

# Hongos entomopatógenos y sus metabolitos, una alternativa sustentable para el control de plagas en viveros forestales y agricultura protegida: caso *Bradysia impatiens* (Johannsen)

Victor Hugo Marín Cruz,<sup>1</sup> Silvia Rodríguez Navarro, Juan Esteban Barranco Florido, David Cibrián Tovar

**Resumen.** Los viveros forestales tienen pérdidas de 40% debido a plagas y enfermedades, una de estas plagas es *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). Las larvas de *B. impatiens* se alimentan del xilema y floema de la raíz; cuando los síntomas son evidentes es inevitable la muerte de la planta. Además, transmiten hongos fitopatógenos como *Fusarium circinatum*. El control de este insecto se realiza con insecticidas químicos, ocasionando contaminación ambiental, por lo que, el manejo de esta especie debe realizarse sustentablemente. En el Manejo Integrado de Plagas (MIP), el control biológico se da por medio de la aplicación de hongos entomopatógenos (HE) como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* que producen proteasas, lipasas, quitinasas y metabolitos secundarios como parte de su mecanismo de patogenicidad, con potencial como agentes insecticidas para el control de *B. impatiens*. En este trabajo se realizó una revisión de literatura sobre el manejo sustentable de plagas en viveros forestales, en el marco del MIP y el uso HE (conidios, enzimas y metabolitos secundarios) como bioplaguicidas; ya que representan una alternativa para el control de *B. impatiens* en viveros de México.

<sup>1</sup> Programa del Doctorado en Ciencias Agropecuarias, e-mail: dcibrian48@gmail.com

**Palabras clave:** *Bradysia impatiens*, *Beauveria bassiana*, *metarhizium anisopliae*, *metabolitos secundarios*, *manejo integrado de plagas*.

**Abstract.** Forest nurseries, has 40% losses due to pests and diseases, one of these pests is *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). The larvae of *B. impatiens* feed from the xylem and phloem of the root and when symptoms are evident, is inevitable the death of the plant. In addition, introduce phytopathogenic fungi as *Fusarium circinatum*. The control of this insect is done with chemistry insecticides causing environmental pollution. The management of this specie should be performed from the sustainability. In the Integrated Pest Management (IPM); the biological control is by entomopathogenic fungi (EF) as *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, which produce proteases, lipases, chitinases and secondary metabolites as part of its mechanism of pathogenicity, with potential as insecticidal agents for the control of *B. impatiens*. In this work we carried out a literature review on the sustainable management of pests in forest nurseries, in the framework of the MIP and the use of EF (conidia, enzymes and secondary metabolites) as biopesticides; and are an alternative for the control of *B. impatiens* in nurseries of Mexico.

**Key words:** *bradysia impatiens*, *beauveria bassiana*, *metarhizium anisopliae*, *secondary metabolites*, *integrated pest management*.

## INTRODUCCIÓN

Para satisfacer la demanda de alimentos y materias primas de los más de nueve mil millones de personas que habitarán en el año 2050, la agricultura tiene que producir 60% más de alimentos a nivel mundial y 100% más en los países en desarrollo (FAO, 2015). Sin embargo, la producción adicional no debe basarse en el incremento de la superficie arable, lo que debe mejorar es la productividad agrícola (Dimetry, 2014). Esto puede lograrse al reducir las pérdidas de producción agrícola y forestal por

plagas, enfermedades y malezas. Las pérdidas antes de la cosecha por factores bióticos se estiman entre 38 y 42% de la producción potencial (Bailey *et al.*, 2010). La producción de alimentos y materias primas es severamente afectada por los insectos plaga durante el crecimiento del cultivo, post-cosecha y almacenamiento (Kulkarni *et al.*, 2009); para reducir estas pérdidas, el control de plagas se realiza principalmente aplicando insecticidas químicos (Bailey *et al.*, 2010). México realizó importaciones para cubrir la gran demanda de productos forestales, por lo que la balanza comercial tuvo un déficit de 5919.4 millones de dólares en el año 2013 (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2014).

En los viveros forestales los insectos y las enfermedades generan los problemas más serios (Cibrián *et al.*, 2008). Aun aplicando las medidas preventivas para reducir la densidad de plagas y patógenos se siguen utilizando productos químicos en exceso para su control (Velázquez *et al.*, 2011), con lo cual se desea asegurar la producción en viveros y proveer de árboles de calidad para la restauración y las plantaciones comerciales, sin embargo, el uso de éstos ocasionan deterioro del ambiente y también provocan disminución de organismos benéficos y especies silvestres, además de intoxicaciones, efectos negativos en aplicadores y el desarrollo de resistencia en especies plaga, así como altos costos económicos (Gutiérrez *et al.*, 2012); es por ello que el manejo de insectos en los viveros forestales se debe realizar desde una visión sustentable para reducir todos estos efectos negativos. Una alternativa son los hongos entomopatógenos (HE) como agentes de control biológico y sus metabolitos secundarios (Sánchez *et al.*, 2014).

Los HE han sido estudiados y aplicados por su eficiencia para controlar insectos, tienen ventajas como la permanencia en el ambiente, así como establecen una interacción específica con el insecto plaga y son relativamente seguros al ambiente (Franco *et al.*, 2011). Además, sintetizan metabolitos secundarios que tienen propiedades insecticidas o antialimentarias (Rohlfis y Churchill, 2010; Quesada *et al.*, 2006).

El objetivo de este trabajo es describir el potencial de los metabolitos secundarios de los HE en el control de plagas en viveros forestales. Así mismo se presenta un estudio de caso de manejo integrado de *Bradyzia impatiens* (Johannsen) (Diptera: Sciaridae) o “mosco fungoso negro”, proponiendo el empleo de conidios y metabolitos de los HE *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin.

## Sector forestal sustentable y el control de plagas

Una agricultura sustentable debe satisfacer las necesidades de la generación presente sin sacrificar la capacidad de futuras generaciones de satisfacer sus propias necesidades de productos y servicios, garantizando al mismo tiempo la rentabilidad, salud ambiental y social, así como equidad económica (FAO, 2015). Para Sarandón *et al.* (2006), una agricultura sustentable mantiene en el tiempo un flujo de bienes y servicios que satisfacen las necesidades alimenticias, socioeconómicas y culturales de la población dentro de los límites biofísicos que establece el correcto funcionamiento de los sistemas naturales que lo soportan; por tanto, para lograr un desarrollo sustentable el gobierno de México elaboró el Plan de Desarrollo 2013-2018, en el cual se inscribe el Programa Sectorial de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat) 2013-2018, en él se otorga prioridad al fortalecimiento de la producción y productividad forestal y el aprovechamiento sustentable del patrimonio natural (Semarnat, 2014). Una de las metas plantea reforestar un millón de ha en el periodo 2013-2018. En el año 2015, se tenía como meta 170 000 ha, para lo cual se requirió producir en los viveros 180 millones de plantas. El principal reto era lograr que la reforestación alcanzara entre 60-70% de sobrevivencia, actualmente se ha trabajado para elevar la calidad de la planta (Comisión Nacional Forestal, 2015).

De acuerdo con Sarandón y Flores (2014), para alcanzar la sustentabilidad, el sector forestal, agrícola y la agricultura protegida deben ser: 1) Suficientemente productiva; 2) Económicamente viable (a largo plazo), 3) Ecológicamente adecuada (que conserve los recursos naturales y preserve la integridad del ambiente en el ámbito local, regional y global), y 4) Cultural y socialmente aceptable.

En cumplimiento a las propuestas anteriores, en los viveros forestales el Manejo integrado de plagas (MIP) es una alternativa para el control de insectos, y así garantizar el suministro y sobrevivencia de plantas en la restauración y reforestación al reducir las pérdidas de plantas.

### ***Manejo integrado de plagas (MIP)***

El MIP es considerado por Robson y Hamilton (2010) como un enfoque que utiliza diversas técnicas de control para mantener o administrar la población de las plagas en niveles inferiores a los que provocan un daño económico, al tiempo que se mantiene la calidad ambiental. Fischbein (2012) define el manejo integrado de plagas como un método ecológico que busca sostener las poblaciones de plagas por debajo del nivel de daño económico, basándose en los factores de mortalidad natural, ocasionada por el clima y los enemigos naturales y, en caso de ser necesario, utilizar otras acciones como la aplicación de plaguicidas y la manipulación del ambiente, buscando que éstas interfieran lo menos posible con los factores naturales. En el caso de los viveros forestales, Cibrián *et al.* (2008) definen el MIP como la utilización de varias tácticas, las cuales conforman una estrategia óptima que logra reducir la densidad poblacional de organismos plaga a niveles tolerables de acuerdo al daño económico, ecológico y social. Este conjunto de tácticas debe formar parte del manejo de la planta en el vivero. De acuerdo con Cibrián *et al.* (2008), para implementar el MIP se requiere de: 1) conocimiento de la identidad y ciclo biológico de las especies plaga; 2) conocimiento de los factores que

regulan las poblaciones de plagas; 3) conocimiento de los hospedantes, especialmente sobre cultivo, susceptibilidad, tolerancia y resistencia; 4) conocimiento sobre métodos de monitoreo y evaluación; 5) conocimiento de la importancia de las especies plaga; 6) análisis costo-beneficio de aplicación de tratamientos y 7) conocimiento de tácticas y estrategias de prevención y control.

El MIP no descarta el uso de plaguicidas químicos, los cuales son utilizados selectivamente; además de que asume una gama amplia de métodos de control disponibles y compatibles que incluyen: control biológico, cultural y físico, resistencia de la planta huésped, y otros sobre una base de monitoreo y umbrales de decisión. El MIP tiene como objetivo, a largo plazo, mejorar el funcionamiento de los sistemas ecológicos, autorregulándose y limitando el desarrollo de plagas, por lo que la intervención humana se aplica sólo cuando las poblaciones de plagas llegan a poner en riesgos los umbrales económicos (Bailey *et al.*, 2010).

### **Control biológico de plagas**

Van Driesche *et al.* (2007) definen el control biológico como el uso de enemigos naturales para disminuir la población de organismos plaga, ya sea de forma temporal o permanente. Para Nicholls (2008), es la liberación de organismos benéficos contra aquellos que causa daño. Por su parte, Fischbein (2012) lo clasifica como:

- **Control biológico clásico.** Se basa en la introducción de un enemigo natural en un nuevo ambiente con el fin de que se establezca de forma permanente y regule a la plaga de manera sostenida en el tiempo.
- **Control biológico aumentativo.** Aumenta la abundancia de los enemigos naturales cuando están presentes en un área afectada, en un número tan bajo que no alcanzan un control efectivo. Otro objeti-

vo es la liberación periódica de enemigos naturales ausentes en la zona afectada. El aumento de las poblaciones se puede hacer con liberaciones inundativas o inoculativas.

- **Control biológico conservativo.** Implementa medidas para proteger, aumentar la abundancia y mejorar las actividades de los enemigos naturales ya presentes en el área.

Los organismos utilizados como agentes de control biológico incluyen insectos depredadores, ácaros, parasitoides, parásitos y patógenos microbianos y antagonistas (Bale *et al.*, 2008). Los enemigos naturales se clasifican en: parasitoides, depredadores y patógenos; entre estos últimos se incluyen los hongos, bacterias, virus, nematodos y protozoarios, y se denominan entomopatógenos (Bahena, 2008; Nicholls, 2008).

### ***Bioplaguicidas y sustentabilidad***

Bailey *et al.* (2010) definen al bioplaguicida como un metabolito producido a partir de un microorganismo vivo o un producto natural, y que se usa como agente de control de plagas. Los agentes utilizados como bioplaguicidas se dividen en: i) microorganismos (bacterias, hongos, virus y protozoos); ii) productos bioquímicos (productos vegetales como aceites esenciales y metabolitos sintetizados por microorganismos) y iii) semioquímicos (feromonas de insectos utilizadas en trampas para los adultos) (Bailey *et al.*, 2010). Los HE producen metabolitos secundarios con actividad insecticida; estos metabolitos pueden ser de estructura simple, como el ácido oxálico, 2,6- piridindicarboxílico (ácido dipicolínico), ácido 4-hidroximetilazoxibenceno-4-carboxílico; así como más complejos, de naturaleza peptídica cíclica y lineal, denominados depsipéptidos, como la beauvericina, efrapeptinas, destruxinas, basiacridina y basianólidos, los cuales tienen efecto tóxico, ya que alteran la permeabilidad de las membranas, induciendo pérdida de líquido en las células, además modifican

el proceso de muda y metamorfosis, cambios en la fecundidad, e interfiere en las interacciones ligando-receptor que ocurren en la membrana plasmática, deformaciones en las alas y, finalmente, provocan la muerte del insecto (Borges *et al.*, 2010). Son eficaces en el manejo de plagas sin causar daños graves al medio ambiente (Nava *et al.*, 2012). De acuerdo con Simberloff (2012), algunos de los riesgos del uso de bioplaguicidas son: 1) Ataque directo a plagas no objetivos; 2) Los efectos indirectos a organismos no blancos; 3) La dispersión de un agente de control biológico a una nueva área, ya sea de forma autónoma o deliberada o accidentalmente, y 4) Cambios de relaciones entre un agente de control y una especie nativa. Para la utilización de un bioplaguicida se debe tener la información necesaria de su impacto en el agroecosistema.

## Hongos entomopatógenos (HE) y sus metabolitos

Los HE son empleados como agentes de control biológico, pues tienen ventajas como la permanencia prolongada en el campo después de su aplicación, interacción específica con el insecto; son seguros respecto al medio ambiente y no causa resistencia en las plagas (Franco *et al.*, 2011). Los HE infectan por contacto atravesando la cutícula o la pared del tracto digestivo de los insectos, esta característica es muy deseable para un bioinsecticida (Charnley y Collins, 2007). La mayoría de los insectos son susceptibles a alguna enfermedad causada por HE, incluyendo a los dípteros (Lozano *et al.*, 2013; Ortiz *et al.*, 2009). A nivel mundial, en el control biológico de Diptera, los HE más utilizados son *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Así mismo *M. anisopliae* ha sido probado en laboratorio y campo en *Ceratitis capitata* (Tephritidae) (Ortiz *et al.*, 2009; Garrido *et al.*, 2011); *Drosophila melanogaster* (Drosophilidae) (Pal *et al.*, 2007); *Aedes aegypti* L. (Culicidae) (Santos *et al.*, 2009). Por otro lado, *B. bassiana* ha sido usado en el control de *D. melanogaster* (Vallejos *et al.*, 2014); *Musca domestica* (Muscidae) (Acharya *et al.*, 2015); *C. capitata* (Lozano *et al.*, 2013).

Los HE penetran la cutícula de los insectos a través de la presión mecánica y de la acción de enzimas tales como proteasas, lipasas y quitinasas que la degradan, suministrando nutrientes al hongo (Lubeck *et al.*, 2008). La hidrólisis del tegumento sigue la secuencia de lipasa-proteasa-quitinasa. Las lipasas hidrolizan los enlaces éster de las lipoproteínas, grasas y ceras en la superficie del tegumento del insecto (Ali *et al.*, 2009). Además de que también mejoran la adherencia de las esporas a la epicutícula; una vez que ésta se rompe, el hongo produce grandes cantidades de proteasa (Pr1) que degradan el material proteínico de la procutícula. La patogenicidad y virulencia de los HE están estrechamente relacionadas con la producción de proteasas (Mustafa y Kaur, 2009). Las proteínas solubilizadas son degradadas por amino-peptidasas y exopetidasas hasta aminoácidos que quedan disponibles para el HE (Wang *et al.*, 2002). Se ha demostrado que la proteasa Pr1 inicia la penetración de la cutícula, y sin esta enzima el proceso infeccioso no se puede lograr (Mustafa y Kaur, 2009). Además, esta proteasa es un indicador de la virulencia para el HE (Castellanos *et al.*, 2007). Michelle *et al.* (2013) obtuvieron una correlación positiva de la degradación de la cutícula de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae) y la virulencia con respecto a las proteasas Pr1 y Pr2. Con relación a las quitinasas, se ha demostrado que actúan de forma sinérgica con las proteasas para degradar la cutícula; hidrolizan el enlace  $\alpha$  y  $\beta$  del polímero N-acetilglucosamina, componente esencial en la cutícula de los insectos. Fang *et al.* (2009) encontraron que al evaluar, *in vitro*, la combinación de conidios *B. bassiana* Pr1 y quitinasas, se degrada la cutícula de *Myzus persicae* Sulzer (Heteroptera: Aphididae), más eficientemente que por separado. Vallejos *et al.* (2014) reportaron que *B. bassiana* posee capacidad insecticida en *D. melanogaster* cuando la actividad quitinolítica es elevada.

## Metabolitos secundarios como agentes de control biológico

Los metabolitos secundarios son compuestos sintetizados que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del hongo; tienen su origen como derivados de diversos compuestos intermedios en el metabolismo primario. Los HE secretan una amplia gama de metabolitos secundarios que pueden ser usados en el control biológico (Rohlf's y Churchill, 2010). Los metabolitos fúngicos tienen funciones dependiendo del nicho ecológico del hongo; algunos metabolitos pueden ser antibióticos que protegen al HE contra microorganismos antagonistas, o impiden el crecimiento de saprófitos en el hospedero y mantienen la supervivencia del HE. Por otro lado, algunos metabolitos son determinantes de la patogenicidad del hongo (Strasser *et al.*, 2000). Los metabolitos sintetizados por HE que son tóxicos contra insectos, cuando el hongo ha penetrado el exoesqueleto (Téllez *et al.*, 2009) y ha alcanzado el hemocele, se consideran que tienen propiedades insecticidas (Vey *et al.*, 2001); además existen metabolitos con actividad antialimentaria (Ortiz *et al.*, 2009). Muchas de estas toxinas fúngicas son metabolitos secundarios de bajo peso molecular (Cuadro 1); poseen un amplio rango de efectos nocivos en los insectos que incluyen: a) La inducción de la despolarización de la membrana debido a la apertura de los canales de  $Ca^{2+}$ , causando la parálisis tetánica y muerte (Samuels *et al.*, 2001); b) Producen cambios morfológicos y del citoesqueleto de los plasmocitos del insecto *in vitro*, al afectar parte de la respuesta inmune como la encapsulación y la fagocitosis (Vey *et al.*, 2002); c) Reducen la expresión de péptidos antimicrobianos que tienen un papel importante en la respuesta inmune humoral de los insectos (Pal *et al.*, 2007), d) inducen cambios estructurales en las células epiteliales que ocasionan la disrupción de la membrana, y e) Un estrés oxidativo en las células (Sowjanya *et al.*, 2008). Ruiz-Sánchez *et al.* (2010) demostraron que la toxina destruxina A tiene efectos excitatorios en contracciones de vísceras de los músculos de *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae).

**Cuadro 1. Metabolitos secundarios del HE *M. anisopliae* como control biológico**

Insecto	Metabolito secundario	Autor
<i>Locusta migratoria</i> (L.) (Orthoptera: Acrididae). <i>Bombix mori</i> (L.) (Lepidoptera: Bombycidae); <i>Exolantha serrulata</i> (Gyllenhal) (Coleoptera: Melolonthidae); <i>Spodoptera litura</i> (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae)	Destruxina A	Ruiz-Sánchez, 2010; Fan <i>et al.</i> , 2014; Xiu <i>et al.</i> , 2014
<i>B. mori</i> ; <i>L. migratoria</i> ; <i>E. serrulata</i> ; <i>S. litura</i> (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae)	Destruxina B	Wang <i>et al.</i> , 2012
<i>Galleria mellonella</i> (L.) (Lepidoptera: Pyralidae); <i>Helicoverpa zea</i> (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae); <i>Spodoptera exigua</i> (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae)	Bassianolido	Xu <i>et al.</i> , 2009
<i>G. mellonella</i>	Beauvericina	Abd <i>et al.</i> , 2012

## Manejo integrado de *Bradysia impatiens* en el marco de la agricultura sustentable

### Impacto de *B. impatiens* en viveros forestales y agricultura protegida

El mosco fungoso negro *B. impatiens* (Diptera: Sciaridae) es una plaga de importancia en viveros forestales e invernaderos de: plantas ornamentales, hortalizas, leguminosas forrajeras, coníferas y en la producción de hongos (García, 2008; Mohrig y Menzel, 2009; Marín *et al.*, 2015a). Es transmisor de hongos fitopatógenos como *Botrytis cinerea*, *Pythium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo-atrum*, *V. fungicola*, *F. circinatum* (Hurley *et al.*, 2007, 2010; Shamshad *et al.*, 2009; Marín *et al.*, 2015b); su distribución es mundial (Menzel *et al.*, 2003; Mohring *et al.*, 2012; Shin *et al.*, 2012). En Italia causa daños en viveros de *Eucalyptus* (Mansilla *et al.*, 2001); en Sudáfrica ataca plántulas de pino en vivero (Hurley *et al.*, 2007, 2010); en México, *B. impatiens* es una plaga en los invernaderos de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzch) (García, 2008). Cibrián *et al.* (2008) la reportaron en Jalisco y en el Estado de México en viveros forestales, dañando a *Pinus montezumae*. *B. impatiens* se dispersa por medio de las plantas y también a través de sustratos como la turba (Marín *et al.*, 2015b).

### Ciclo de vida y ecología de *B. impatiens*

El ciclo de vida de *B. impatiens* es determinado por la temperatura. Marín *et al.* (2015b) reportaron que el ciclo de vida completo fue de 25-30 días en laboratorio a una temperatura de  $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . La duración en cada estadio de desarrollo fue: huevo 4-5 días; estadios larvarios de 11-13 días, prepupa 1 día, pupa 4 días y adulto 5-7 días. Wilkinson y Daugherty (1970) mencionan un ciclo de 27.5 días para *B. impatiens* a  $24^{\circ}\text{C}$ . Además, Mansilla *et al.* (2001) citan un ciclo de 21-28 días a  $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , y la dura-

ción de estadios larvarios es de 9-13 días. La diferencia entre la duración de los ciclos de vida se debe al uso de diferentes temperaturas en la cría en laboratorio.

Las hembras se aparean al emerger, los huevos son depositados en el suelo, los contenedores y en las algas (Marín *et al.*, 2015b). Las hembras ovipositan entre 12-156 huevos, en grupos de 5-30 (Wilkinson y Daugherty, 1970). *B. impatiens* presenta en todo momento huevos, larvas, pupas y adultos (Marín *et al.*, 2015b). Las larvas se alimentan de materia orgánica en descomposición, algas, hongos y raíces (Cibrián *et al.*, 2008).

### **Daños de *B. impatiens* en plántulas de *Pinus montezumae* Lamb (*Pinaceae*)**

*P. montezumae* se utiliza con éxito en programas de reforestación para la protección de cuencas hidrográficas y restauración de suelos degradados (Calderón *et al.*, 2006). En el ciclo de producción 2014-2015 en el vivero forestal de Temamatla, Edo. de México, se tuvo una producción de 700 mil árboles de este pino (Cartel informativo vivero forestal militar Temamatla, 2015). El primer síntoma de infestación *B. impatiens* en *P. montezumae* es la presencia de adultos volando alrededor de las plantas y en las zonas oscuras y húmedas del vivero. Las larvas se alimentan de las raíces, dejando el tejido vascular deteriorado. Cuando los síntomas son visibles, el daño es tan severo que la planta muere (Marín *et al.*, 2015a; Cibrián *et al.*, 2008). La sintomatología es: pérdida de vigor repentino, amarillamiento, pudrición en raíz, escaso crecimiento, caída de hojas, marchitez y la muerte de la planta. Estos síntomas pueden ser confundidos con los de *F. circinatum* (Marín *et al.*, 2015a). Los adultos y larvas de *B. impatiens* pueden ser vectores de hongos (Hurley *et al.*, 2010; Shamshad *et al.*, 2009). Los adultos favorecen la diseminación de hongos; las larvas son vectores de *Botrytis cinerea*, *Fusarium* y *Phoma* (Mansilla *et al.*, 2001). Marín *et al.*, (2015b) aislaron de *B. impatiens* los géneros: *Verticillium*, *Peni-*

*cillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Aspergillus* y *Mucor*. La especie del género *Fusarium* fue *F. circinatum*, Nirenberg et O'Donnell, el cual es un fitopatógeno importante para el género *Pinus* (Wingfield *et al.*, 2008).

## Respuesta de *B. impatiens* al control químico

El control de diferentes especies de ciaridos se lleva a cabo con insecticidas químicos, reguladores de crecimiento y bioplaguicidas. Erler *et al.* (2011) obtuvieron buenos resultados de control de *L. ingenua* en la producción de *A. bisporus* al aplicar diferentes reguladores de crecimiento en el riego. Mansilla *et al.* (2001) consignan que, en condiciones de laboratorio en cajas de Petri, los insecticidas flufenoxuron, diflubenzuron, deltametrina y azadiractina controlan las larvas de *Bradysia difformis*. En los viveros e invernaderos los insecticidas continúan siendo la principal opción para el manejo de insectos, sin embargo, la dependencia continúa sobre estos productos, y al no aplicar insecticidas con diferente modo de acción generan problemas de desarrollo de resistencia.

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 (Cloyd y Anderson, 2013). La magnitud de la "presión de selección" (frecuencia de aplicación de insecticidas) es el principal factor que influye sobre la capacidad de una población de insectos para desarrollar y sostener resistencia a los insecticidas, además, el desarrollo rápido y uniforme de la resistencia se asocia con un ciclo de vida corto y con la frecuencia de las aplicaciones de insecticidas (Cloyd y Anderson, 2013).

*B. impatiens* presenta tres características que favorecen la resistencia a los insecticidas organosintéticos: 1) Ciclo de vida corto (más de diez generaciones por año); 2) Especie muy prolífica, y 3) Traslapo de poblaciones y estados (durante todo el año). Aunado a lo anterior, se hacen aplicaciones frecuentes de insecticidas en periodos cortos (cada 30 días), lo cual somete a la especie a una presión de selección fuerte (Marín *et al.*, 2015).

En los ciariados (moscos fungos) existe evidencia de que algunas especies pueden desarrollar resistencia si son expuestas a una “presión de selección” continua (Cloyd y Anderson, 2013); esto se ha demostrado en especies de ciaridos que atacan champiñones: *Lycoriella castanescens* y *L. mali*, dichas especies muestran resistencia al diazinon (Knox OUT), la permetrina (Astro) y el dichlorvos (Vapona). Los adultos desarrollan resistencia a la permetrina por la exposición continua al mismo producto (Cloyd y Anderson, 2013).

### **Alternativas de manejo de *B. impatiens* en viveros forestales e invernaderos**

Dentro del marco de la agricultura sustentable, en invernaderos y viveros forestales, y para no generar resistencia a los insecticidas, el manejo de *B. impatiens* se debe hacer a través del MIP, para lo cual es indispensable conocer su biología, comportamiento y hábitos, así como las condiciones que favorecen el aumento de la población. De acuerdo con Marín *et al.* (2015a), Cibrián *et al.* (2008) y García (2008) algunas alternativas son:

- 1) El control de la humedad y la sanidad.
- 2) Monitoreo: La colocación de trampas amarillas con pegamento (monitoreo del adulto y control mecánico).
- 3) Riegos adecuados, evitando excesos y encharcamientos; mantener un buen drenaje en las instalaciones.
- 4) Tener limpio el invernadero o vivero, eliminar las malezas y todo el sustrato que se encuentre por debajo y a los alrededores de las plantabandas del vivero.
- 5) Usar sólo sustratos esterilizados.
- 6) Retirar las plantas o contenedores que presenten daño por el mosco fungoso. Incinerar las plantas, esterilizar el sustrato y contenedores.

- 7) Realizar fertilizaciones balanceadas para mantener vigorosa a la planta.
- 8) Los sustratos que no se utilicen deben mantenerse sellados y almacenados en bodegas frescas y secas, lejos de donde crecen las plantas del invernadero o vivero forestal.
- 9) Control biológico clásico y aumentativo, en el sustrato aplicar HE: *B. bassiana*, *M. anisopliae*; bacterias: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y nematodos: *Steinernema feltiae* y *Carpocapsea* sp.
- 10) Aplicar una capa de cal o vermiculita en la superficie del sustrato, ya que se refleja la luz y evita la oviposición.
- 11) Como última opción, al existir un crecimiento explosivo de la población de *B. impatiens* aplicar insecticidas autorizados como spirotetramad, imidacloprid; de ser necesario nuevas aplicaciones de insecticidas, tomando en cuenta el grupo toxicológico.

## CONCLUSIONES

En México, la producción de árboles en los viveros se debe realizar dentro del concepto de manejo sustentable para reducir las pérdidas de árboles por plagas y enfermedades.

Los HE producen enzimas y metabolitos secundarios, los cuales han tenido resultados prometedores para el control biológico de diversos insectos. En este sentido, los metabolitos secundarios tienen un gran potencial, debido a que, por ingestión, pueden causar la muerte del insecto, lo cual hace que sólo sea dañino para el insecto objetivo.

*B. impatiens* es una plaga de primer orden en viveros e invernaderos, la cual causa severas pérdidas en plántulas. Este insecto presenta tres cualidades que la hacen susceptible de desarrollar resistencia a los insecticidas: 1) es una especie prolífica; 2) traslape de poblaciones, y 3) tiene un ciclo biológico corto; por ello, no se debe abusar del uso de los insecticidas organosintéticos.

Para lograr la sustentabilidad en los viveros donde se presenta *B. impatiens* es necesario establecer un MIP, considerando diversas estrategias de manejo de poblaciones de este insecto. Las enzimas y metabolitos secundarios que producen los HE *B. bassiana* y *M. anisopliae* han demostrado ser eficientes en causar la muerte por ingestión y contacto de larvas de *B. impatiens*, además de su efecto insectistático (actividad antialimentaria, reducción de la fecundidad y aumento en la duración del ciclo biológico), por lo que se debe considerar como una estrategia más dentro del control biológico de MIP.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abd, T. *et al.*, 2012, "Biodiversity of entomopatogeic fungi new cultivated soil with their using to control of *Galleria mellonella*", en *Int. J. Cur. Res. Rev.* 4(24): 17-31.
- Acharya, N. *et al.*, 2015, "Persistence and efficacy of a *Beauveria bassiana* biopesticide against the house fly, *Musca domestica*, on typical structural substrates of poultry houses", en *Biocontrol Sci. Techn.*, 25(6): 697-715.
- Ali, S. *et al.*, 2009, "Production and Extraction of Extracellular Lipase from the Entomopathogenic Fungus *Isaria fumosoroseus* (Cordycipitaceae: Hypocreales)", en *Biocontrol Sci. Techn.* 19: 81-89.
- Bahena, J., 2008, *Enemigos naturales de las plagas agrícolas del maíz y otros cultivos*, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Texcoco.
- Bailey, A. *et al.*, 2010, *Biopesticides: Pest managements and regulation*, CABI. Cambridge, EEUU.
- Bale, J. *et al.*, 2008, "Biological control and sustainable food production", en *Philos. T. Roy. Soc. B.* 363: 761-776.
- Borges, D. *et al.*, 2010, *Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógenos*, Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), 44(3): 49-55.

- Calderón, P. *et al.*, 2006, "Estimulación temprana del crecimiento del epicotilo en plántulas de *Pinus montezumae* Lamb.", en *Rev. Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 2(3): 847-864.
- Castellanos, M. *et al.*, 2007, "Virulence Testing and Extracellular Subtilisin-Like (*Pr1*) and Tripsina-Like (*Pr2*) Activity during Propagule Production of *Paecilomyces fumosoroseus* Isolates from Whiteflies (*Homoptera: Aleyrodidae*)", en *Rev. Iberoam. Micol.* 24: 62-68.
- Charnley, K. y A., Collins, 2007, "Entomopathogenic fungi and their role in pest control", en Kubicek, P. y Druzhinina (Eds.), *Environmental and microbial relationship, The Mycota IV*, Springer-Verlag, Belin Heidelberg.
- Cibrián, T. *et al.*, 2008, *Manual de identificación y manejo de plagas y enfermedades en germoplasma y planta producida en viveros*, Comisión Nacional Forestal, Guadalajara, Jal., México.
- Cloyd, A. y T. Anderson, 2013, Fungus gnats & insecticide resistance, en <http://ballpublishing.com/GrowerTalks/ViewArticle.aspx?articleid=19841>, consultado el 20/08/15.
- Conafor (Comisión Nacional Forestal), 2015, "CONAFOR incrementa la calidad de la producción de planta", en *Boletín 154*, Jalisco, México.
- Dymetry, N., 2014, "Different plant families as bioresource for pesticides", en Dwijendra, S. (Eds.), *Advances in Plant Biopesticides*, Nueva Delhi, India.
- Erlor, F. *et al.*, 2011, "Control of mushroom sciarid fly *Lycoriella ingenua* populations with insect growth regulators applied by soil drench", en *J. Econ. Entomol.*, 104(3): 839-844.
- Fan, J. *et al.*, 2014, "Comparative proteomic analysis of *Bombyx mori* hemocytes treated with destruxin A. Arch", en *Insect. Biochem*, 86(1): 33-45.
- Fang, W. *et al.*, 2009, "Expressing a fusion protein with protease and chitinase activities increases the virulence of the insect pathogen *Beauveria bassiana*", en *J. Invertebr. Pathol.*, 102: 155-159.

- Fischbein, D., 2012, "Introducción a la teoría del control biológico de plagas", en Villacide, M. y C. Corley (Eds.), *Serie Técnica, Manejo integrado de plagas forestales*, Cuadernillo núm. 15, Cambio Rural, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Bariloche, Argentina.
- Franco, K. *et al.*, 2011, "Enzimas y toxinas de hongos entomopatógenos su aplicación potencial como insecticidas y fungicidas", en *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente*, 11: 143-160.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), 2015, Agricultura sostenible. La agenda de desarrollo post-2015 y los objetivos del desarrollo del milenio, en <http://www.fao.org/post-2015-mdg/14-themes/sustainable-agriculture/es/>, consultado 20/08/2015.
- García, F., 2008, *Fungus Gnast. Insecto plaga en ornamentales*, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México, D.F.
- Garrido, I. *et al.*, 2011, "Soil properties affect the availability, movement, and virulence of entomopathogenic fungi conidia against puparia of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)", en *Biol. Control*, 58: 277-285.
- Gutiérrez, A. *et al.*, 2012, "Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el Estado de Nayarit, México", en *Rev. Bio Ciencias*, 2(3): 102-112.
- Hurley, P. *et al.*, 2007, "Molecular detection of fungi carried by *Bradysia difformis* (Sciaridae: Diptera) in South African forestry nurseries, en *Southern Hemisphere Forestry J.*, 69(2): 103-109.
- Hurley, P. *et al.*, 2010, "Genetic diversity of *Bradysia difformis* (Sciaridae: Diptera) populations reflects movement of an invasive insect between forestry nurseries", en *Biol. Invasions*, 12: 729-733.
- Kulkarni, J. *et al.*, 2009, "Plant based pesticides for control of *Helicoverpa armigera* on *cucumis sativus*", en *Asian Agri-History*, 13(4): 327-332.

- Lozano, M. *et al.*, 2013, "Assessment of entomopathogenic fungi and their extracts against a soil-dwelling pest and soil-borne pathogens of olive", en *Biol. control*, 7: 409-420.
- Lubeck, I. *et al.*, 2008, "Evaluation of *Metarhizium anisopliae* Strains as Potential Biocontrol Agents of the Tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and the Cotton Stainer *Dysdercus peruvianus*", en *Fungal Ecology*, 1: 78-88.
- Mansilla, P. *et al.*, 2001, "Estudio sobre la biología y control de *Bradysia paupera* Tuomikoski (*Bradysia difformis* Frey) (Diptera: Sciaridae)", en *Bol. Sanidad Vegetal-Plagas*, 27: 411-417.
- Marín, V. *et al.*, 2015a, "Control del mosquito fungoso negro *Lycoriella ingenua* (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae) en *Pinus montezumae* Lamb", en *Rev. Mex. Ciencias Forestales*, 6(27): 90-100.
- Marín, V. *et al.*, 2015b, "Biología de *Lycoriella ingenua* y *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae)", en *Madera y Bosques*, 21(1): 113-128.
- Menzel, J. *et al.*, 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", en *Ann. Entomol. So. Am.*, 96(4): 448-457.
- Michelle, V. *et al.*, 2013, "Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and production of cuticle-degrading enzymes in the presence of *Diatraea saccharalis* cuticle", en *Afr. J. Biotechnology*, 12(46): 6491-6497.
- Mohrig, W. *et al.*, 2012, "Revision of black fungus gnats (Diptera: Sciaridae) of North America", en *Stud. Dipterologica*, 19: 141-286.
- Mohrig, W. y F. Menzel, 2009, "Sciaridae (Black fungus gnats)", en Brown, V. *et al.* (Eds.), *Manual of Central American Diptera*, vol. 1, National Research Council of Canada Monograph Publishing Program, Canada.
- Mustafa, U. y G. Kaur, 2009, "Extracellular Enzyme Production in *Metarhizium anisopliae* Isolates", en *Fol. Microbiologica*, 54: 499-504.

- Nava, E. *et al.*, 2012, "Bioplaguicidas: Una opción para el control biológico de plagas", en *Rev. Sociedad y Desarrollo Sustentable*, 8(3): 17-29.
- Nicholls, C., 2008, Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Universidad de Antioquía. Colombia, en <https://www.socla.co/wp-content/uploads/2014/ClaraNicholls.pdf?iv=29>, consultado el 20/08/2015.
- Ortiz, A. *et al.*, 2009, "Purification and characterization of proteins secreted by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* with insecticidal activity against adults of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: tephritidae)", en *Pest Manag. Sci.* 65: 1130-1139.
- Pal, R. *et al.*, 2007, "Fungal peptide destruxin: A plays a specific role in suppressing the innate immune response in *Drosophila melanogaster*", en *J. Biol. Chem.*, 282: 8969-8977.
- Quesada, E. *et al.*, 2006, "Insecticidal and antifeedant activities *S. littoralis* of proteins secreted by entomopathogenic fungi against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae)", en *J. Appl. Entomol.*, 130(8): 442-452.
- Robson, G. y G. Hamilton, 2010, "Control de plagas y pesticidas, en Frumkin, H. (Ed.), *Salud ambiental de lo global a lo local. Cuarta parte: Salud ambiental en la escala local*, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud, México.
- Rholfs, M. y C. Churchill, 2010, "Fungal secondary metabolites as modulators of interactions with insects and other arthropods", en *Fungal Genetics and Biology*, 48: 23-34.
- Ruiz, E. *et al.*, 2010, "Effects of the mycotoxin destruxin A on *Locusta migratoria* visceral muscles", en *Toxicon*, 56: 1043-1051.
- Samuels, I. *et al.*, 2001, "Infection of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*", en *Biol. Control*, 23(3): 269-273.
- Sánchez, LL. *et al.*, 2014, "Nuevas alternativas biotecnológicas con hongos entomopatógenos para el control biológico de plagas de importancia agronómica. Sección II Buenas prácticas en la producción

- agrícola”, en Ruiz, Z. (Ed.), *Buenas prácticas en la producción agropecuaria y de alimentos de calidad*.
- Santos, H. *et al.*, 2009, “Dependence of *Metarhizium anisopliae* on high humidity for ovicidal activity on *Aedes aegypti*”, en *Biol. Control*, 50: 37-42
- Sarandón, J. *et al.*, 2006, “Evaluación de la sustentabilidad de sistemas agrícolas de fincas en Misiones, Argentina, mediante el uso de indicadores”, en *Rev. Agroecología*, 1: 19-28.
- Sarandón, J. y C. Flores, 2014, “El enfoque necesario para una agricultura sustentable”, en Sarandón, S. y C. Flores (Eds.), *Agroecología: Bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables*, Parte 1. *Bases conceptuales de la agroecología y agricultura sustentable*, Editorial de la Universidad de la Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Semarnat (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales), 2014, *Anuario estadístico de la producción forestal, 2013*, México.
- Shamshad, A. *et al.*, 2009, “The effect of tibia morphology on vector competency of mushroom sciarid flies”, en *J. Appl. Entomol.*, 133(6): 484-490.
- Shin, G. *et al.*, 2012, “Dark winged fungus gnats (*Diptera: Sciaridae*) collected from shiitake mushroom in Korea”, en *J. Asia-Pacific Entomol.*, 15: 174-181.
- Simberloff, D., 2012, “Risks of biological control for conservation purposes”, en *BioControl*, 57: 263-276.
- Sowjanya, K. *et al.*, 2008, “Insecticidal activity of destruxin a mycotoxin from *Metarhizium anisopliae* (*Hypocreales*), against *Spodoptera litura* (*Lepidoptera: Noctuidae*) larval stages”, en *Pest Manag. Sci.*, 64: 119-125.
- Strasser, H. *et al.*, 2000, “Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species”, en *Biocontrol Sci. Techn.*, 10: 717-735.

- Téllez, A. *et al.*, 2009, "Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos", en *Rev. Mex. Micología*, 30: 73-80.
- Vallejos, J. *et al.*, 2014, "Evaluación de actividad insecticida y quitinolítica de *Trichoderma inhamatum* y *Beauveria bassiana* en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*", en *Revista Boliviana de Química*, 31(1): 5-9.
- Van Driesche, G. *et al.*, 2007, *Control de plagas y malezas por enemigos naturales*, Washington.
- Velázquez, A. *et al.*, 2011, *Evaluación de costos de producción de planta en viveros forestales que abastecen proyectos de plantaciones forestales comerciales*, Comisión Nacional Forestal (Conafor), Colegio de Postgraduados, Edo. de México.
- Vey, A. *et al.*, 2001, "Toxic Metabolites of Fungal Biocontrol Agents", en Butt, M. *et al.* (Eds.), *Fungi as Biocontrol Agents, Progresses, Problems and Potential*, CABI Publishing, Oxford, UK.
- Vey, A. *et al.*, 2002, "Effects of the peptide mycotoxin destruxin E on insect haemocytes and on dynamics and efficiency of the multicellular immune reaction", en *J. Invertebr. Pathol.*, 80: 177-187.
- Wang, B. *et al.*, 2012, "Unveiling the biosynthetic puzzle of destruxins in *Metarhizium* species", en *Microbiology*, 109(4): 1287-1292.
- Wang, C. *et al.*, 2002, "Detection and characterization of Pr1 virulent gene deficiencies in the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*", en *Microbiology*, 213: 251-255.
- Wilkinson, D. y M. Daugherty, 1970, "The biology and immature stages of *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae)", en *Ann. Entomol. Society Am.*, 63(3): 656-660.
- Wingfield, J. *et al.*, 2008, "Pitch canker by *Fusarium circinatum* a growing threat to pine plantations and forest worldwide. Australas", en *Plant Path.*, 37: 319-334.
- Xiu, C. *et al.*, 2014, "Effects of destruxins on free calcium and hydrogen ions in insect hemocytes", en *Insect Sci.*, 21: 31-38.

Xu, Y. *et al.*, 2009, "Biosynthesis of the cyclooligomer depsipeptide bassianolide, and insecticidal virulence factor of *Beauveria bassiana*", en *Fungal Genet. Biol.*, 46: 353-364.