other invertebrates with nematodes. *In*: Chen, Z.X., Chen, S.Y. & Dickson, D.W. (Eds) *Nematology – Advances and Perspectives*. 1083– 1132. CABI Publishing, Wallingford, U.K.
- Knowles, B.H. & Ellar, D.J. (1987). *Biochim. Biophys. Acta* 924, 509-518.
- Landis, T.D. (1989). Disease and Pest Management *In*: Landis, T.D.: Tinus, R.W., McDonald, S. E., Barnett, J.P. *The Container Tree Nursery Manual*. Vol. 5. Agric. Handbk. 674. Washington, D.C. U.S. Department Of Agriculture, Forest Service: 1-99.
- Laznik, Ž., Toth, T., Lakatos, T., & Trdan, S. (2008). Entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) recorded for the first time in Slovenia. *Acta Agric. Slovenica* 91: 37-45.
- Litwin, A., Nowak, M., & Różalska, S. (2020). Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Reviews in environmental science and biotechnology*, 19, 23-42. Doi: [10.1007/s11157-020-09525-1](https://doi.org/10.1007/s11157-020-09525-1).

- Mafla-Any, M. L., Peña-Villamil, L. A. y Cultid, L. (2006). Efecto de *Steinernema* sp. sobre larvas de *Ancognatha scarabaeoides* (Coleoptera: Scarabaeidae) en condiciones de laboratorio e invernadero. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 7(1),66-69. ISSN: 0122-8706. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945020009>
- Mansilla, J. P., Pastoriza, M. I. y Pérez. R. (2001). Estudio sobre la biología y control de *Bradysia paupera* Tuomikoski (= *Bradysia difformis* Frey) (Diptera: Sciaridae). *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 27: 411-417.
- Marín-Cruz, V. H., Cibrián-Tovar, D., Méndez-Montiel, J. T., Pérez-Vera, O. A y Cadena-Meneses, J. A. (2015a). Control del mosco fungoso negro, *Lycoriella ingenua* (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae) en *Pinus montezumae* Lamb. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 6(27), 90-101. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322015000100008&lng=es&tlng=es.
- Marín-Cruz, V. H., Cibrián-Tovar, D., Méndez-Montiel, J. T., Pérez-Vera, O. A y Cadena-Meneses, J. A., Huerta, H., Rodríguez-Yam, G, & Cruz-Rodríguez, J. A. (2015b). Biología de *Lycoriella ingenua* y *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Madera y bosques*, 21(1), 113-128. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712015000100009&lng=es&tlng=es.
- Marin-Cruz, V. H., Rodríguez-Navarro, S., Barranco-Florido, J. E., & Cibrián-Tovar, D. (2016). Hongos entomopatogenos y sus metaboilitos, una alternativa sustentable para el control en viveros forestales y agricultura protegida: caso *Bradysia impatiens* (Johannsen). *Sociedades rurales, produccion y medio ambiente*. 15 (30), 112-134.
- Marín-Cruz, V. H., Huerta, H., Rodriguez N, S. (2017a). Familia Sciaridae. En: Cibrián T., D. (Ed.). *Fundamentos de Entomología Forestal*. 239-241. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México, México.

- Marín-Cruz, V. H., Rodríguez-Navarro, S., Barranco-Florido, J. E., y Cibrián-Tovar, D. (2017b). Insectistatic and insecticide activity of *Beauveria bassiana* in *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 23(3), 329-340. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2016.10.053>.
- Marin-Cruz, V. H., Rodríguez-Navarro, S., Barranco-Florido, J. E., Terron-Sierra, R., & Cibrián-Tovar. (2018) Metabolitos y Conidios de *Beauveria bassiana* Como Control de Mosco Negro fungoso , Bajo Condiciones de Invernadero. *Southwestern Entomologist*, 43(3), 691-703. Doi [10.3958/059.043.0315](https://doi.org/10.3958/059.043.0315).
- Marin-Cruz, V H. (2019b). Caracterización y manejo de moscas negras fungosas *Bradysia impatiens* y *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). En Garcia, D S E. (Ed.). Fundamentos Para El Manejo de La Salud de Los Viveros Forestales. (75-86). Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México, México. Chapingo, Texcoco, Estado de Mexico.
- Menzel, F., Smith, J. E., & Colauto, B. N., (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. *Annals of the Entomological Society of America*, 96(4), 448-457.
- Mohring, W., Helelr, K., Hippa, H., Vilkkamaa, P. & Menzel, F. (2012). Revision of black fungus gnats (Diptera: Sciaridae) of North America. *Studia Dipterologica*, 19(1-2), 141-286.
- Mohrig, W. & Menzel, F. (2009). Sciaridae (Black fungus gnats). In: Brown, B. V., Borkent, A., Cumming, J. M., Wood, D. M., Woodley, N. E. y Zumbado, M. A. (Eds.), *Manual of Central American Diptera Vol 1* (279-292). National Research Council of Canadá. Canadá.

- Poinar, G. O. (1990) Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. *In*: Gaugler, R. & Kaya, H. K. (Eds.). Entomopathogenic nematodes in biological (23-61). *Boca Raton, FL, CRC Press.*
- Pundt, L. (1999). Fungus gnats are a serious pests. *Yankee Grower*. Septiembre- Octubre.
- Sáenz, A. A., y Luque, J. E. (2000). Ciclo de vida del entomonematodo nativo *Steinernema feltiae* Filipjev. *Agronomía Colombiana*, 17: 17-24.
- Samson, R.A., Evans, H.C. & Latgé, J.P. (1988). Atlas of entomopathogenic fungi. *Springer, Verlag, Berlin.*
- Sauka, D. H., y Benintende, G. B. (2008). *Bacillus thuringiensis*: generalidades. Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. *Revista Argentina de Microbiología*, 40(2),124-140. ISSN: 0325-7541. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=213016787013>.
- Shapiro-Ilan, D., Cottrell, T., Mizell, R., Horton, D., Behle, B and C. Dunlap. (2010). Efficacy of *Steinernema carpocapsae* for control of the lesser peach tree borer, *Synanthedon pictipes*: Improved aboveground suppression with a novel gel application. *Biological Control*, 54: 23–28.
- Springer, T.L. (1995). Fungus gnats (Diptera: Sciaridae) feeding damage to legume seedling. *Journal of the Kansas Entomological Society* 68(2):240-242.
- Tanada, Y., & Kaya, H.K. (1993). Insect pathology. Academic Press. San Diego, California (USA).

- Téllez-Jurado, A., Cruz-Ramírez, M. G., Mercado-Flores, Y., Asaff-Torres, A., & Arana-Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista mexicana de micología*, 30, 73-80. Recuperado en 5 de diciembre de 2020, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802009000200007&lng=es&tlng=es.
- Van-Lenteren, J.C. (2012). The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*, 57, 1–20. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9395-1>.
- Vázquez-Chacón, J. Y. (2020). *Metarhizium anisopliae*: características, taxonomía, morfología.” Lifeder. Recuperado de <https://www.lifeder.com/metarhizium-anisopliae/>.
- Villanueva-Sánchez, E., Ibáñez-Bernal, S., Lomeli-Flores, R. J., y Valdez-Carrasco, J. (2013). Identificación y caracterización de la mosca en el cultivo de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) en el centro de México. *Acta Zoologica Mexicana*, 29(2), 363–375. <http://www.scielo.org.mx/pdf/azm/v29n2/v29n2a8.pdf>
- 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., Smith, J. E and Menzel, F. (2000). Distribution of Sciaridae (Dipt.) species infesting comercial mushroom farms in Britain. *Entomologist's Monthly Magazine* 136: 207-209.
- Zimmermann, G. (1993). The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pesticide Science*, 37(4), 375–379. Doi: 10.1002/ps.2780370410.

Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553-596. Doi: 10.1080/09583150701309006.

3. CAPÍTULO III. EFECTIVIDAD DE ENTOMOPATÓGENOS EN EL COMBATE DEL MOSCO FUNGOSO *BRADYSIA IMPATIENS* JOHANSEN 1912 (DIPTERA: SCIARIDAE)

Efficacy of entomopathogens in the control of the fungus gnat *Bradysia impatiens* Johansen 1912 (Diptera: Sciaridae)

RESUMEN

Introducción: El mosco fungoso negro, *Bradysia impatiens*, es una plaga de primer orden en viveros de coníferas con sistema de producción en contenedor.

Objetivos: Se evaluó el efecto de cuatro organismos entomopatógenos de cepas comerciales, en el control de mosco fungoso negro.

Materiales y métodos: Mediante bioensayos en condiciones de laboratorio, se probaron cuatro entomopatógenos en larvas jóvenes del mosco fungoso. Las tasas de mortalidad se analizaron a través del ajuste de un modelo lineal generalizado con función de liga logit.

Resultados y discusión: Las tasas de mortalidad fueron: la bacteria *Bacillus thuringiensis var israelensis*, 87%; el nematodo *Steinernema feltiae*, 84%; los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* fueron 77% y 74% respectivamente. Un control positivo con insecticida tuvo un 100% de mortalidad y el control negativo un 6%. Se confirmaron diferencias significativas ($p = 0.0055$) con el control negativo. Estos microorganismos se pueden utilizar como táctica de control biológico para el mosco fungoso.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis var. israelensis*, *Beauveria bassiana*, control biológico, *Metarhizium anisopliae*, *Steinernema feltiae*.

ABSTRACT

Introduction: The Black Fungus Gnat, *Bradysia impatiens*, is a main pest in conifer nurseries with a container production system.

Objective: Evaluate the effect of four entomopathogenic organisms of commercial strains, in the control of black fungus gnats.

Materials and methods: Through bioassays in laboratory conditions, four entomopathogens were tested in young larvae of black fungus gnats; mortality rates were through the fit of a binomial generalized linear model with logit link function.

Results and discussion: Mortality rates were: the bacteria *Bacillus thuringiensis var israelensis*, 87%; the nematode *Steinernema feltiae*, 84 %; the fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* were 77% and 74% respectively. A positive control with insecticide had 100 % mortality and the negative control 6%. Significant differences ($p=0.0055$) with the negative control was confirmed. These microorganisms can be used as biological control tactic for the Black Fungus Gnat.

Keywords: *Bacillus thuringiensis var. israelensis*, *Beauveria bassiana*, biological control, *Metarhizium anisopliae*, *Steinernema feltiae*.

3.1 Introducción

Marín *et al.*, (2015b), menciona al mosco fungoso *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912 (Diptera: Sciaridae), como una plaga de primer orden en viveros forestales de coníferas con producción en contenedor de clima templado-frío en México; esta plaga ocasiona pérdidas de hasta el 30% de la producción. Los daños que ocasiona *Bradysia*, son de tipo directo, cuando la larva consume las finas raíces de la plántula y de tipo indirecto, ya que puede ser vector de hongos fitopatógenos (White *et al.*, 2000; Cibrián *et al.*, 2008; Marín-Cruz, 2017). El control del mosco fungoso en infestaciones severas se realiza de manera continua con insecticidas químicos; los cuales a pesar de sus ventajas como la facilidad de conseguirlos y su gran variedad de presentaciones; tienen desventajas; impacto ambiental alto, riesgos de daño a la salud humana, afectaciones a organismos que no son objetivo y ocasionan resistencia a la plaga de interés (White, 1981), con relación a este último aspecto, Marín *et al.*, (2016), menciona tres características que favorecen la generación de resistencia de poblaciones de mosco fungoso a los insecticidas organosintéticos: 1) Ciclo biológico corto (más de diez generaciones por año); 2) Especie muy prolífica; 3) Traslape de poblaciones y estados (durante todo el año); aunado a lo anterior se realizan aplicaciones frecuentes de insecticidas en periodos cortos (cada 30 días). Cloyd y Anderson (2013) señalan que esta resistencia se presenta a nivel de la población y es de carácter hereditario, por lo que cualquier insecto sobreviviente puede pasar estos rasgos a su progenie.

Ante este panorama, es necesario contar con alternativas de manejo que sean sustentables y ecológicamente viables. Por la importancia económica de *Bradysia* en viveros forestales, es necesario tener una estrategia de Manejo Integrado de Plagas (MIP) para esta especie en la cual se dispongan de varias tácticas de prevención y combate. En el presente trabajo se plantea el uso del control microbiano, el cual es parte de las tácticas disponibles en el control biológico y es compatible con el MIP.

El objetivo planteado del estudio fue evaluar, mediante bioensayos en laboratorio, la efectividad de los microorganismos entomopatógenos; los hongos *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin y *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin, la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* Berliner (Bti), y el nematodo *Steinernema feltiae* Filipjev. El control biológico tiene ventajas ecológicas y económicas respecto al uso de insecticidas, lo cual representa una utilidad inmediata a viveristas dedicados a la producción de planta. La hipótesis establecida fue que al menos uno de los tratamientos es diferente.

3.2 Materiales y Métodos

Cría del mosco fungoso

Se estableció una cría de mosco fungoso en septiembre de 2020 en el insectario de la División de Ciencias Forestales (DICIFO), de la Universidad Autónoma Chapingo, con la finalidad de suministrar larvas para el establecimiento de un bioensayo. La metodología que se aplicó para la obtención de cría de mosco fungoso fue la de Marín *et al.*, (2015b); la cual consiste en utilizar recipientes de plástico con capacidad de medio litro, con una tapa en la cual se realiza un orificio para introducir los adultos y permitir ventilación, el orificio quedó cubierto con una gasa y algodón. El sustrato utilizado fue de dos tipos; caña molida y la mezcla que más se utiliza en viveros forestales (60 % peat moss, 20% de vermiculita y 20 % de agrolita), en ambos casos el sustrato estuvo saturado de agua. Se colocaron rodajas de papa como alimento. Y se confinaron 10 adultos (hembras y machos), con este método de cría se puede tener disponibilidad permanente de larvas, con la optimización de recursos. La cría se mantuvo a temperatura ambiente (24°C), fotoperiodo 12:12. Cada cuatro días se revisaba que existiera humedad y en caso necesario se adicionaba de 2-3 ml de agua purificada. Además, debido a que las poblaciones de este díptero son susceptibles a perder su variabilidad genética y con la finalidad de incrementar la cría, se intercambiaban cada dos meses moscos fungosos de los diferentes recipientes, los cuáles fueron capturados con un aspirador de insectos.

Establecimiento del bioensayo

De abril a mayo del 2021, en el insectario de la División de Ciencias Forestales (DICIFO), de la Universidad Autónoma Chapingo, se estableció un bioensayo, con un diseño simple aleatorio con seis tratamientos; cuatro microorganismos provenientes de cepas comerciales. Un testigo positivo y uno negativo. Se establecieron tres repeticiones por tratamiento. Cada repetición contenía diez larvas, en total 30 larvas por tratamiento. El diseño del bioensayo, permite comprobar la eficiencia de los tratamientos, simulando las condiciones de un tubete.

Previo a establecer el experimento, de la cría de mosco fungoso, se colectaron larvas de 2 y 3° instar mediante un pincel, para evitar dañarlas, las larvas se sumergieron en agua destilada para eliminar residuos que pudieran tener del frasco original de cría.

La elección de larvas de 2° y 3 ° instar es debido a experiencias previas de este mismo estudio, que demostraron mayor susceptibilidad de estas larvas a ser infectadas por los organismos entomopatógenos propuestos.

Cada repetición consistió en confinar 10 larvas de los instares previamente descritos en cajas Petri estériles desechables con medida de 60 x 15 mm, dentro de la caja se colocó sustrato con base en mezcla común utilizada en viveros forestales (60 % peat moss, 20% de vermiculita y 20 % de agrolita) en un espesor de 0.2 cm, este proceso permite visualizar y facilitar el conteo de los individuos; posteriormente se suministró la solución preparada con la dosis comercial respectiva de cada tratamiento; las larvas se alimentaron con papa molida esterilizada. A partir de que se estableció el experimento se realizaron 3 repeticiones cada cuatro días, las cuales establecieron condiciones adecuadas para la infección de las larvas. La variable respuesta evaluada fue la mortalidad de larvas en cada tratamiento. Las lecturas fueron cada 24 horas durante un periodo de 20 días, en el cual las larvas murieron o emergieron como adultos.

Mediante un microscopio estereoscópico marca Leica ® modelo EZ4, diariamente se contabilizaban larvas vivas y muertas, pupas y la emergencia de adultos, además se monitoreaba: el estado de la larva, presencia de alteraciones en el comportamiento; cuando había individuos muertos, se observaba si la causa de muerte se debía al tratamiento aplicado. Como lo cita la literatura la emergencia de adulto se reportó desde el décimo día, en estos casos se extrajeron los adultos para que no hubiera reproducción entre ellos.

Análisis estadístico

Por la naturaleza de los datos se ajustó un modelo mixto lineal generalizado (GLM) con distribución binominal y función de liga Logit a la proporción de muertos, para cada tratamiento. Para comprobar cuál fue el mejor tratamiento se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey- Kramer el cual compara las medias para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$). El análisis se realizó mediante el software SAS 9.4 ®.

3.3 Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos (Cuadro 3, Figura 11) indican que hubo diferencias estadísticas significativas en cuanto a la mortalidad causada por los tratamientos ($p=0.0055$). con lo cual se rechaza la hipótesis nula. El análisis estadístico muestra que no existe diferencia estadística entre los tratamientos biológicos y el químico, sin embargo, el control positivo mostro una eficacia del 100% y el tratamiento que tuvo menor control fue el hongo *Beauveria bassiana*, con un valor aceptable para el control del 74%; el testigo negativo tuvo una mortalidad del 6% (Cuadro 3, Figura 11).

Cuadro 3. Test tipo III de efectos fijos

Efecto	Núm. DF	Den DF	F-Valor	Pr > F
Tratamiento	5	12	5.94	0.0055

Cuadro 4. Medias de mínimos cuadrados

Tratamiento	Media	Error estándar de la media	Pr > t	Límites de Confianza ¹	
				Media inferior	Media superior
1	0.74	0.08	0.027	0.54	0.88
2	0.77	0.08	0.016	0.57	0.90
3	0.87	0.06	0.004	0.68	0.96
4	0.84	0.07	0.006	0.64	0.94
5	1.00	-	0.452	-	-
6	0.06	0.04	0.004	0.01	0.26

¹ límites de un intervalo de confianza del 95% para la mortalidad media

Cuadro 5 Ajuste para comparaciones múltiples: Tukey-Kramer

Tratamiento	Tratamiento	Estimador	Error estándar	DF	Valor t	Pr > t	Adj P
1	2	-0.1698	0.6022	12	-0.28	0.7828	1
1	3	-0.8803	0.6887	12	-1.28	0.2254	0.791
1	4	-0.6074	0.6489	12	-0.94	0.3677	0.929
1	5	-7.0374	10.4173	12	-0.68	0.5121	0.982
1	6	3.7325	0.8547	12	4.37	0.0009	0.009
2	3	-0.7105	0.7001	12	-1.01	0.3302	0.904
2	4	-0.4376	0.6609	12	-0.66	0.5205	0.983
2	5	-6.8676	10.4181	12	-0.66	0.5222	0.983
2	6	3.9023	0.8639	12	4.52	0.0007	0.007
3	4	0.2729	0.7406	12	0.37	0.7189	0.999
3	5	-6.1571	10.4234	12	-0.59	0.5657	0.99
3	6	4.6128	0.9263	12	4.98	0.0003	0.003
4	5	-6.43	10.4209	12	-0.62	0.5487	0.988
4	6	4.3399	0.8971	12	4.84	0.0004	0.004
5	6	10.7699	10.4357	12	1.03	0.3224	0.898

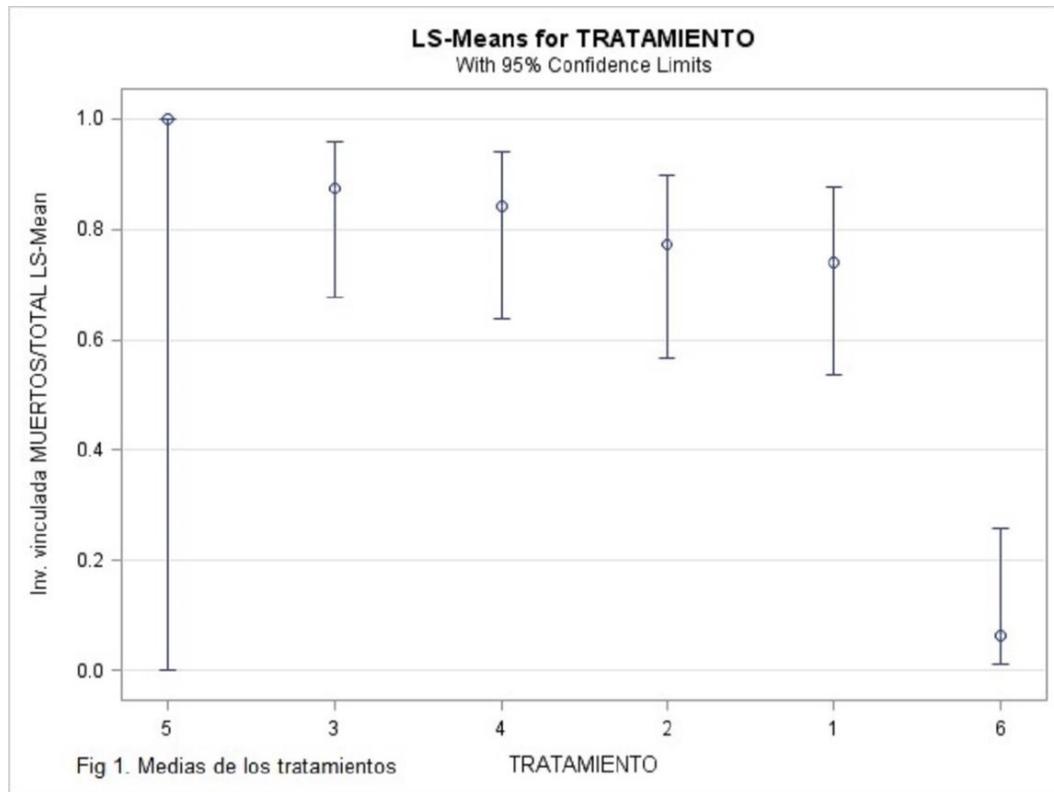


Figura 11. Medias de los tratamientos

Respecto al producto químico utilizado como testigo positivo, aunque la mortalidad que se obtuvo fue del 100%, cabe mencionar que pertenece al grupo de los neocotinoides, es un producto sistémico altamente tóxico para los insectos, el cual ocasiona daños al sistema central, en vertebrados presenta menor toxicidad, no obstante, en algunos países su uso está prohibido por su relación con la muerte de abejas, además de todas las desventajas ya mencionadas.

Dentro de los productos microbianos estudiados; el mejor fue *Bacillus thuringiensis var israelensis*, el cual arrojó un control del 87%. Wang et al., (2020), menciona que en China las cepas de *Bacillus thuringiensis* ya se han utilizado en la producción de hongos para controlar *B. difformis* y son fácilmente accesibles para los cultivadores debido a su amplia aplicabilidad. En nuestro país los estudios existentes en el uso de Bti se encuentran enfocados a la agricultura en el control del gusano del tabaco; el gusano barrenador de la caña de azúcar y de la broca del café (García et al., 2018; Camacho et al., 2017; De la Rosa et al., 2005).

En viveros únicamente fue estudiado por Marín et al., (2015a), los autores señalaron que en dosis alta y baja Bti protegió de 84.62% a 80.67% respectivamente; en dosis media la mortalidad fue de 70.89%, no obstante, este porcentaje fue similar al obtenido en el testigo, los datos obtenidos en este bioensayo son similares a los reportados por Marín et al., 2015a. Uno de los puntos en los que se debe prestar particular atención es en la cantidad de aplicaciones que se deben realizar para tener un control aceptable, para mantener la protección del vivero, se deberían realizar de 3-4 aplicaciones en promedio por ciclo, una cada cinco días. Este aspecto se encuentra estrechamente relacionado a la aseveración de Pundt (1999,) quien afirma que el Bti tiene una efectividad de 48 horas. George y Crickmore (2012) indican que existen algunas reglas básicas para el uso eficiente de Bt; como son su aplicación en horarios de poca incidencia solar; realizarla sobre poblaciones iniciales y de los primeros instares larvarios; y que sea una aplicación amplia y con adecuada cobertura, ya que las larvas deben ingerir el producto.

Similar a la mortalidad que obtuvo Bti, se tiene al nematodo *Steinernema feltiae* con un porcentaje del 84%, se observó que las larvas eran infectadas y colonizadas por el nematodo al día siguiente de establecido el experimento. La mortalidad obtenida es diferente a la reportada por Mansilla & Pastoriza (2001) sobre larvas de *B. paupera*, del 93.3% y del 100% con una dosis inferior y con la dosis comercial respectivamente, las diferencias con este estudio se pueden deber al estadio en el que se encuentran las larvas; Katumanyane (2018) reporta para *B. impatiens* en un cultivo de pepino, que al duplicar la dosis (5×10^5 IJs m^{-2}) de producto comercial con base en *Steinernema yirgalemens*, redujo significativamente la población de mosco después de 21 días. Para México Villanueva-Sánchez et al., (2017) realizó pruebas de efectividad de *S. feltiae* en *B. difformis* en un cultivo de nochebuena, encontró una mortalidad alta y mayor susceptibilidad en el estadio de larva que en el de pupa.

En el presente trabajo se demostró que la efectividad del entomopatógeno se encuentra vinculada al estadio larval, siendo mayor la probabilidad de control en estadios tempranos; las características del sustrato inciden en la movilidad del nematodo; la exposición de este a la luz solar son determinantes en la eficacia del nematodo; otro punto que puede limitar el establecimiento del nematodo es la humedad; la concentración y el número de aplicaciones de *S. feltiae* se encuentra en relación el porcentaje de éxito en el control. Para demostrar de manera formal estas aseveraciones se sugiere la realización de ensayos formales posteriores.

El control obtenido con los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* estuvo por debajo de Bti y de *S. feltiae*, con un 77% y 74% de mortalidad para cada uno. Marín-Cruz et al., (2016) señalan el potencial de estos hongos entomopatógenos (HE) al infectar por contacto y de sus metabolitos al desarrollar un efecto insectistático, el cual consiste en reducir la actividad alimentaria, reducir la fecundidad y aumentar la duración del ciclo biológico; lo anterior se pudo corroborar en el presente estudio; en las repeticiones de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, se encontraron aún larvas vivas seis días posteriores a la emergencia de adultos en el testigo negativo. Esta característica es útil en el control, ya que incide directamente en la reducción de poblaciones y en los daños que pueden ocasionar. En este punto, cabe mencionar que Marín-Cruz et al., (2016) hace referencia al uso de metabolitos secundarios como agentes de control biológico, la principal característica que a su vez se puede considerar como una ventaja respecto al uso de hongos entomopatógenos, es que los metabolitos deben ser ingeridos para causar daños o la muerte en el insecto a diferencia de los hongos cuyo modo de acción es por contacto, esta situación aumenta la probabilidad de que solo la plaga objetivo sea afectada.

3.4 Conclusiones

Todos los organismos entomopatógenos obtuvieron arriba del 70% de control, lo cual nos permite concluir que, por su eficacia, sus ventajas y compatibilidad con otros agentes de biocontrol y con productos agroquímicos, se pueden incorporar en el MIP. Además, los resultados sugieren que en estadios tempranos se puede tener una mayor eficiencia de los entomopatógenos. No existen diferencias estadísticas entre los controles biológicos.

3.5 Reconocimiento

Se agradece a CONACYT por la beca otorgada a la estudiante.

El presente estudio forma parte del proyecto del Fondo Sectorial CONACYT-CONAFOR A-S-67865 "Monitoreo, evaluación de daños, manejo preventivo y control de la secadera y pudrición de raíz causadas por *Fusarium* spp, y las moscas fungosas *Bradysia* y *Lycoriella*.

3.6 Literatura citada

Camacho, M. R., Aguilar, M. E. M., Quezada, H., Medina, O., Patino, C. G., Cárdenas, L. H. M., and Ramos, R. P. (2017). Characterization of Cry toxins from autochthonous *Bacillus thuringiensis* isolates from Mexico. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. 74 (3), 193-199. Doi:10.1016/j.bmhimx.2017.03.002.

Cloyd, A. and Anderson, T. (2013). Fungus gnats & insecticide resistance, en <http://ballpublishing.com/GrowerTalks/ViewArticle.aspx?articleid=19841>, consultado el 02/03/2021.

De la Rosa, W., Figueroa, M., and Ibarra, J. E. (2005). Selection of *Bacillus thuringiensis* strains native to Mexico and active against the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Vedalia* 12 (1), 3-9.

García R., A., A. Reyes R., E. Ruíz S. y J. E. Ibarra. 2018. Aislados nativos de *Bacillus thuringiensis* del sureste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9(3): 539- 551. Doi: 10.29312/remexca.v9i3.1213.

George, Z. and N. Crickmore. 2012. *Bacillus thuringiensis* Applications in Agriculture, pp. 19-39. In: Sansinenea, E. (Ed.), *Bacillus thuringiensis* Biotechnology. Springer. Heidelberg.

Katumanyane, A., Ferreira, T., and Malan, A. P. (2018). *Greenhouse application of Steinernema yirgalemense* to control fungus gnats, *Bradysia impatiens*. *BioControl*. doi:10.1007/s10526-018-9895-3

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). *Boletín de Sanidad Vegetal*. Plagas, 27: 411-417.

Marín-Cruz, Víctor Hugo, Cibrián-Tovar, David, Méndez-Montiel, José Tulio, Pérez-Vera, Omar Alejandro, y Cadena-Meneses, José Artemio. (2015a). Control del mosquito fungoso negro, *Lycoriella ingenua* (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae) en *Pinus montezumae* Lamb. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 6(27), 90-101. Recuperado en 08 de noviembre 2019, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322015000100008&lng=es&tlng=es.

Marín-Cruz, Victor H., Cibrián-Tovar, David, Méndez-Montiel, José T., Pérez-Vera, Omar A., Cadena-Meneses, José A., Huerta, Herón, Rodríguez-Yam, Gabriel, y Cruz-Rodríguez, Juan A.. (2015b). Biología de *Lycoriella ingenua* y *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). Madera y bosques, 21(1), 113-128. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712015000100009&lng=es&tlng=es.

Marin-Cruz, V. H., Rodríguez-Navarro, S., Barranco-Flrido, J. E., y Cibrián-Tovar, D. (2016). Hongos entomopatogenos y sus metaboilitos, una alternativa sustentable para el control en viveros forestales y agricultura protegida: caso *Bradysia impatiens* (Johannsen). Sociedades rurales, produccion y medio ambiente. 15 (30), 112-134.

Pundt, L. (1999). Fungus gnats are a serious pests. Yankee Grower Septiembre-October.

Villanueva-Sánchez, E., Guzmán-Franco, A. W., Lomelí-Flores, J. R., Alatorre-Rosas, R., Ortíz-Solorio, C. A., Manuel-Pinto, V., and Villanueva-Verduzco, C. (2017). *Susceptibility of Bradysia difformis to Entomopathogenic Nematodes and their Persistence in Substrates Used for Poinsettia Production. Southwestern Entomologist, 42(4), 1015–1026. doi:10.3958/059.042.0420*

Wang, F. F., Qu, S. X., Lin, J. S., Li, H. P., Hou, L. J., Jiang, N., Luo, X., and Ma, L. (2020). Identification of Cyt2Ba from a New Strain of Bacillus thuringiensis and Its Toxicity in Bradysia difformis. *Current microbiology, 77(10), 2859–2866. https://doi.org/10.1007/s00284-020-02018-y*

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

4. CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES GENERALES

El trabajo estudia la pertinencia de aplicar entomopatógenos dentro de la táctica de control biológico, todos los organismos probados entomopatógenos obtuvieron arriba del 70% de control, que permite concluir que, por su eficacia, sus ventajas y compatibilidad con otros agentes de control se pueden incorporar en un programa de Manejo Integrado de Plaga (MIP). Además, los resultados sugieren que en estadios tempranos se puede tener una mayor eficiencia de los entomopatógenos. El muestreo poblacional es de vital importancia, para el desarrollo oportuno de las fechas de control ya que el control microbiano se encuentra influenciado por las demás condiciones que imperan en el vivero.

Sumado a las ventajas de los entomopatógenos comerciales, se propone considerar el uso de entomopatógenos nativos, lo cuales tendrían un mayor potencial ya que se encuentran de manera natural y están mejor adaptados a las condiciones del medio.

Se sugiere complementar la investigación con otros estudios técnicos con la finalidad de incorporar su uso en un MIP. La proyección de un análisis financiero completo, facilita la toma de decisiones.

La situación ambiental, los problemas asociados a los productos químicos y la fuerte presión social son detonantes para buscar alternativas en un marco de producción sustentable. Por lo cual se espera que en próximos años se genere mayor investigación y difusión de esta estrategia de control biológico.