

Uso de Hongos Entomopatógenos para el Control de Moscas de la Fruta en Programas TIE en Área Amplia



Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación

Organismo Internacional de Energía Atómica

Viena, 2019

NOTIFICACION

Esta publicación se ha preparado a partir del material original presentado por los autores. Los puntos de vista expresados no reflejan necesariamente los del OIEA, los gobiernos de los Estados Miembros nombrados o las organizaciones citadas. En particular, la FAO, OIEA, ni ninguna otra organización o entidad que haya apoyado la elaboración de este documento pueden hacerse responsables de ningún material que haya sido reproducido en este documento.

La manera correcta de citar esta publicación es:

FAO/IAEA. 2019. Uso de Hongos Entomopatógenos para el Control de Moscas de la Fruta en Programas TIE en Área Amplia. A. Villaseñor, S. Flores, S. E. Campos, J. Toledo, P. Montoya, P. Liedo y W. Enkerlin (eds.), Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación/Organismo Internacional de Energía Atómica. Viena, Austria. 46 pp.

Uso de Hongos Entomopatógenos para el Control de Moscas de la Fruta en Programas TIE en Área Amplia

Antonio Villaseñor

OIEA/IPCS Consultor San Pedro La Laguna, Nayarit, México

Salvador Flores

Programa Moscafrut SADER-SENASICA, Metapa, Chiapas, México

Sergio E. Campos

Programa Moscafrut SADER-SENASICA, Metapa, Chiapas, México

Jorge Toledo

El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Tapachula, Chiapas, México

Pablo Montoya

Programa Moscafrut SADER-SENASICA, Metapa, Chiapas, México

Pablo Liedo

El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Tapachula, Chiapas, México

Walther Enkerlin

División Mixta FAO/OIEA Programa de Aplicaciones Nucleares en Agricultura y Alimentación, Viena, Austria

Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación

Organismo Internacional de Energía Atómica

Viena, 2019

PREÁMBULO

El control efectivo de las moscas de la fruta requiere de un manejo integrado de plagas que pudiera utilizar la técnica del insecto estéril (TIE) en áreas- amplias. Para que la TIE pueda resultar eficaz, la densidad de las poblaciones silvestres deberá estar a niveles bajos antes de la liberación de los insectos estériles. El nivel de población deseado es alcanzado mediante la utilización de métodos de supresión de poblaciones. Esto pudiera incluir: insecticida-cebo, estaciones cebo, prácticas de saneamiento de huertos, y agentes de control biológico incluyendo microorganismos entomopatógenos. Este manual tiene el propósito de contribuir al uso de moscas estériles como vectores de conidios de hongos entomopatógenos, para la supresión de moscas de la fruta en programas operacionales, así como los llamados dispositivos diseminadores de conidios de hongos entomopatógenos.

En este documento presenta una revisión de diferentes estudios que respaldan el uso de hongos entomopatógenos para la supresión de poblaciones de moscas de la fruta. Describe el proceso para caracterizar las cepas de hongos patogénicas, el proceso de inoculación de moscas estériles, el manejo de las moscas estériles utilizadas como vectores, recomendaciones sobre bioseguridad y la densidad de liberación de las moscas estériles inoculadas, así como la densidad de los dispositivos diseminadores. Se presenta la integración de la TIE con el Control Microbiano (CM), como componentes del manejo integrado en áreas amplias. El Oficial de la División Mixta FAO/OIEA responsable de la publicación fue Walther R. Enkerlin.

CONTENIDO

1.	Introducción.....	1
2	Marco teórico	1
3.	Características de hongos entomopatógenos	4
4.	Selección de cepas patogénicas	6
5	Moscas de la fruta estériles como vectores de conidios.....	10
6	Inoculación de moscas de la fruta y bioseguridad	11
7	Densidad de moscas estériles inoculadas para liberación aérea	14
8	Inoculación de moscas de la fruta en bolsas de papel o cajas PARC.....	15
9	Liberación terrestre	17
10	Control de calidad.....	17
11	Uso de dispositivos diseminadores de conidios	17
12	Monitoreo de la transmisión del hongo	20
13	Liberación terrestre e instalación de dispositivos diseminadores y trampas	20
14	Impacto del control microbiano	21
15	Control microbiano e inducción de esterilidad	24
16	Agradecimientos.....	27
17	Referencias	28
18	Apéndice 1	41

1. INTRODUCCION

Los hongos entomopatógenos han sido reportados como enemigos naturales efectivos de insectos plaga. En las moscas de la fruta, existe evidencia empírica de que algunas especies de hongos comunes son agentes eficaces de control biológico. El propósito de esta publicación es servir como una guía para la implementación del control microbiano mediante el uso de moscas de la fruta como vectores de conidios de hongos. Se describen dos métodos: uno es la inoculación directa de moscas de la fruta estériles con esporas y el otro es la autoinoculación de moscas de la fruta silvestres mediante dispositivos diseminadores de conidios. En ambos métodos, las moscas de la fruta se convierten en vectores o portadores de conidios que pueden transferirse a moscas silvestres no infectadas.

Presentamos una revisión de diferentes estudios que apoyan el uso de hongos entomopatógenos para suprimir las poblaciones de moscas de la fruta. Después de describimos el proceso para caracterizar las cepas de hongos. Para el proceso de inoculación, se dan recomendaciones de manejo de moscas y bioseguridad para reducir el riesgo de contaminación. Las densidades de liberación de moscas estériles inoculadas o la densidad de los dispositivos diseminadores se recomiendan para los programas operativos.

Finalmente, proponemos el uso integrado de la Técnica de Insectos Estériles (TIE) y el Control Microbiano (CM) como componentes de las estrategias de manejo en áreas amplias.

2. MARCO TEORICO

Los microorganismos que son patógenos de insectos representan una alternativa para ser utilizados como agentes de control biológico ([Mascarin & Jaronski 2016](#)). Además de la eficacia en función de los costos, los microorganismos son seguros para el medio ambiente, para la salud humana y para organismos no blanco. Los hongos *Microsporidium* son patógenos primarios que afectan de manera natural a insectos plaga, por lo que se pueden usar en la supresión de poblaciones de plagas, principalmente en condiciones donde las aplicaciones de insecticidas químicos son ineficaces o no son factibles ([Lacey & Kaya 2007](#)). Existe una tecnología disponible para el uso de entomopatógenos para el control de moscas de la fruta de importancia económica, dentro del enfoque del Manejo Integrado de Plagas en Áreas Amplias (MIP-AA) ([Maniania et al. 2006](#), [Maniania & Ekesi 2013](#), [Flores et al. 2013](#), [Toledo et al. 2017](#)).

Según estudios realizados en Argelia, Brasil, Canadá, Colombia, Costa Rica, España, Egipto, Ghana, Grecia, Guatemala, India, Indonesia, Mauricio, Italia, Marruecos, Kenia, México, Palestina, Pakistán, Tailandia y Sudáfrica. Los hongos *Beauveria bassiana* Bals. (Vuill.) y *Metarhizium anisopliae* Mestch. (Sorokin), son de las especies de entomopatógenos con mayor potencial para el control de la mosca de la fruta. Las especies de moscas de la fruta que han sido objeto de control microbiano son *Anastrepha ludens* (Loew), *A. obliqua* (Mcquart), *A. fraterculus* (Wiedemann), *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock, *B. dorsalis* (Hendel), *B. oleae* (Rossi), *B. zonata* (Saunders), *Ceratitis capitata* (Wiedemann), *C. fasciventris* (Bezzi), *C. cosyra* (Walker), *C. rose* Karsch, *Rhagoletis cerasi* L., *R. indifferens* (Curran) y *Zeugodacus cucurbitae* Drew & Hancock. Entre 2000 y 2018, se han realizado al menos 61 estudios de laboratorio, 8 en jaulas de campo y 13 en campo abierto. Se realizaron 50 estudios con *B. bassiana*, 21 con *M. anisopliae* y 9 con aislados de *B. pseudobassiana* (Bals. Vuill.), *M. brunneum* (Petch), *M. quizhouense* (Chen y Guo) o *Isaria fumosorosea* (Wize) (Ver Apéndice 1).

El manejo integrado de plagas (MIP) actual de las moscas de la fruta incluye las siguientes medidas: monitoreo de adultos con trampas, muestreo de frutos para el monitoreo de estados inmaduros, control químico con la aplicación de insecticidas cebo, prácticas culturales y mecánicas de saneamiento, control biológico basado en liberaciones de parasitoides (por ejemplo, *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead)) y la liberación de insectos estériles (Técnica de Insectos Estériles, TIE) (Gutiérrez 2010).

La cría masiva de moscas de la fruta en biofábricas para la aplicación de la TIE ha sido la base del MIP-AA en países como los Estados Unidos de América, México, Guatemala, Argentina, Perú y otros (Cáceres et al. 2000, 2014, Domínguez et al. 2010). La estrategia para el correcto funcionamiento de la TIE es liberar continuamente grandes cantidades de insectos estériles, de modo que la proporción entre las moscas estériles liberadas y las moscas silvestres es tal que la esterilidad es inducida en la población silvestre, lo que lleva a su reducción y, finalmente, a su erradicación (FAO/IAEA 2016). Sin embargo, en el caso de una alta densidad de plagas en el campo, para que la TIE sea rentable, la población de moscas silvestres debe reducirse a menudo con la aplicación de rociadores de cebo con insecticida (Liedo et al. 2010).

La aplicación de insecticidas como el malatión para el control de la mosca de la fruta, ya sea aérea o por tierra (Peck & McQuate 2000), puede causar efectos perjudiciales en el medio ambiente, incluida la mortalidad de organismos no blanco (Leach & Mumford 2008). El uso de compuestos más inocuos para el ambiente, como el Spinosad, en las aspersiones de cebo

podría representar una alternativa para evitar o minimizar estos efectos no deseados (USDA-APHIS 2000, Burns et al. 2001, Chueca et al. 2007).

En los programas de manejo de plagas en áreas amplias donde se utilizan estos compuestos amigables con el ambiente, se excluyen las áreas urbanas y suburbanas, las reservas ecológicas, las áreas protegidas y las cuencas de los lagos (Vargas et al. 2008). En el Programa de Control de la Mosca del Mediterráneo en Guatemala, las plantaciones de café asociadas con otros cultivos, o cuando el café está floreciendo, también se excluyen para la aplicación de cebos. Todas las áreas no asperjadas, representan reservorios potenciales para la plaga, de donde se originarán las infestaciones de la fruta. Eventualmente, en estas áreas, las poblaciones de plagas alcanzarán niveles altos que afectarán la proporción estéril a fértil y, por lo tanto, reducirán la efectividad de la TIE (Vargas et al. 2008).

El control microbiano (CM) que utiliza hongos entomopatógenos es amigable para el ambiente, inocuo para los humanos y una medida de control de plagas sostenible (Zimmermann 2007a). Cuando se usa en combinación con señuelos de la mosca de la fruta o insectos estériles, es muy específico. Por lo tanto, CM es un complemento ideal para otras herramientas de control (Butt et al. 2001).

Los hongos entomopatógenos representan una opción eficaz en el control de plagas en sistemas agrícolas convencionales y orgánicos (Lomer et al. 2001, Meyling & Eilenberg 2007, Flores et al. 2013). La viabilidad y la capacidad de transmisión del patógeno determinan el rango de propagación en el huésped, de acuerdo con el método de aplicación (Vega et al. 2000, Toledo et al. 2007, Quesada-Moraga et al. 2008). Los estudios sobre la viabilidad y patogenicidad de los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae*, y cómo aplicarlos en el campo, han contribuido al desarrollo de la tecnología de CM para las moscas de la fruta (Maniania 1991).

El CM se puede aplicar a través de insectos vectores y dispositivos diseminadores (Maniania 2002, Vega et al. 2000). Como vectores, los machos estériles de *C. capitata* inoculados con conidios de *B. bassiana* fueron liberados sobre áreas infestadas en Guatemala y se demostró su transmisión horizontal a adultos silvestres (Flores et al. 2013). También se demostró la transmisión horizontal, cuando se liberaron moscas estériles inoculadas en un brote de la mosca del Mediterráneo en el estado de Chiapas, México, adyacente a la frontera con Guatemala (A. Villaseñor, comunicación personal 2014). Por otro lado, se han desarrollado dispositivos diseminadores de conidios (autodiseminadores) para atraer e infectar insectos plaga para que luego contaminen a otros conoespecíficos (Vega et al. 2000, Dimbi et al. 2003a). La dispersión de conidios entomopatógenos mediante dispositivos

diseminadores e insectos vectores se han propuesto como alternativas para el control de moscas de la fruta (Toledo et al. 2007, Toledo-Hernández et al. 2016), así como en otros dípteros de importancia médica y veterinaria., como la mosca tsetse (*Glossina* sp.) (Maniania & Ekesi 2013).

3. CARACTERÍSTICAS DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Los hongos entomopatógenos son microorganismos asociados a insectos que se han utilizado como agentes de control biológico. Su clasificación taxonómica se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de los hongos entomopatógenos.

Reino:	Fungi
División:	Ascomycota
Clase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales
Familia:	Clavicipitaceae
Generos 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

Las especies de *Beauveria* forman conidióforos simples e irregulares que terminan en vértices en forma de agrupaciones, la célula conidiógena con la base globosa o abultamiento en un adelgazamiento en la parte superior forma un estigma en zigzag curvo (Barnett & Hunter 1972), aspecto polvoriento y de color blanco algodónoso o amarillo cremoso (Ferron 1981). *Beauveria bassiana* (Balsamo) forma conidios globosos o subglobosos de 2-3 × 2.0 a 2.5 μ, con conidióforos escasos, raramente en grupos compactos (Liu et al. 2001) (Figura 1).

Beauveria bassiana es un habitante natural del suelo, un parásito obligado de varias especies de insectos (Zimmermann 2007b). Los conidios o esporas del hongo penetran normalmente en la cutícula de los insectos, aunque pueden ingresar al sistema respiratorio por medio de espiráculos o por vía oral cuando se ingieren. Se alimentan de células de insectos, y su crecimiento micelial excreta toxinas que matan al insecto huésped. Las etapas

que los hongos desarrollan en sus hospedadores son: germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción. El inóculo o unidad infecciosa está constituido por las estructuras de reproducción sexual y asexual, es decir, esporas y conidias. El proceso infeccioso está descrito por [Hajek & St. Lefger \(1994\)](#), [Sandhu et al. \(2012\)](#), [Valero-Jimenez et al. \(2016\)](#). Además, los hongos entomopatógenos sintetizan toxinas que se utilizan en el ciclo de las relaciones patógeno-huésped. Entre estas toxinas se han encontrado dextruxinas, demetildextruxina y protodextruxina, que son sustancias con actividad tóxica en insectos, ácaros y nematodos ([Monzon 2001](#)).

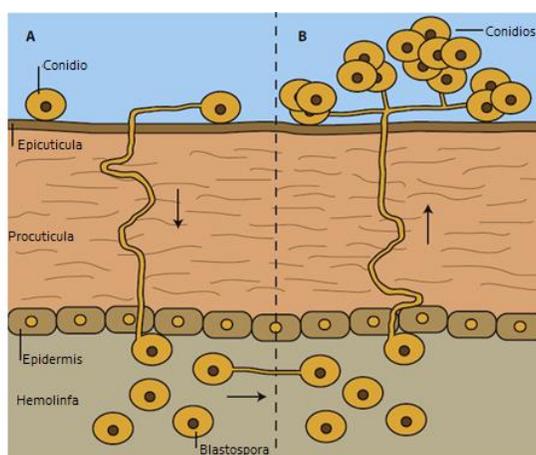


Figura 1. Corte transversal de cutícula de insecto con crecimiento estructural de *Beauveria bassiana* ([Valero-Jimenez et al. 2016](#))

Dado que los hongos entomopatógenos son organismos vivos, para su uso en programas de manejo de plagas, se deben entender los factores que promueven el desarrollo de una epizootia para predecir y manejar la dinámica de la interacción de plagas, patógenos y el medio ambiente. La patogenicidad de la cepa contra la plaga objetivo debe ser conocida, así como la cantidad de esporas requeridas para inducir una epizootia en el campo. La efectividad del control de plagas por entomopatógenos depende del contacto entre la plaga y el hongo, por lo que la calidad del producto aplicado es clave ([Wright et al. 2001](#)).

El control microbiano mediante el uso de hongos entomopatógenos requiere una producción establecida que suministre las esporas o conidias, en condiciones que garanticen su viabilidad (al menos seis meses). Los conidios se ven afectados por la luz, la humedad y las altas temperaturas; por lo tanto, una vez recolectado, el hongo debe

mantenerse refrigerado para preservar su viabilidad. Durante el proceso de producción, las pruebas de control de calidad garantizan el rendimiento, evitando la pérdida de materiales y reactivos ([Monzon 2001](#)).

4. SELECCION DE CEPAS PATOGENICAS

Para el control microbiano se recomienda el uso de cepas endémicas recolectadas en la misma región, debido a su adaptación al ambiente. La búsqueda en el campo de insectos infectados (Orthoptera, Diptera, Coleoptera) ha sido la base para recolectar y establecer poblaciones locales que se pueden mantener y multiplicar a pequeña escala en condiciones de laboratorio (baja producción) o laboratorios industriales ([Monzon 2001](#)).

Las cepas disponibles comercialmente tienen protocolos de producción estándar ([Toledo et al. 2017](#)). El Cuadro 2 presenta algunos productos comerciales basados en hongos entomopatógenos de diferentes partes del mundo que pueden evaluarse para usarse contra moscas de la fruta. Esta lista se proporciona como una guía. No representa recomendaciones específicas, o que otros productos no pueden ser utilizados. Se debe probar la eficacia de cualquier producto antes de aplicarlo.

Una vez que se ha definido la cepa del hongo, las pruebas deben llevarse a cabo con las especies objetivo de moscas de la fruta que se pueden obtener de frutas infestadas naturalmente. Si no son suficientes para la evaluación, se pueden usar adultos de una colonia de laboratorio o instalaciones de cría en masa (moscas de la fruta fértiles o estériles para la TIE).

4.1. Pruebas de Viabilidad

Como un producto proveniente de organismos vivos, la viabilidad de las esporas entomopatógenas disminuye cuando se almacenan durante mucho tiempo. Las altas temperaturas son el factor más importante que afecta la viabilidad de los hongos, por lo que deben almacenarse entre 4 y 8 °C ([Montesinos-Matías et al. 2015](#)). Se pueden mantener en condiciones ambientales durante cortos períodos de tiempo, en lugares frescos, evitando la exposición directa al sol.

Para la prueba de viabilidad de los conidios, se debe preparar una alícuota de 1×10^6 a 1×10^8 conidios / ml. La concentración de conidios en la suspensión se estima contando las esporas usando un hemocitómetro ([Inglis et al. 2012](#)). El método de inmovilización de agar o el método de recuento de placas se puede utilizar para evaluar la germinación de conidios. En el primer método, el área de un portaobjetos de microscopio está cubierta con medio de cultivo de agar papa dextrosa (APD) o Agar Dextrosa Saboraud (ADS) y se coloca una gota

de alícuota en el centro del portaobjetos. En el segundo método, la superficie del medio de cultivo APD o ADS en una caja de Petri se inocula en condiciones estériles con la alícuota. El portaobjetos o la placa de Petri con las muestras se incuban a 25 ± 2 °C y después de 15 h se revisan con un microscopio a 250×. La germinación se define como el punto en el cual la longitud del tubo germinal excedió el diámetro de la espora (Soylu et al. 2010). Una cepa es viable cuando tiene más de 90% de conidios germinados. La germinación de los conidios y la actividad del hongo se ven afectadas por factores como la radiación ultravioleta y la humedad ambiental. Los conidios mantenidos a temperatura ambiente pueden reducir su viabilidad después de 10 a 15 días, pero los conidios formulados (es decir, talco en polvo, diatomita) siguen siendo viables al menos 60 días. Un producto correctamente empaquetado y sellado protege a los conidios de la exposición a la luz solar y la penetración del agua. Además, la tierra o los aceites de diatomeas pueden aumentar la eficacia de los entomopatógenos (Luz et al. 2012).

4.2. Pruebas de patogenicidad y virulencia para moscas de la fruta

La caracterización y patogenicidad de las cepas de hongos se evalúan mediante bioensayos. Para las moscas de la fruta, el método de inmersión se usa comúnmente para inocular a los insectos. El primer paso es inmovilizar a los insectos mediante la exposición a temperaturas bajas (2 °C durante 5 minutos) o la aplicación de CO₂ u otro proceso que no afecte la supervivencia de la mosca. Los grupos de 20 a 50 moscas se sumergen en un tubo de ensayo que contiene 1 ml de suspensión fúngica de 1×10^6 a 1×10^8 conidios/ml y se agitan suavemente durante 30 segundos (Qazzaz et al. 2015). Posteriormente, las moscas se colocan en papel absorbente en placas de Petri para eliminar el exceso de humedad. Los insectos inoculados se clasifican en grupos de 20 moscas en jaulas de vidrio o plexiglás de 30 × 30 × 30 cm con agua y alimento y se mantienen a 25 ± 2 °C y 70 a 80% de humedad relativa, y un fotoperíodo de 12 h de luz: 12 h de oscuridad. Para el tratamiento testigo, los insectos se sumergen durante 30 s en agua destilada estéril. Las moscas muertas se retiran diariamente de las jaulas y se desinfectan inmediatamente en la superficie con una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 5 s, seguido de 3 enjuagues con agua destilada estéril. Finalmente, las moscas muertas se transfieren a una cámara de humedad (placa de Petri de vidrio con un filtro de papel húmedo y se sellan con Parafilm®) y se mantienen a 26 °C para promover el crecimiento del hongo y corroborar que la infección con el hongo fue la causa de la muerte (Wilson et al. 2017). El porcentaje de esporulación del lote de 100 insectos se calcula para cada cepa y para el control. Este procedimiento se repite al menos con cinco lotes diferentes. Cada lote puede considerarse como una repetición para el análisis estadístico.

Cuadro 2. Productos comerciales basados en hongos entomopatógenos.

Nombre comercia	Hongo	País
A TEC Beauveria	<i>Beauveria bassiana</i>	India
Balence	<i>Beauveria bassiana</i>	EUA
Bioblast	<i>Metarhizium anisopliae</i>	EUA
Bb Plus	<i>Beauveria bassiana</i>	Sudafrica
Betel	<i>Beauveria brongniartii</i>	Francia
Bibisav-2	<i>Beauveria bassiana</i>	Cuba
BioAct WG	<i>Isaria fumosoroseus</i>	Alemania
Bio-Green Granules	<i>Metarhizium flavoviridae</i>	Australia
Bio-Cane Granules	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Australia
Biogrubex	<i>Beauveria bassiana</i>	India
Biolarvex	<i>Beauveria bassiana</i>	India
Bioline	<i>Lecanicillium lecanii</i>	India
Bio-power	<i>Beauveria bassiana</i>	India
Biomagic	<i>Metarhizium anisopliae</i>	India
Biosappex	<i>Lecanicillium lecanii</i>	India
Biovert Rich	<i>Lecanicillium lecanii</i>	India
Botanigard	<i>Beauveria bassiana</i>	EUA
Boveril PL63	<i>Beauveria bassiana</i>	Brasil
Boverin	<i>Beauveria bassiana</i>	Ucraina
Engerlingspilz	<i>Beauveria brongniartii</i>	Suiza
Green Muscle	<i>Metarhizium flavoviridae</i>	Francia
Green Guard	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Australia
Met-52	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Dinamarca
Myc-Jaal	<i>Beauveria bassiana</i>	India
Mycotrol	<i>Beauveria bassiana</i>	EUA
Naturalis-L	<i>Beauveria bassiana</i>	EUA
Ostrinil	<i>Beauveria bassiana</i>	Francia
PFR-97	<i>Isaria fumosoroseus</i>	EUA
Preferal WG	<i>Isaria fumosorosea</i>	Belgica
Vertalec	<i>Lecanicillium longisporum</i>	Japón
Bea-Sin	<i>Beauveria bassiana</i>	México
Pae-Sin	<i>Isaria fumosoroseus</i>	México
Meta-Sin	<i>Metarhizium anisopliae</i>	México
Beauvedieca	<i>Beauveria bassiana</i>	Costa Rica, Panamá
Bazam	<i>Beauveria bassiana</i>	Honduras
Agro nova	<i>Beauveria bassiana</i>	Colombia
Baubassil	<i>Beauveria bassiana</i>	Colombia
Beauveril	<i>Beauveria bassiana</i>	Colombia

Tomado de [Mishra et al. \(2015\)](#), [Zimmermann \(2007b, 2008\)](#), [De Faria et al. \(2007\)](#), [Ramanujan et al. \(2014\)](#), [Kabalouk et al. \(2010\)](#), [Maina et al. \(2018\)](#), [Mascarin & Jaronski \(2016\)](#). Esta lista se proporciona como una guía. No representa recomendaciones específicas, o que otros productos no pueden ser utilizados. Se debe probar la eficacia de cualquier producto antes de aplicarlo.

La virulencia está representada por el Tiempo letal medio (TL₅₀) o por el Tiempo de supervivencia promedio (TSP). El porcentaje de esporulación se somete a un análisis Probit

(Finney 1952) a partir del cual se estima el TL_{50} . Se aplica un análisis de Log-Rank a los datos de esporulación por día para obtener el TSP. La virulencia en diferentes lotes de moscas puede usarse como una repetición para comparar entre diferentes cepas de hongos.

4.3. Determinación de la concentración letal media (CL_{50})

La relación dosis-mortalidad se determina para la cepa que mostró la mayor virulencia contra las moscas de la fruta. Las concentraciones a evaluar pueden variar de 10^4 a 10^8 conidios/ml más un testigo. Las moscas se sumergen durante 30 s en suspensión de hongos siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Sobre la base de la formulación inicial del hongo, la concentración debe expresarse en conidios/ml o conidios/moscas. El número de conidios por mosca se calcula dividiendo el total de conidios en la solución entre el número de moscas inoculadas. De cada lote de moscas, se tratan 100 insectos con cada concentración y se colocan en cinco recipientes de plástico de 2 litros (20 insectos cada uno). Durante 20 días, se registra la mortalidad diaria. Los insectos muertos se desinfectan y se colocan en cámaras húmedas para estimular el crecimiento del micelio y confirmar que la muerte fue causada por la infección del hongo (como se indica anteriormente en 4.2). Para cada concentración y para el control, se calcula el porcentaje de esporulación. El porcentaje se corrige por medio de la fórmula de Abbott (Abbott 1925), después de lo cual la CL_{50} se estima mediante el análisis Probit. Este procedimiento debe repetirse con al menos cinco lotes de moscas, y las concentraciones letales de cada réplica se pueden usar para comparaciones estadísticas.

4.4. Caracterización de cepas

La virulencia de cada cepa de hongos se determina por el tiempo letal medio (TL_{50}) (De la Rosa et al. 2002) y dependerá del insecto del que se aisló la cepa y la susceptibilidad del insecto donde se evaluó (Hajek & St. Leger 1994). Las diferencias entre las cepas o las poblaciones de insectos pueden deberse a las asociaciones de patógenos y huéspedes (Lecuona et al. 1996). Muñoz et al. (2009) evaluaron 16 cepas de *B. bassiana* contra *C. capitata* que indujeron mortalidades de 12.9 a 91.2% y tiempos letales de 3.83 a 17.64 días. De la Rosa et al. (2002) reportaron mortalidades de 82 a 100% y tiempos letales de 2.82 a 5.99 días al evaluar siete cepas de *B. bassiana* contra *A. ludens*. Lezama-Gutiérrez et al. (2000) reportaron mortalidades mayores de 83.7% con *M. anisopliae* contra *A. ludens*, y Hernández-Díaz-Ordaz et al. (2010) informaron de mortalidades de 89.8 a 99.8% evaluando dos cepas de *B. bassiana* y una de *M. anisopliae* contra adultos de *A. obliqua*. Osorio-Fajardo & Canal (2011) informaron sobre dos cepas de *B. bassiana* y una de *M. anisopliae* con tiempos letales medios de 42.7, 48.1 y 56 horas, respectivamente, contra *A. obliqua* y CL_{50}

de 1.81×10^6 - 2.38×10^6 conidios/ml. [Quesada-Moraga et al. \(2006\)](#) reportaron valores de CL_{50} frente a *C. capitata* de 1×10^6 y 5.4×10^7 conidios / ml con *B. bassiana*.

[Toledo et al. \(2007\)](#) evaluaron dos cepas de *B. bassiana* en *A. ludens*: la cepa JLSV (Junta Local de Sanidad Vegetal) a 1.0×10^8 conidios/ml produjo una mortalidad del 98.7% con TL_{50} de 4.20 días y CL_{50} de 9.35×10^5 . El producto de la cepa Bassianil® (Biotropic SA de CV, México) causó una mortalidad del 99.3% con TL_{50} de 4.04 días y CL_{50} de 2.69×10^7 conidios / ml. Contra *C. capitata* valores de CL_{50} de 6.86×10^7 , 4.20×10^7 y 8.22×10^7 conidios/ml, y TL_{50} de 3.8, 4.10 y 4.2 días se reportaron para las cepas Bb-ET, GHA y Bb-AES de *B. bassiana*, respectivamente ([Toledo et al. 2007](#)). En Tailandia, se evaluaron varias cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* frente a adultos de *B. dorsalis*, los resultados indicaron que la cepa más virulenta produjo una mortalidad del 68% y una CL_{50} de 7.36×10^7 conidios/ml ([Aemprapa 2007](#)).

4.5. Importancia de la CL_{50} y del TL_{50}

La CL_{50} y la TL_{50} son parámetros cruciales en la aplicación de CM contra moscas de la fruta. La CL_{50} muestra la concentración aproximada del inóculo, de modo que los vectores de insectos o los dispositivos diseminadores pueden transmitir los conidios durante la interacción con otros individuos. El TL_{50} indica el tiempo letal medio desde la exposición del patógeno hasta la muerte de una mosca infectada. Aunque las moscas se enferman gradualmente, es deseable que la muerte ocurra alrededor de cuatro días después de la infección. Durante este tiempo, las moscas de la fruta pueden dispersar el inóculo que se adhiere a sus cuerpos a otras moscas sanas mediante interacciones sociales, durante al menos tres días. Por lo tanto, se recomendará una cepa de *B. bassiana* con un TL_{50} de cuatro días.

5. MOSCAS DE LA FRUTA ESTERILES COMO VECTORES DE CONIDIOS

El comportamiento sexual de las moscas de la fruta y el tiempo requerido para que las moscas de la fruta inoculadas con hongos entomopatógenos como *B. bassiana* alcancen la TL_{50} , hacen que las moscas estériles sean buenas candidatas para vectores de entomopatógenos para uso en control biológico. Por lo tanto, los programas que aplican la técnica de insectos estériles (TIE) tienen un gran potencial para usar CM. La tecnología desarrollada para la liberación de moscas estériles enfriadas facilita el proceso de inoculación de los conidios del entomopatógeno, convirtiendo a las moscas estériles en portadores del hongo. En el caso del uso de estaciones de cebo inoculadas con conidios (dispositivos diseminadores), también las moscas estériles liberadas no inoculadas se convertirán en vectores del hongo cuando entren en contacto con la estación de cebo. El

comportamiento sexual de los machos de la mosca de la fruta, formando leks específicos para atraer a las hembras, facilita la diseminación de las esporas de hongos entre individuos sanos y fértiles, lo que resulta en una transmisión horizontal y un efecto multiplicativo exponencial del CM.

6. INOCULACION DE MOSCAS DE LA FRUTA Y BIOSEGURIDAD

En las instalaciones de cría en masa de moscas de la fruta, las pupas se marcan con polvo de color fluorescente (Day-Glo Color, Cleveland, OH), se esterilizan con radiación gamma y se envían a los centros de empaque y liberación. Aquí, los adultos estériles que emergieron son retenidos y alimentados hasta alcanzar la maduración sexual antes de la liberación en el campo. Los procedimientos se describen en el Manual de Control de Autocida ([Programa Moscamed 2015](#)) y en la Guía para el empaque, envío y liberación de moscas estériles ([FAO/IAEA 2017](#)).

Se recomienda que las pupas de moscas que se utilizarán para el CM se puedan marcar con un color diferente para ser diferenciadas de las moscas utilizadas en las operaciones TIE regulares. Las moscas estériles se enfrían a 2-5 °C durante 30 a 60 minutos dependiendo del volumen, para inmovilizarlas y colectarlas en recipientes de plástico. En este paso se inoculan las moscas estériles.

6.1. Procedimientos de bioseguridad

Los procedimientos de bioseguridad se dividen en ocho pasos.

Primero. El personal involucrado en la actividad de inoculación debe usar equipo de seguridad como overoles o batas, guantes de látex, máscara facial con filtros de polvo.

Segundo. Prepare las dosis de conidios antes que la pupa estéril arribe al centro de empaque y liberación. Las dosis deben prepararse fuera de la instalación. Los conidios se colocarán en frascos con tapones de rosca. La dosis recomendada para inocular moscas de la fruta de *C. capitata* es de 8 g de polvo (aproximadamente 1.6×10^{10} conidios) por kilogramo de moscas estériles ($\approx 150,000$ moscas) ([Flores et al. 2013](#), [Toledo et al. 2017](#)). Para otras especies de insectos o dependiendo de la patogenicidad de la cepa utilizada y de la concentración de conidios, esta dosis se puede usar como una línea de base para determinar la cantidad adecuada de formulado (conidios e inertes) que permite a los adultos inoculados funcionar como vectores del entomopatógeno.

Tercero. Las moscas enfriadas se inoculan utilizando un dispositivo eléctrico equipado con un compresor de aire, un recipiente para conidios y una manguera (Figura 2a y b). El

dispositivo cuenta con un embudo para colocar las moscas en la caja PARC. Una compuerta en la parte inferior del embudo permite sellar la caja PARC durante la aplicación de los conidios. La manguera pasa a través del contenedor de conidios y lleva el polvo a una caja PARC que contiene las moscas estériles. La presión de la bomba se ajusta a 4.22 Kg/m^2 (60 lb/pulg^2), y se determina el tiempo para aplicar la dosis requerida. En el caso de la mosca del Mediterráneo, para aplicar cada dosis de 8 g de conidio por Kg de mosca, se inyecta aire durante 16 segundos. Cada caja PARC debe contener un máximo de 5 kg de moscas, por lo que el tiempo de inyección de aire deberá ser de 80 s. La caja PARC cerrada con una tapa en la entrada del tubo o embudo colector, soporta la inyección de aire con un escape mínimo de conidios. Este equipo permite inocular a los insectos lo suficientemente rápido como para evitar un aumento significativo del tiempo en la sala de refrigeración, tanto para el personal como para las moscas estériles inoculadas. El equipo es un prototipo que debe mejorarse para uniformizar la distribución del conidio y también reducir el escape del conidio y la exposición del personal.



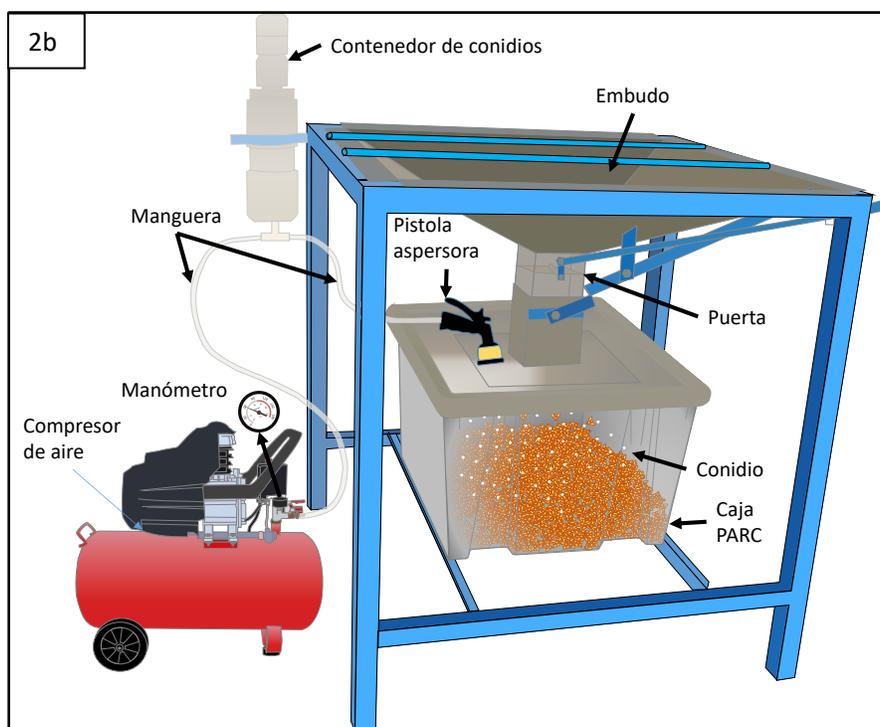


Figura 2a y b. Equipo de inoculación empleado por el Programa Moscamed, México para la inoculación de *Ceratitis capitata* con conidios de *Beauveria bassiana*.

Por otro lado, para liberaciones terrestres, las moscas estériles se empaican en cajas PARC o bolsas de papel Kraft. En ambos casos, se utiliza un aspersora de polvos manual (mata formiga light duster, industrias Guarany, Brasil). El tanque es llenado con el formulado de conidios y se inserta una manguera de goma en un agujero en una bolsa de papel o en una caja de plástico tipo PARC herméticamente cerrada para evitar la fuga de conidios. Cada bombeo del aspersor es equivalente a 0.5 g de polvo (i.e. 1×10^9 conidios para fórmula de *B. bassiana*) (Figura 3).

Cuarto. Las botellas con las dosis de hongos, las cajas, cualquier otro recipiente y el equipo utilizado para la inoculación deben estar claramente etiquetados como "Uso exclusivo para el proceso de inoculación". Todos estos equipos y materiales deben almacenarse y guardarse en salas separadas de las que se utilizarán para la liberación de moscas estériles destinadas a aplicar la TIE.

Quinto. Para minimizar el riesgo de contaminación, se recomienda que solo se asigne una sala de refrigeración para la inoculación con hongos entomopatógenos. La habitación debe estar claramente etiquetada en el exterior "Sala de inoculación". Cuando se inoculan las

moscas estériles, el contenedor con las moscas (es decir, la caja PARC) debe rotarse suavemente para permitir una distribución uniforme de los conidios.

Sexto. Antes de abrir las cajas PARC (con las moscas estériles inoculadas), es necesario esperar 5 minutos para que se disipe el polvo. Después de eso, las moscas inoculadas se transfieren a una caja de liberación y se montan en la máquina liberadora en el avión. Las cajas de liberación con moscas inoculadas deben estar claramente etiquetadas.

Séptimo. Después de la inoculación, la ropa y el equipo de protección personal del personal, y todos los utensilios, recipientes, equipos deben lavarse a fondo con agua a alta presión, desinfectarse con una solución a base de cloro, luego secarse, ventilarse y exponerse a la luz solar. El piso de la sala de enfriamiento debe lavarse a fondo con agua a alta presión y desinfectarse con cloro. Además, se recomienda la instalación de lámparas de luz UV en la sala que permanecerán encendidas durante cuatro horas después de la inoculación. Esto permitirá inactivar los conidios libres en el área de trabajo.

Octavo. Una vez finalizada la liberación de moscas estériles inoculadas, las cajas y las máquinas de liberación y el tubo de salida de la aeronave deben lavarse con agua a alta presión, secarse y exponerse a la luz solar durante al menos una hora para desactivar cualquier conidio remanente.

7. DENSIDAD DE MOSCAS ESTERILES INOCULADAS PARA LIBERACIONES AEREAS

En algunos casos, la investigación empírica sobre moscas de la fruta ha demostrado que son necesarias relaciones estériles a fértiles iguales o superiores a 60: 1 para lograr la supresión ([Rendon et al. 2004](#), [Shelly et al. 2005](#), [Shelly & McInnis 2016](#)). Para esto, la población silvestre debe estar en baja densidad. Estas bajas densidades de población silvestre (iguales o inferiores a 0.01 moscas por trampa y día) pueden alcanzarse mediante la aplicación de métodos de supresión tales como aspersiones aéreas o terrestres de cebo tóxicos, estaciones de cebo (trampeo masivo), control biológico y control mecánico (destrucción de frutos) ([FAO/IAEA 2017](#)). El uso de moscas estériles inoculadas con conidios de hongos entomopatógenos como *B. bassiana* se puede agregar a la lista de métodos efectivos para lograr la supresión de la población.

El procedimiento para calibrar el equipo de liberación para ajustar la densidad de las moscas estériles inoculadas es el mismo que se utiliza para las moscas estériles no inoculadas. La densidad de liberación inicial de las moscas estériles inoculadas dependerá de la densidad de la población silvestre, expresada como MTD ([FAO/IAEA 2017](#)).

Para la mosca del Mediterráneo, en áreas de supresión, una proporción E: F de 25-100: 1 es adecuada. Esta relación dependerá de las condiciones agroecológicas en el área. Los valores más bajos (25: 1) pueden emplearse en áreas con baja densidad de huéspedes, y los valores más altos (100: 1) pueden ser requeridos en áreas con alta densidad de huéspedes como en el cultivo de café. En áreas donde la proporción E: F no es adecuada para la TIE, se debe implementar un método de supresión de la población ([SENASICA-SAGARPA 2015](#), [FAO / IAEA 2017](#)). Por tanto, se puede usar CM, ya que las moscas estériles inoculadas podrán ejercer el efecto de supresión sobre la plaga, hasta alcanzar el MTD silvestre deseado. En los programas de área amplia con disponibilidad continua de hospedantes, los bloques de liberación aérea deben tener un mínimo de 1 000 ha para trazar fácilmente las líneas de vuelo. En programas de menor escala, o en puntos calientes (hot spots), la liberación de moscas estériles inoculadas debe dirigirse al área objetivo.

Considerando que Shelly et al. (2015) reportan una esterilidad de 84% con una relación estéril fértil de 10:1, y que 60:1 solo incrementa la esterilidad a 90%, en este rango de la relación estéril: fértil se podría lograr la supresión de la plaga. Para propósitos de erradicación, se requeriría una relación mayor. Consideramos que para la liberación de moscas estériles inoculadas (Ei), una proporción E: F de al menos 10: 1 podría ser suficiente, ya que el objetivo de la CM es introducir el inóculo de hongos entomopatógenos en la población silvestre, de modo que a través de la transmisión horizontal y su efecto multiplicador, se puede lograr la supresión de plagas.

En el caso de la mosca de la fruta del Mediterráneo, ya que el TL_{50} de 4 días en las moscas estériles inoculadas, la densidad de liberación debe ajustarse cada semana hasta que el MTD de la plaga disminuya a niveles en los que la TIE puede ser eficaz, en ciertos casos, un MTD de 0.01 podría ser necesario. Para la estrategia de supresión, debe programarse un período continuo de liberación de moscas estériles inoculadas durante al menos tres generaciones de plagas (aproximadamente doce semanas).

8. INOCULACION DE MOSCAS DE LA FRUTA EN BOLSA DE PAPEL O CAJA PARC

Las pupas de moscas estériles para CM y liberación terrestre deben estar marcadas con polvo fluorescente de color diferente al utilizado para la liberación aérea en la TIE. Para la emergencia de la mosca, se utilizan bolsas rectangulares de papel Kraft No. 20 (9 × 21 × 12 cm) más una tira de papel como área de reposo (100 × 20 cm). Los alimentos se suministran con una tira de papel de 30 × 20 cm impregnada con una mezcla de 4% de proteína hidrolizada y 96% de azúcar (6,270 cm² de superficie interna). Cada bolsa debe contener 12,540 moscas estériles (2 moscas/cm²) para especies con tamaños de pupa entre 3-8 mg

y 6,250 (1 moscas/cm²) para especies con pupas de 9-12 mg. Las bolsas se cierran o se atan con una banda elástica para evitar el escape de las moscas. Las bolsas se colocan en la sala de emergencias a 23 ± 1 °C durante 4 días (FAO / IAEA 2017).

Para el empaque en cajas de PARC, las pupas se distribuyen en 6 bolsas de papel y se colocan cuatro tiras de papel de 45 × 24 cm, de modo que la superficie interior total de la caja sea de 29,000 cm² para contener 2 moscas/cm² para pupas de 3-5 mg o 1 mosca/cm² para pupas de 9-12 mg (SENASICA-SAGARPA 2015). Para alimentar a las moscas, las tiras de papel se impregnan con alimentos preparados como se describe anteriormente. Las liberaciones terrestres son menos recomendables porque la distribución no es uniforme (FAO/IAEA 2017).

El día programado para la liberación en el campo, las moscas son inoculadas con conidios del hongo. La inoculación se realiza con un aspersor de polvo manual de un kilogramo. El contenedor en la parte inferior de la bomba se llena con la cantidad de formulado de conidios que se aplicará en un día, considerando 0.8 g por bolsa o 3.2 g por caja de PARC (para un formulado de *B. bassiana* con una concentración de 2 × 10⁹ conidios por g). Antes de la inoculación, se debe calibrar el aspersor, para saber la cantidad de formulado que es liberado por bombeo. Cuando se opera el pistón de la bomba, el aire empuja el polvo a través de una manguera de goma. La calibración se realiza mediante la recolección del polvo bombeado en un recipiente cerrado, y el conidio expulsado se pesa. Para inocular, la manguera de goma se inserta a través de un agujero en la bolsa o en la caja PARC, a través de la cual se aplica el conidio. El agujero es cubierto con papel adhesivo en las bolsas y un tapón de goma en las cajas, antes y después de la inoculación (Figura 3).



Figura 3. Inoculación de moscas del Mediterráneo con un aspersor ligero "mata formiga" (Industrias de Guarany, Brasil) en cajas de PARC y liberación de moscas inoculadas.

9. LIBERACION TERRESTRE

En el área infestada, los puntos de liberación se establecen con un GPS. Los puntos georeferenciados son registrados para facilitar la actividad. La densidad liberada se designa por el número de moscas voladoras que se obtiene de cada bolsa o caja.

El transporte de las bolsas o cajas con moscas inoculadas se debe hacer temprano en la mañana en un vehículo con camper para protegerse de la lluvia o el sol y comenzar la liberación cuando ya haya luz solar. Las moscas inoculadas no deben exponerse directamente a la luz solar para evitar afectar la viabilidad del hongo. La liberación de las moscas debe hacerse en cada punto seleccionado abriendo y rasgando las bolsas o cajas para que las moscas salgan volando. A bajas temperaturas, las moscas tardarán más tiempo en volar, se recomienda quitar el papel que se colocó dentro y agitarlo para liberar todas las moscas en el campo. El pupario vacío se puede dejar en el campo, ya que se trata de materia orgánica que se degradará. Si se prefiere, puede llevarse a un lugar para desechos orgánicos.

10. CONTROL DE CALIDAD

Una bolsa de moscas estériles de cada lote que se libere se dejará en el centro de empaque para determinar la capacidad de vuelo. Esta prueba se realizará después de 45 minutos de apertura para que las moscas se vayan. El porcentaje de moscas voladoras absolutas se calculará como un porcentaje de pérdida de peso en la bolsa como se describe en el manual de control de calidad ([FAO/IAEA/USDA 2014](#)).

Para corroborar la patogenicidad del hongo en las moscas inoculadas antes de la liberación, se tomarán tres muestras de 20 moscas. Estas moscas se colocan en jaulas de plexiglás de 30 × 30 × 30 cm con agua y alimento. La mortalidad diaria se registrará durante 20 días consecutivos. Las moscas muertas se colocarán en papel absorbente, se separarán 2 cm entre ellas y se colocarán en placas de Petri para formar una cámara húmeda. Las cajas se mantienen a 25 °C durante 5 días (tiempo suficiente para que los hongos se observen sobre las moscas muertas). De esta manera se determina si la causa de la muerte es la infección del hongo o no. Se recomienda tener un control de moscas estériles no inoculadas del mismo lote.

11. USO DE DISEMINADORES DE CONIDIOS

El uso de estaciones de cebo para atraer e infectar moscas de la fruta con un hongo entomopatógeno es un método alternativo donde la infraestructura de producción masiva de moscas estériles no está disponible o no desea utilizar moscas estériles como portadores (Toledo et al. 2017).

Los dos componentes principales de una estación de infección son: el dispositivo debe estar cubierto con un material absorbente para el polvo y los conidios, y debe contener un producto sexual o atrayente de alimentos con alta durabilidad y baja tasa de liberación. Pueden emplearse atrayentes para machos como Trimedlure para la mayoría de las especies del género *Ceratitis* spp., Metil eugenol para *B. dorsalis* y especies relacionadas, o Cuelure para *Z. cucurbitae* y especies relacionadas. Para *Anastrepha* spp. Atrayentes alimentarios, tales como proteínas hidrolizadas, proteínas enzimáticas y atrayentes sintéticos. El uso de estos dispositivos es una estrategia de "atracción e infección" dado que el diseminador está cebado con atrayentes específicos, ya sean sexuales, alimentarios o visuales (Navarro-Llopis et al. 2015).

Actualmente, el Programa Regional Moscamed (México-Guatemala-Estados Unidos de Norte América) ha desarrollado dos estaciones de cebo para diseminar conidios de *B. bassiana* para el control de poblaciones silvestres de *C. capitata*. El dispositivo cilíndrico es un recipiente de plástico de 14.0 cm de alto × 8.5 cm de diámetro, 500 ml (tereftalato de polietileno) con quince orificios de 2.5 mm distribuidos uniformemente en la pared, una tapa que contiene cuatro aberturas triangulares de 1.5 mm en cada lado y un fondo abierto. El recipiente con el plug de TML se coloca dentro del dispositivo que cuelga de la parte superior. La tapa y el fondo están cubiertos con tela de tul y la parte exterior del dispositivo está cubierta con felpa amarilla (14 cm × 22 cm) donde se aplican 2 g de formulado con un contenido de 2×10^9 conidios de *B. bassiana* (Figura 4a).

El segundo diseño es un panel rectangular de 23 cm × 14 cm con un recipiente para colocar un plug de TML de 2 g insertado en un orificio de 2.5 en el centro del panel. También se cubre con felpa amarilla (23 cm × 14 cm) donde se colocan 2 g de fórmula de conidios (Figura 4b).

Para la diseminación homogénea de conidios en áreas con *C. capitata*, se debe instalar una estación de infección por hectárea y la felpa con conidios debe reemplazarse cada 15 días (Flores et al. 2013).

El uso de dispositivos de diseminación bajo el concepto de "estaciones de infección" es para eliminar la plaga o reducir los niveles de la población de plagas para el desempeño efectivo de la TIE. En un proyecto piloto para el control de la mosca del Mediterráneo, los valores de

esporulación de las moscas silvestres fueron 57.3, 44.7 y 44.3% para los tratamientos con portadores de moscas estériles, dispositivos de panel y dispositivos cilíndricos (un dispositivo diseminador por ha), respectivamente. La supresión de la población silvestre fue en promedio del 90% al final de los tres meses (Toledo et al. 2017).



Figura 4. Dispositivos diseminadores cilíndricos (a) de panel rectangular (b).

Los dispositivos diseminadores tienen varias ventajas: 1) proporcionan protección contra los rayos ultravioleta para los hongos entomopatógenos, lo que aumenta la viabilidad de los conidios durante más tiempo; 2) aumentar la especificidad a la plaga objetivo cuando se incorpora un cebo específico; 3) bajo costo, fácil de elaborar y mantener, 4) la cantidad de inóculo utilizada en los dispositivos es mucho menor en comparación con la cantidad utilizada para pulverizaciones para otras plagas (i.e. 2 g de formulado de *B. bassiana* por ha con diseminadores para el control de la mosca del Mediterráneo, en comparación con 250 g del formulado por ha para el control de la broca del café) y 5) los insectos infectados propagan el patógeno durante las interacciones con otros individuos de la misma especie (Vega et al. 2000).

Usando dispositivos de autodiseminadores de conidios de *M. anisopliae*, la población de la mosca tsetsé se redujo en ~82%, lo que indica que la dispersión del patógeno mantuvo una baja densidad de plagas (Maniania et al. 2006)

El uso de dispositivos autodiseminador es cada vez más frecuente debido a su efectividad. [Klein & Lacey \(1999\)](#) reportaron 95% de infección en *Popilia japonica* Newman por un diseminador de conidios de *M. anisopliae*. [Maniania \(2002\)](#) informó una infección del 100% de *M. anisopliae* en *Glossina fuscipes fuscipes* Newstead, aplicado en un dispositivo hecho con un recipiente de plástico de un litro de capacidad equipado con un mosquitero con una cubierta de lana para favorecer la contaminación de la superficie de escape de las moscas. La adición de un atrayente sexual para machos o un atrayente alimenticio en el dispositivo hace que la transmisión de patógenos sea más efectiva ([Vega et al. 2007](#)).

La estrategia de dispersión de conidios de hongos entomopatógenos con dispositivos diseminadores es simple, económica y efectiva, por lo que se ha propuesto aplicarla para el control de otras especies de moscas de la fruta y la mosca tse-tsé (*Glossinia* sp.) ([Maniania & Ekesi 2013](#)).

12. MONITOREO DE LA TRANSMISION DE HONGOS

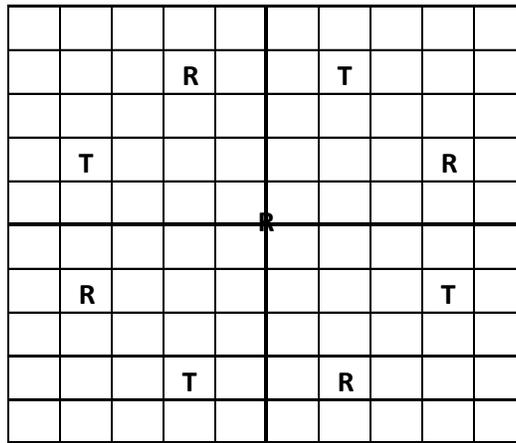
Las trampas y atrayentes utilizados en la vigilancia de moscas de la fruta también se usan para monitorear las moscas estériles liberadas para la TIE y las moscas estériles liberadas para CM. En los programas operativos de área amplia, la densidad mínima es una trampa por 50 ha (2 trampas / km²) cuando se usa un atrayente para machos y dos trampas por 50 ha (4 trampas / km²) cuando es un atrayente alimenticio. En los huertos, se puede usar al menos 1 trampa por 10 ha, hasta 1 trampa/ha. La ubicación de las trampas debe estar georreferenciada para facilitar la operación y el manejo de la información ([FAO/IAEA 2018](#)).

13. LIBERACION TERRESTRE E INSTALACION DE DISPOSITIVOS DISEMINADORES Y TRAMPAS

En los huertos frutales, los puntos de liberación del terreno de la mosca estéril deben distribuirse uniformemente entre las trampas, colocando los puntos de liberación a la distancia aproximada de la dispersión natural de la mosca. Un buen ejemplo podría ser poner cinco puntos de liberación respecto de las cuatro trampas por kilómetro cuadrado (Figura 4). En áreas con una distribución irregular de árboles hospedantes, el número de trampas y puntos de liberación, así como la distancia entre los puntos de liberación, serán una función de la distribución y densidad de los árboles hospedantes en el área de interés, siempre considerando la distancia de dispersión de las moscas estériles liberadas. Este rango de dispersión de 100 a 800 m es para adultos estériles de diferentes especies de moscas de la fruta ([Weldon et al. 2014](#)).

En áreas bajo supresión de la población, los principales reservorios de la plaga con superficies pequeñas a medianas (1-50 ha) pueden controlarse utilizando estaciones de

cebo para atraer e infectar machos silvestres para diseminar los conidios de entomopatógenos. En estas áreas pequeñas, se debe instalar al menos un dispositivo. Se recomienda intercalar diseminadores con las trampas, siguiendo el modelo de la Figura 5.



T= Trampa R= Punto de Liberación

Figura 5. Modelo de distribución de cuatro trampas y cinco puntos de liberación terrestre para el control microbiano de moscas de la fruta (1 km²). Cada cuadrado pequeño representa 1 ha (100 x 100 m).

14. IMPACTO DEL CONTROL MICROBIANO

Las moscas capturadas en trampas inspeccionadas se separan según el color con que fueron marcadas y se colocan en cámaras húmedas (placas de Petri con papel absorbente saturado con agua destilada estéril). Las moscas marcadas con el color para las moscas estériles inoculadas, las moscas marcadas con el color para la TIE, las moscas no marcadas que se diagnostican como estériles y las moscas silvestres sin marcar. Las placas de Petri deben colocarse a 25 ° C para promover el crecimiento del hongo durante 5 días. En el sexto día se verifica la presencia del hongo mediante observaciones con un microscopio estereoscópico. A partir de esta observación, se estima el porcentaje de transmisión, basado en el número de moscas silvestres esporuladas (Figura 6).



Figura 6. (Izquierda) Manejo de moscas capturadas en las trampas, (centro) cámara húmeda con moscas capturadas y (derecha) adultos de *C. capitata* con crecimiento de micelio.

La transmisión horizontal del entomopatógeno a individuos de la población silvestre debe cuantificarse en ambos sexos, aunque la captura de moscas está influenciada por el tipo de trampa utilizada durante el monitoreo. Por lo tanto, se recomienda instalar trampas con atrayentes alimenticios para ambos sexos y atrayentes sexuales para machos.

Los valores de MTD para las moscas estériles inoculadas, con respecto al MTD de las moscas silvestres infectadas y no infectadas, nos proporcionarán la relación entre ellas, lo que servirá para tomar decisiones sobre las estrategias operativas con respecto al CM.

Los porcentajes de distribución, medidos como la cantidad y el porcentaje de trampas con moscas capturadas de cada grupo (moscas estériles inoculadas y moscas silvestres infectadas y no infectadas) también nos brindarán información sobre cómo está funcionando la estrategia operativa.

Cuadro 3. Índices de evaluación por trampeo, densidad y distribución de moscas del Mediterráneo estériles y su relación con moscas del mediterráneo silvestres infectadas con *Beauveria bassiana* en dispositivos de autoinoculación en la finca de café San Isidro Chacaya, Guatemala.

Semana	MTD estéril	MTD fértil	Razón E:F	MTD Estéril inoculado	MTD Fértil infectado	Razón E:F infectado	MTD estéril no infectado	MTD fértil no-infectado	Razón E:F No-infectado	Total de Trampas con captura (%)	Trampas con estéril inoculadas (%)	Trampas con fértiles infectadas (%)
7	0.3	0.0	11	0.3	0.0	9	0.1	0.0	0	60	20	0
8	0.6	0.1	7	0.2	0.1	4	0.4	0.0	14	80	80	0
9	0.9	0.1	11	0.9	0.1	16	0.1	0.0	2	80	80	0
10	2.3	0.1	40	1.5	0.0	53	0.8	0.0	27	80	0	60
11	1.7	0.4	4	1.2	0.1	11	0.5	0.3	2	80	80	60
12	4.0	0.3	13	2.4	0.2	11	1.6	0.1	19	80	20	80
13	1.0	0.1	9	0.5	0.1	6	0.5	0.0	18	80	60	60
14	3.9	0.0	137	2.7	0.0	96	1.2	0.0	0	40	40	40
15	8.3	0.0	0	7.0	0.0	0	1.3	0.0	0	60	20	60
16	3.6	0.1	63	0.7	0.0	0	2.9	0.1	51	100	60	100
17	1.7	0.0	61	1.7	0.0	59	0.1	0.0	0	60	10	60
18	0.4	0.0	0	0.3	0.0	0	0.2	0.0	0	100	60	100

Un ejemplo se muestra en el Cuadro 3. Corresponde a un caso con dispositivos de autoinoculación ubicados en una finca de café en Guatemala, que estaba bajo la aplicación de la TIE. Los índices de MTD indicaron en general una buena relación estéril: fértil. En particular, también hubo una buena relación entre moscas del Mediterráneo estériles y moscas del Mediterráneo silvestres, ambas infectadas a través de los dispositivos de autoinoculación. Además, la distribución general fue buena y evolucionó de regular a buena la distribución de las moscas del Mediterráneo estériles infectadas con respecto a la distribución de las moscas del Mediterráneo silvestres. Aunque la distribución de moscas silvestres infectadas aumento en el tiempo, así como el efecto de la aplicación de CM (Base de datos del Programa Regional Moscamed, Guatemala 2016).

15. CONTROL MICROBIOANO E INDUCCION DE ESTERILIDAD

Aunque el objetivo de la CM que utiliza moscas estériles como vectores es suprimir la plaga mediante la acción directa del hongo, tiene el efecto adicional de introducir un cierto grado de esterilidad que contribuye al control de la población de plagas. [Roy et al. \(2007\)](#), [Dimbi et al. \(2003a\)](#), [Toledo et al. \(2007\)](#) mencionaron que la efectividad de un programa de MIP puede aumentarse si se usan moscas estériles como vectores de organismos entomopatógenos, ya que, además de causar mortalidad en las hembras por contaminación durante los intentos de apareamiento o apareamiento o por transmisión horizontal indirecta, pueden introducir algún grado de esterilidad en la población silvestre si los machos estériles infectados se aparean con hembras silvestres.

Se ha demostrado que los machos estériles infectados de la mosca mexicana de la fruta tienen un rendimiento sexual similar durante los primeros 3 días después de la inoculación del hongo que los machos estériles no inoculados ([Toledo et al. 2007](#)). [San Andrés et al. \(2014\)](#) encontraron que las hembras silvestres de *C. capitata* copulan en la misma proporción con machos infectados y no infectados en leks, aunque pueden recopular cuando la primera cópula fue con un macho infectado. La efectividad de esta estrategia aumenta cuando la recópula de hembras es de 4 a 28% en una población silvestre, porque aumenta la probabilidad de que las hembras se apareen con machos contaminados que están activos en el lek ([Kraaijeveld et al. 2005](#)). [Dimbi et al. \(2009\)](#) informaron que la capacidad de cópula de machos de tres especies de *Ceratitidis* (*C. capitata*, *C. cosyra* y *C. fasciventris*) entre 0 y 2 días después de la inoculación no se vio afectada. En adultos de *Z. cucurbitae*, la capacidad de cópula no se vio afectada el primer día ([Sookar et al. 2013](#)). Además, la infección por hongos redujo tanto la fecundidad como la fertilidad en las hembras silvestres. [Castillo et al. \(2000\)](#) informaron un 65% de reducción en la fertilidad de *C. capitata* tratada con *I. fumosorosea* y un 50% con *M. anisopliae*. [Dimbi et al. \(2003a\)](#)

informaron una reducción en la fecundidad pero no en la fertilidad en *C. capitata*, *C. cosyra* y *C. fasciventris* con *M. anisopliae*. [Quesada-Moraga et al. \(2006\)](#) indican que la fecundidad y la eclosión de los huevos en *C. capitata* se redujeron cuando se trataron con *M. anisopliae*. Cuando las hembras de *A. ludens* se infectaron con *B. bassiana* a través de los machos infectados, registraron una reducción significativa en la fecundidad, pero la fertilidad no se vio afectada ([Toledo et al. 2007](#), [Sánchez-Roblero et al. 2012](#)). Sin embargo, [Sookar et al. \(2014a\)](#) informaron que la infección por *B. bassiana* en *B. zonata* y *Z. cucurbitae* no afectó la fertilidad.

Al analizar la competitividad sexual de los machos inoculados, [Sookar et al. \(2014a\)](#) obtuvieron un índice de esterilidad relativa (siglas en inglés RSI) de 0.59 con machos estériles sin inoculación y 0.44 para machos estériles de *Z. cucurbitae* inoculados con *B. bassiana*. [Novelo-Rincón et al. \(2009\)](#) inocularon machos de *A. ludens* 30 minutos antes de comenzar los experimentos y esto no afectó significativamente la competitividad sexual de las moscas estériles.

En jaulas de campo, se determinó un RSI de 0.40 y 0.42 para machos de moscas estériles del Mediterráneo inoculados y no inoculados con conidios de *B. bassiana*, respectivamente. La transmisión horizontal, tanto para hembras silvestres como para machos silvestres fue del 72%. En las plantaciones de café de Guatemala, se liberaron vía aérea 3,000 machos estériles inoculados por hectárea por semana en 7 km² (700 hectáreas). A lo largo del estudio, la tasa estéril: fértil fue de 26: 1, y el 44% de las moscas silvestres capturadas se infectaron con *B. bassiana*. ([Flores et al. 2013](#)). Este resultado indicó que los machos estériles inoculados interactuaron con moscas silvestres en leks durante los intentos de cortejo o copula. Por lo tanto, se asume que los machos inoculados pueden vivir el tiempo requerido para realizar una función dual, es decir, transmitir conidios entre las moscas silvestres e inducir la esterilidad en la población silvestre ([Novelo-Rincón et al. 2009](#)). La mayor transmisión a machos silvestres que a hembras silvestres puede deberse a que, en lek, las interacciones macho-macho son más comunes que las interacciones macho-hembra ([Arita & Kaneshiro 1985](#)). Para la supresión de *C. capitata* en las plantaciones de café mediante el uso de la TIE, se requiere al menos una razón estéril: fértil de 100: 1 ([Rendón et al. 2004](#)). Sin embargo, una menor razón estéril: fértil (26: 1 basado en los valores de MTD para moscas estériles y silvestres) con liberaciones de machos estériles inoculados causó infección y muerte por infección micótica en el 44% de las moscas silvestres capturadas, lo que significa que esta estrategia incorpora un nuevo componente de mortalidad a las poblaciones silvestres de *C. capitata*. La eficacia de los hongos entomopatógenos para infectar y matar a los adultos de moscas de la fruta se expresa en la mortalidad, pero también causa reducciones en la fecundidad y la fertilidad, que también

contribuyen a la supresión en la población objetivo (Toledo et al. 2007, Sánchez-Roblero et al. 2012).

15.1. Modelo de Knipling

Aquí usamos el modelo de Knipling (1955) para evaluar CM en la mosca del Mediterráneo. A relaciones estéril: fértil de 3: 1 y 10: 1 se muestra el impacto de CM con moscas estériles inoculadas con conidios de *B. bassiana*.

En jaulas de campo, se obtuvo una tasa de crecimiento de 3.25 para la población de referencia silvestre. Cuatro poblaciones silvestres tratadas en jaulas de campo fueron: 1) con machos estériles a una relación E: F de 3: 1, la tasa de crecimiento fue 1.00. 2) Con una proporción E: F de 3: 1 con machos estériles inoculados, la tasa de crecimiento disminuyó a 0,72. 3) Con una relación E: F de 10: 1 con machos estériles, la tasa de crecimiento fue de 0.16 y 4) con una relación E: F 10: 1 con machos estériles inoculados, la tasa de crecimiento fue de 0.02. Se consideró que la reducción en la tasa de crecimiento era un beneficio adicional para la transmisión de los hongos (Toledo et al. 2014). Además, se consideró una población de referencia de campo con una tasa de crecimiento de 5 (Cuadro 4).

Una población aislada de moscas del Mediterráneo sin inmigración (jaulas de campo) y expuesta a una relación E: F de 3: 1 tuvo un índice de copula fértil (ICF) de 0.60. Mientras que usando moscas estériles inoculadas con *B. bassiana*, el ICF fue de 0.62 (datos no publicados de Flores 2015). Al aplicar el modelo de Knipling, con estos parámetros, los machos estériles redujeron la población en un 79% en la tercera generación (dejando un 21% de la población original). Y al usar machos estériles inoculados, la población se redujo en un 92% (quedando solo el 8% de la población original). Bajo estas condiciones, la población de referencia en jaulas de campo aumentaría hasta 2,502% con un ICF de 0.90 y la población de referencia de campo aumentaría 12,500% (Cuadro 4).

15.2. Integración del Control Microbiológico y la Técnica del Insecto Estéril

En áreas con altos niveles de infestación o en puntos de acceso, para usar la TIE de manera efectiva, el primer paso es suprimir las poblaciones silvestres. El CM se puede utilizar para este propósito. La supresión de la población se producirá principalmente a través de la acción combinada del vector de la mosca estéril y el entomopatógeno. La supresión adicional también puede ser causada por la inducción de la esterilidad en la población silvestre por los machos estériles inoculados. Una vez que se ha alcanzado el MTD silvestre apropiado, la TIE debe aplicarse a través de la liberación de insectos estériles sin inoculación con el fin de mantener las poblaciones de plagas en niveles bajos para establecer áreas de

baja prevalencia de plagas (ABPP) o para fines de erradicación para establecer Zonas Libres de Plagas (ZLP). En el caso de una ABPP, la TIE (liberación de insectos estériles sin inoculación) puede continuar como un componente del manejo para mantener el estado fitosanitario del área.

Cuadro 4. Aumento de la población de *Ceratitis capitata* utilizando el modelo de Knipling considerando la aplicación de la técnica de insectos estériles que liberan los machos estériles de *Beauveria bassiana* inoculados y no estériles inoculados en relación E: F de 3: 1 y 10: 1 en las evaluaciones de jaula de campo.

Generación	Población de referencia	Población de referencia en jaula de campo	Población bajo supresión con relación (E:F) 10:1	Población bajo supresión con relación (E:F) 10:1 usando machos estériles inoculados	Población bajo supresión con relación (E:F) 3:1	Población bajo supresión con relación (E:F) 3:1 usando machos estériles inoculados
Indice de copula fértil	1.0	0.9	0.60	0.62	0.60	0.62
Tasa reproductiva	5	2.93	0.10	0.01	1.00	0.45
P	300	300	225	225	300	300
F1	1,500	878	22	3	180	134
F2	7,500	2,567	2	0	108	60
F3	37,500	7,508	0	0	65	27
F4	187,500	21,960	0	0	39	12
F5	937,500	64,232	0	0	23	5
F6	4,687,500	187,878	0	0	14	2
F7	23,437,500	3,66,363	0	0	8	1
F8	117,187,500	1,071,610	0	0	5	0
F9	585,937,500	3,134,461	0	0	3	0
F10	2,929,687,500	9,168,298	0	0	2	0
F11	14,648,437,500	26,817,270	0	0	1	0

16. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa Regional Mosamed México-Guatemala-Estados Unidos y al Programa Nacional de Moscas de la Fruta de México, donde se desarrollaron y aplicaron tecnologías de inoculación de moscas estériles a gran escala y se demostró el CM en con un MIP en el área amplia. También agradecemos al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), el Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), el Ministerio de Agricultura y

Ganadería de Guatemala (MAGA), United States Department of Agriculture (USDA) and the Food and Agriculture Organization (FAO) / International Atomic Energy Agency (IAEA) Joint Division. Su apoyo permitió el desarrollo y prueba piloto de los métodos descritos aquí y su descripción para uso público internacional. De la misma manera, reconocemos y agradecemos a todos los científicos de diferentes países que han hecho factible esta innovación tecnológica y que ahora se resume en este trabajo. Un reconocimiento especial a Rafael Argiles Herrero por su revisión a una versión anterior del borrador de este documento.

17. REFERENCIAS

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 3: 302–303.
- Aemprapa, S. 2007. Entomopathogenic fungi screening against fruit fly in Thailand. *Current Applied Science and Technology* 7:122-126.
- Almeida, J. E., A. Batista Filho, F. C. Oliveira & A. Raga. 2007. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi and nematode on medfly *Ceratitidis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). *BioAssay* 2: 1-7.
- Amala, U., T. Jiji & A. Naseema. 2013. Laboratory evaluation of local isolate of entomopathogenic fungus, *Paecilomyces lilacinus* Thom Samson (ITCC 6064) against adults of melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* Coquillett. *Journal of Tropical Agriculture* 51: 132-134.
- Anagnou-Veroniki, M., D. C. Kontodimas, A. D. Adamopoulos, N. D. Tsimboukis & A. Voulgaropoulou. 2005. Effects of two fungal based biopesticides on *Bactrocera (Dacus) oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae). *IOBC WPRS Bulletin* 28: 49-51.
- Arita L. H. & K. Y. Kaneshiro. 1985. The dynamics of the lek system and mating success in males of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wied.). *Proceedings of Hawaiian Entomology Society*. 25:39–48
- Barnett H. L. & B. B. Hunter. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 3rd Ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minn. 241 p.
- Beris, E. I., D. P. Papachristos, A. Fytros, S. A. Antonatos & D. C. Kontodimas. 2013. Pathogenicity of three entomopathogenic fungi on pupae and adults of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Pest Science* 86: 275-284.
- Boudjelida, H. & N. Soltani. 2011. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on *Ceratitidis capitata* L. (Diptera: Tephritidae). *Annals of Biological Research* 2: 104-110.

- Brito, B. D., A. L. Lima, K. R. Cruz, A. Bariani, C. R. Jesus-Barros, J. F. Pereira & R. Adaime. 2019. Amonian isolates of *Metarhizium* are effective for killing *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae). *Acta Biologica Colombiana* 24:118-124
- Burns, R. E., D. L. Harris, D. S. Moreno & J. E. Eger. 2001. Efficacy of spinosad bait sprays to control Mediterranean and Caribbean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in commercial citrus in Florida. *Florida Entomologist* 84: 672–678.
- Butt, T. M., C. Jackson & N. Magan. 2001. Introduction – Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential, pp: 1-8. In: T.M. Butt, C. Jackson & N. Magan (Eds.) *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*. CAB International, London UK.
- Cáceres, C., K. Fisher & P. Rendón. 2000. Mass rearing of the medfly temperature sensitive lethal genetic sexing strain in Guatemala, pp. 551–558. *In*: K. H. Tan (ed.), *Proceedings: Area-Wide Control of Fruit Flies and Other Insect Pests. International Conference on Area-Wide Control of Insect Pests, and the 5th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, 28 May–5 June 1998, Penang, Malaysia*. Penerbit Universiti Sains Malaysia, Pulau Pinang, Malaysia.
- Cáceres, C., J. Hendrichs & M. Vreysen. 2014. Development and improvement of rearing techniques for fruit flies (Diptera: Tephritidae) of economic importance. *International Journal of Tropical Insect Science*, 34(S1), S1-S12. doi:10.1017/S1742758414000034
- Castillo, M. A., P. Moya, E. Hernandez & E. Primo-Yufera. 2000. Susceptibility of *Ceratitidis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. *Biocontrol* 9: 274-282.
- Chueca, P., H. Montón, J. L. Ripollés, P. Castañera, E. Moltó & A. Urbaneja. 2007. Spinosad bait treatments as alternative to malathion to control the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in the Mediterranean Basin. *Journal of Pesticides Science* 32: 407–411.
- Cossentine, J., H. Thistlewood, M. Goettel & S. Jaronski. 2010. Susceptibility of preimaginal western cherry fruit fly, *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) to *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin Clavicipitaceae (Hypocreales). *Journal of Invertebrate Pathology* 104: 105-109
- Cossentine, J., S. Jaronski, H. Thistlewood & W. Yee. 2011. Impact of *Metarhizium brunneum* (Hypocreales: Clavicipitaceae) on pre-imaginal *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) within and on the surface of orchard soil. *Biocontrol Science and Technology* 21: 1501-1505.
- Daniel, C. & E. Wyss. 2008. Field applications of entomopathogenic fungi against *Rhagoletis cerasi*. *In*: *Ecofruit-13th International Conference on Cultivation Technique and*

- Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing: Proceedings to the Conference from 18th February to 20th February 2008 at Weinsberg/Germany pp. 87-92.
- Daniel, C. & E. Wyss. 2009. Susceptibility of different life stages of the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*, to entomopathogenic fungi. *Journal of Applied Entomology* 133: 473-483.
- De Faria, M.R. & Wraight S.P. 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, 43:237-256.
- De la Rosa, W., F. L. López & P. Liedo. 2002. *Beauveria bassiana* as a pathogen of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology* 95: 36-43.
- Destéfano, R. H. R., I. J. Bechara, C. L. Messias & A. E. Piedrabuena. 2005. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* against immature stages of *Anastrepha fraterculus* fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Brazilian Journal of Microbiology* 36: 94-99.
- Dimbi, S., N. K. Maniania, S. A. Lux & J. M. Mueke. 2003a. Host species, age and sex as factors affecting the susceptibility of the African tephritid fruit fly species, *Ceratitis capitata*, *C. cosyra* and *C. fasciventris* to infection by *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Pest Science* 76: 113-117.
- Dimbi, S., N. K. Maniania, S. A. Lux, S. Ekesi & J. K. Mueke. 2003b. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, to three adult fruit fly species: *Ceratitis capitata* (Weidemann), *C. rosa* var. *fasciventris* Karsch and *C. cosyra* (Walker) (Diptera: Tephritidae). *Mycopathologia* 156: 375-382.
- Dimbi, S., N. K. Maniania, S. A. Lux & J. M. Mueke. 2004. Effect of constant temperatures on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to three species of African tephritid fruit flies. *BioControl* 49: 83-94.
- Dimbi, S., N. K. Maniania & S. Ekesi. 2009. Effect of *Metarhizium anisopliae* on the mating behavior of three species of African tephritid fruit flies, *Ceratitis capitata*, *Ceratitis cosyra* and *Ceratitis fasciventris*. *Biological Control* 50: 111–116.
- Dimbi, S., N. K. Maniania & S. Ekesi. 2013. Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* in fruit flies and effect of fungal infection on egg laying and fertility. *Insects* 4: 206-216.
- Domínguez, J., T. Artiaga-López, E. Solís & E. Hernández. 2010. Métodos de colonización de moscas de la fruta, pp. 259-276. *In*: P. Montoya, J. Toledo & E. Hernández (Eds.) *Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo*. S y G Editores, México, D. F.

- Ekesi, S., N. K. Maniania & S. A. Lux. 2002. Mortality in three African tephritid fruit fly puparia and adults caused by the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology* 12: 7-17.
- Ekesi, S., N. K. Maniania & S. A. Lux. 2003. Effect of soil temperature and moisture on survival and infectivity of *Metarhizium anisopliae* to four tephritid fruit fly puparia. *Journal of Invertebrate Pathology* 83: 157-167.
- Ekesi, S., N. K. Maniania, S. A. Mohamed & S. A. Lux. 2005. Effect of soil application of different formulations of *Metarhizium anisopliae* on African tephritid fruit flies and their associated endoparasitoids. *Biological Control* 35: 83-91.
- Ekesi, S., M. De Meyer, S. A. Mohamed, M. Virgilio & C. Borgemeister. 2016. Taxonomy, ecology, and management of native and exotic fruit fly species in Africa. *Annual Review of Entomology* 61:219-238.
- Elbashir, M. I., B. Paul, K. Shankarganesh, R. Gautami & P. Sharma. 2014. Pathogenicity of indian isolates of entomopathogenic fungus against important insect pests and natural enemies. *Indian Journal of Entomology* 76: 37-43.
- FAO/IAEA. 2016. Guidelines for the use of mathematics in operational area-wide integrated pest management programmes using the sterile insect technique with a special focus on Tephritid fruit flies. Barclay H.L., Enkerlin W.R., Manoukis, N.C. Reyes-Flores, J. (eds.), Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. 95 pp.
- FAO/IAEA. 2017. Guideline for packing, shipping, holding and release of sterile flies in area-wide fruit fly control programmes. Rome, Italy, September 2017 [[http://www-naweb.iaea.org/nafa/ipc/public/Guideline-for-Packing-Sept2017.pdf](http://www.naweb.iaea.org/nafa/ipc/public/Guideline-for-Packing-Sept2017.pdf)].
- FAO/IAEA. 2018. Trapping guidelines for area-wide fruit fly programmes. Rome, Italy, January 2018 [<https://www.iaea.org/sites/default/files/trapping-guideline.pdf>].
- FAO/IAEA/USDA. 2014. Manual for Product Quality Control and Shipping Procedures for Sterile Mass-Reared Tephritid Fruit Flies, Version 5.0. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria. 85 pp.
- Ferron, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*, pp. 45-55. *In*: H. D. Burges (Ed.) *Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1978-1980*. Academic Press. USA.
- Finney, D. J. 1952. *Probit Analysis*. Cambridge, England, Cambridge University Press.
- Flores, S., S. Campos, A. Villaseñor, A. Valle, W. Enkerlin, J. Toledo, P. Liedo & P. Montoya. 2013. Sterile males of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) as disseminators of *Beauveria bassiana* conidia for IPM strategies. *Biocontrol Science and Technology* 23: 1186-1198.
- Gandarilla-Pacheco, F. L., H. D. Nava-González, K. Arévalo-Niño, L. J. Galan-Wong, M. Elías-Santos & I. Quintero-Zapata. 2012. Evaluation of native strains of *Isaria fumosorosea*

- (Wize) against *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae). Journal of Life Sciences 6: 957-960.
- Goble, T. A., J. F. Dames, M. P. Hill & S. D. Moore. 2011. Investigation of native isolates of entomopathogenic fungi for the biological control of three citrus pests. Biocontrol Science and Technology 21: 1193-1211.
- Gul, H. T., S. Freed, M. Akmal & M. N. Malik. 2015. Vulnerability of different life stages of *Bactrocera zonata* (Tephritidae: Diptera) against entomogenous fungi. Pakistan Journal of Zoology 47: 307-317.
- Gutiérrez, J. M. 2010. El Programa Moscas de la Fruta en Mexico, pp. 3-10. In: P. Montoya, J. Toledo & E. Hernández (Eds.) Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo. S y G Editores, México, D. F.
- Hadi, M. S., T. Himawan & L. Q. Aini. 2013. The effectiveness of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* with the addition of insect growth regulator Lufenuron for controlling *Bactrocera carambolae*. Journal of Tropical Life Science 3: 187-192.
- Hadi, M. S., T. Himawan & L. Q. Aini. 2017. The application of *Beauveria bassiana* and Lufenuron could reduce the reproduction of fruit fly (*Bactrocera carambolae*) (Drew & Hancock) (Diptera: Tephritidae). Journal of Tropical Plant Protection 1:22-29.
- Hajek, A. E. & R. J. St Leger. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annual Review of Entomology 39: 293-322.
- Hallouti, A., A. Zahidi, R. Bouharroud, A. El Mousadik, A. A. B. Aoumar & H. Boubaker. 2017. Diversity of entomopathogenic fungi in argane forest soil and their potential to manage Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). Journal of Pharmacy and Pharmacology 5: 746-754.
- Hernández Díaz-Ordaz, N., N. Pérez & J. Toledo. 2010. Patogenicidad de tres cepas de hongos entomopatógenos a adultos de *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) en condiciones de laboratorio. Acta Zoologica Mexicana 26: 481-494.
- Ibrahim, A. A., N. A. Soliman, M. M. El-Deen, N. F. Ramadan & S. R. Farag. 2014. Susceptibility of the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) and the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) adults to the entomopathogenic fungi; *Metarhizium anisopliae* (Met.) and *Beauveria bassiana* (Bals.). Egyptian Journal of Biological Pest Control 24:491-495.
- Inglis, G. D., J. Enkerli & M. S. Goettel. 2012. Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales, pp. 189-253. In L. A. Lacey (Ed.) Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Second Edition. Academic Press. USA.
- Imoulan, A. & A. Elmeziane. 2014. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* isolated from Moroccan Argan forests soil against larvae of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

- in laboratory conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 30: 959-965.
- Imoulan, A., S. K. Ibsouda & A. El Meziane. 2016. Molecular characterization and the effectiveness of native entomopathogenic *Beauveria bassiana* strains against adults of Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). *Journal of Biosciences & Biotechnological Discovery* 1: 6-16.
- Jiji, T., R. Praveena, K. Babu, A. Naseema & N. Anitha. 2006. Three promising fungal strains pathogenic to fruit flies, pp. 175-177. In: *Fruit Flies of Economic Importance: From Basic to Applied Knowledge Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance 10-15 September 2006, Salvador, Brazil*.
- Kabaluk, J. T., A. M. Svircev, M. S. Goettel & S. G. Woo (eds.) 2010. The use and regulation of microbial pesticides in representative jurisdictions worldwide. *International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants (IOBC)* 99pp.
- Klein M. G. & L. A. Lacey. 1999. An attractant trap for the autodissemination of entomopathogenic fungi into populations of the Japanese beetle, *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Biocontrol Science and Technology* 9: 151-158.
- Knipling, E. F. 1955. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *Journal of Economic Entomology* 48: 459-462.
- Konstantopoulou, M. A., & B. E. Mazomenos. 2005. Evaluation of *Beauveria bassiana* and *B. brongniartii* strains and four wild-type fungal species against adults of *Bactrocera oleae* and *Ceratitis capitata*. *BioControl* 50: 293-305.
- Kraaijeveld, K., B. I. Katsoyannos, M. Stavrinides, N. A. Kouloussis & T. Chapman. 2005. Remating in wild females of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Animal Behaviour* 69: 771-776.
- Lacey, L. A. & H. K. Kaya 2007. *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests*. Springer. Netherland
- Ladurner, E., M. Benuzzi, F. Fiorentini & S. Franceschini. 2008. *Beauveria bassiana* strain ATCC 74040 (Naturalis®), a valuable tool for the control of the cherry fruit fly (*Rhagoletis cerasi*), pp. 93-97. In: *Ecofruit-13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing: Proceedings to the Conference from 18th February to 20th February 2008 at Weinsberg/Germany*.
- Leach A.W. & J.D. Mumford. 2008. Pesticide environmental accounting: a method for assessing the external costs of individual pesticide applications. *Environmental Pollution* 151: 139-147.

- Lecuona, R. 1996. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. IMYZA–CICA–INTA Castelar, Buenos Aires. 338 p.
- Lezama-Gutiérrez, R., A. Trujillo-de la Luz, J. Molina-Ochoa, O. Rebolledo-Domínguez, A. R. Pescador, M. Lopez-Edwards & M. Aluja. 2000. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): laboratory and field trials. *Journal of Economic Entomology*. 93: 1080–1084.
- Liedo, P., W. Enkerlin & J. Hendrichs. 2010. Fundamentos de la Técnica del Insecto Estéril, pp. 243-256. In: P. Montoya, J. Toledo & E. Hernández (Eds.) *Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo*. S y G Editores, México, D. F.
- Liu, Z. Y., Z. Q. Liangl, A. J. S. Whalley, A. Y. Liul & Y. J. Yao. 2001. A new species of *Beauveria*, the anamorph of *Cordyceps sobolifera*. *Fungal Diversity* 7: 63–72.
- Lomer, C. J., R. P. Bateman, D. L. Johnson. J. Langewald & M. Thomas. 2001. Biological control of locusts and grasshoppers. *Annual Review of Entomology* 46: 667–702.
- Lozano-Tovar, M. D., I. Garrido-Jurado, F. Lafont & E. Quesada-Moraga. 2015. Insecticidal activity of a destruxin-containing extract of *Metarhizium brunneum* against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology* 108: 462-472.
- Luz, C., J. Rodrigues, and L. F. N. Rocha. 2012. Diatomaceous earth and oil enhance effectiveness of *Metarhizium anisopliae* against *Triatoma infestans*. *Acta Tropica* 122: 29-35.
- Mahmoud, M. F. 2009a. Pathogenicity of three commercial products of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Lecanicillium lecanii* against adults of olive fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin)(Diptera: Tephritidae) in the laboratory. *Plant Protection Science* 45: 98-102.
- Mahmoud, M. F. 2009b. Susceptibility of the peach fruit fly *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae) to three entomopathogenic fungi. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 19: 169-175.
- Maina, U. M., I. B. Galadima, F. M. Gamba & D. Zakaria. 2018. A review on the use of entomopathogenic fungus in the management of insect pest of field crops. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6:27-32.
- Maniania, N. K. 1991. Potential of some fungal pathogens for the control of pests in the tropics. *International Journal of Tropical Insect Science* 12: 63–76-
- Maniania N. K. 2002. A low-cost contamination device for infecting adult tsetse, *Glossina* spp., with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in the field. *Biocontrol Science and Technology* 12: 59-66.
- Maniania N. K. & S. Ekesi. 2013. The use of entomopathogenic fungi in the control of tsetse flies. *Journal of Invertebrate Pathology*. 112: 583-588.

- Maniania, N. K., S. Ekesi, A. Odulaja, M. A. Okech & D. J. Nadel. 2006: Prospects of a fungus-contamination device for the control of tsetse fly *Glossina fuscipes fuscipes*. *Biocontrol Science and Technology* 16: 129-139
- Mar, T. T. & S. Lumyong. 2012. Evaluation of effective entomopathogenic fungi to fruit fly pupa, *Bactrocera* spp. and their antimicrobial activity. *Chiang Mai Journal of Science* 39: 464-477.
- Marri, D., D. A. Gomez, D. D. Wilson, S. Y. Billah & M. Osa. 2016. Evaluation of the efficacy of a commercial formulation of *Beauveria bassiana* for the control of the invasive fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Biopesticides International* 12: 9-18.
- Mascarin, G. M. & S. T. Jaronski. 2016. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32: 177
- Medina, P., E. Corrales, M. González-Nuñez, G. Smagghe & E. Viñuela. 2008. Effects of *Beauveria bassiana*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *H. megidis* and *Steinernema feltiae* on the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* and the very sensitive braconid *Psyttalia concolor* in the lab. *IOBC/wprs Bulletin* 35: 113-121.
- Meyling, N. V. & J. Eilenberg. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological Control* 43: 145-155
- Mishra, J., S. Tewari, S. Singh & N. K. Arora. 2015. Biopesticides: where we stand? pp. 37-75. *In* Arora N. K. (ed.) *Plant microbes symbiosis: applied facets*. Springer, New Delhi.
- Mochi, D. A., A. C. Monteiro, S. A. De Bortoli, H. O. Dória & J. C. Barbosa. 2006. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in soil with different pesticides. *Neotropical Entomology* 35: 382-389.
- Montesinos-Matías, R., M. A. Ayala-Zermeño & A. M. Berlanga-Padilla. 2015. Manual para la conservación y mantenimiento de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Dirección General de Sanidad Vegetal. SAGARPA-SENASICA. Tecomán, Colima, México. pp. 59.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 63: 95 - 103.
- Muñiz-Reyes, E., A. W. Guzmán-Franco, J. Sánchez-Escudero & R. Nieto-Angel. 2014. Occurrence of entomopathogenic fungi in tejocote (*Crataegus mexicana*) orchard soils and their pathogenicity against *Rhagoletis pomonella*. *Journal of Applied Microbiology* 117: 1450-1462.
- Muñoz, J. A., W. de la Rosa & J. Toledo. 2009. Mortalidad en *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) por diversas cepas de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, en condiciones de Laboratorio. *Acta Zoológica Mexicana* 25: 609-624.

- Navarro-Llopis, V., I. Ayala, J. Sanchis, J. Primo & M. D. P. Moya. 2015. Field efficacy of a *Metarhizium anisopliae*-based attractant contaminant device to control *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology* 108: 1570-1578.
- Ndij, A. M., B. T. Rahardjo & T. Himawan. 2016. The combination of entomopathogenic fungus of *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill. with the insect growth regulator (IGR) of Lufenuron against reproductive of *Bactrocera carambolae* fruit flies (Diptera: Tephritidae). *The Journal of Experimental Life Science* 6: 25-28.
- Novelo-Rincón, L. F., P. Montoya, V. Hernández-Ortíz, P. Liedo & J. Toledo. 2009. Mating performance of sterile Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) males used as vectors of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Journal of Applied Entomology* 133: 702-710.
- Oreste, M., N. Baser, G. Bubici & E. Tarasco. 2015. Effect of *Beauveria bassiana* strains on the *Ceratitis capitata*-*Psytalia concolor* system. *Bulletin of Insectology* 68: 265-272.
- Ortu, S., A. Cocco & R. Dau, R. 2009. Evaluation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain ATCC 74040 for the management of *Ceratitis capitata*. *Bulletin of Insectology* 62: 245-252.
- Osorio-Fajardo, A. & N. A. Canal. 2011. Selección de cepas de hongos entomopatógenos para el manejo de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) en Colombia. *Revista de la Facultad Nacional de Agricultura de Medellín* 64: 6129-6139.
- Peck, S. L. & G. T. McQuate. 2000. Field tests of environmentally friendly Malathion replacements to suppress wild Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) Populations. *Journal of Economic Entomology* 93: 280-289.
- Porras, L. & R. Lecuona. 2008. Estudios de laboratorio para el control de *Ceratitis capitata* (Wiedmann) (Diptera: Tephritidae) (Mosca del Mediterráneo) con *Beauveria bassiana*. *Agronomía Costarricense* 32: 119-128.
- Programa Moscamed. 2015. Manual de procedimientos para el control autocida de la Mosca del Mediterráneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). SAGARPA-MAGA-USDA. 63 pp.
- Qazzaz, F. O., M. I. Al-Masri & R. M. Barakat. 2015. Effectiveness of *Beauveria bassiana* native isolates in the biological control of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). *Advances in Entomology* 3: 44-55.
- Queiroz de Oliveira, F., J. de Luna Batista, J. Bruno Malaquias, D. A. Almeida & R. de Oliveira. 2010. Determinación de la concentración letal media (CL₅₀) de micoinsecticidas para el control de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Revista Colombiana de Entomología* 36: 213-217.
- Quesada-Moraga E., A. Ruiz-Garcia & C. Santiago-Alvarez. 2006. Laboratory evaluations of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against

- puparia and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology* 99: 1955-1966.
- Quesada-Moraga, E., I. Martín-Carballo, I. Garrido-Jurado. & C. Santiago-Alvarez. 2008. Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* among laboratory populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 47: 115-124.
- Rashad, M. M., A. H. El-Heneidy, K. Djelouah, N. Hassan & S. A. Shaira. 2015. On the pathogenicity of entomopathogens to the peach fruit fly, *Bacterocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 25:649-654.
- Rendón P., D. McInnis, D. Lance & J. Stewart 2004. Medfly (Diptera: Tephritidae) genetic sexing: large-scale field comparison of males-only and bisexual sterile fly releases in Guatemala. *Journal of Economic Entomology* 97: 1547-1553.
- Roy H. E., J. Baverstock & J. K. Pell. 2007. Manipulating behaviour: a strategy for pest control? pp. 179–195 *In*: S. Ekesi & N. K. Maniania (eds.) *Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management*. Research, SignPost, Kerala, India.
- San Andrés V., I. Ayala, M. C. Abad, J. Primo, P. Castañera & P. Moya. 2014. Laboratory evaluation of the compatibility of a new attractant contaminant device containing *Metarhizium anisopliae* with *Ceratitis capitata* sterile males. *Biological Control* 72: 54–61.
- Sánchez-Roblero, D., G. Huerta-Palacios, J. Valle, J. Gómez & J. Toledo. 2012. Effect of *Beauveria bassiana* on the ovarian development and reproductive potential of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology* 22: 1075-1091.
- Sandhu, S. S., A. K. Sharma, V. Beniwal, G. Goel, P. Batra, A. Kumar, S. Jaglan, A. K. Sharma & S. Malhotra. 2012. Myco-Biocontrol of Insect Pests: Factors Involved, Mechanism, and Regulation. *Journal of Pathogens* 2012: DOI 126819
- SENASICA-SAGARPA 2015. Manual técnico para las operaciones de campo de la Campaña Nacional contra Moscas de la Fruta. Sección V: Control Autocida. México. 26 pp. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/262619/MT_Operaciones_de_campo_CNMF_Secci_n_V_CA.pdf
- Shelly, T. & D. McInnis. 2016. Sterile insect technique and control of tephritid fruit flies: do species with complex courtship require higher overflooding ratios? *Annals of the Entomological Society of America* 109: 1–11.
- Shelly, T. E., D. O. McInnis & P. Rendon. 2005. The sterile insect technique and the Mediterranean fruit fly: assessing the utility of aromatherapy in large field enclosures. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 116: 199–208.

- Soliman, N. A., A. A. Ibrahim, M. M. El-Deen, N. F. Ramadan & S. R. Farag. 2014. Entomopathogenic nematodes and fungi as biocontrol agents for the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) and the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) soil borne-stages. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 24:497-502.
- Sookar, P., S. Bhagwant & E. Awuor-Ouna. 2008. Isolation of entomopathogenic fungi from the soil and their pathogenicity to two fruit fly species (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology* 132: 778-788.
- Sookar, P., S. Bhagwant & M. N. Allymamod. 2010. Mortality in tephritid fruit fly puparia and adults caused by *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus* and *Beauveria bassiana*. *University of Mauritius Research Journal* 16: 281-298.
- Sookar P., S. Bhagwant, F. B. Khayratee, Y. Choonea & S. Ekesi. 2013. Mating compatibility of wild and sterile melon flies, *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) treated with entomopathogenic fungi. *Journal of Applied Entomology* 138:409-417.
- Sookar, P., M. Alleck, N. Ahseek & S. Bhagwant. 2014a. Sterile male peach fruit flies, *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae), as a potential vector of the entomopathogen *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in a SIT programme. *African Entomology* 22: 488-498.
- Sookar, P., S. Bhagwant & M. N. Allymamod. 2014b. Effect of *Metarhizium anisopliae* on the fertility and fecundity of two species of fruit flies and horizontal transmission of mycotic infection. *Journal of Insect Science* 14: 1-12.
- Soylu, E.M., K. Şener & S. Soner. 2010. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology* 143: 183–189.
- Thaochan, N. & A. Ngampongsai. 2015. Effects of autodisseminated *Metarhizium guizhouense* PSUM02 on mating propensity and mating competitiveness of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology* 25: 629-644.
- Toledo, J., S. E. Campos, S. Flores, P. Liedo, J. F. Barrera, A. Villaseñor & P. Montoya. 2007. Horizontal transmission of *Beauveria bassiana* in *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) under laboratory and field cage conditions. *Journal of Economic Entomology* 100: 291-297.
- Toledo, J., P. Liedo, S. Flores, P. Montoya, S. E. Campos & A. Villaseñor. 2008. Use of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for fruit fly control: a novel approach, pp. 127-132. *In: Fruit Flies of Economic Importance: From Basic to Applied Knowledge Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance 10-15 September 2006, Salvador, Brazil.*

- Toledo, J., S. Flores, S. Campos, A. Villaseñor, W. Enkerlin, A. Valle, P. Montoya & P. Liedo. 2014. Vertical and horizontal transmission of *Beauveria bassiana* under field conditions for *Ceratitis capitata* control, pp. 215. In: 9th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance (ISFFEI), Bangkok, Thailand, 12-16 May 2014.
- Toledo, J., S. Flores, S. Campos, A. Villaseñor, W. Enkerlin, P. Liedo, A. Valle & P. Montoya. 2017. Pathogenicity of three formulations of *Beauveria bassiana* and efficacy of autoinoculation devices and sterile fruit fly males for dissemination of conidia for the control of *Ceratitis capitata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 164: 340-349.
- Toledo-Hernández, R. A., J. Ruíz-Toledo, J. Toledo & D. Sánchez. 2016. Effect of three entomopathogenic fungi on three species of stingless bees (Hymenoptera: Apidae) under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology* 109: 1015–1019.
- Toledo-Hernández, R. A., J. Toledo & D. Sánchez. 2018. Effect of *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) on food consumption and mortality in the Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *International Journal of Tropical Insect Science* 38: 254-260.
- USDA-APHIS (United States Department of Agriculture, Animal Plant Inspection Service). 2000. Effectiveness of Success 0.02 CB for the Control of Fruit Flies. Internal Report, USDAAPHIS-PPQ, Guatemala City, Guatemala.
- Valero-Jiménez, C. A., H. Wieggers, B. J. Zwaan, C. J. M. Koenraadt & J. A.L.van Kanc. 2016. Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology* 133: 41-49
- Vargas, R. I.; R. F. L. Mau, E. B. Jang, R. M. Faust & L. Wong. 2008. The Hawaii Fruit Fly Areawide Pest Management Programme. Publications from USDA-ARS / UNL Faculty. 656. <http://digitalcommons.unl.edu/usdaarsfacpub/656>
- Vega F. E., P. F. Dowd, L. A. Lawrence, J. K. Pell, M. D. Jackson & M. G. Klein. 2000. Dissemination of beneficial microbial agents by insects. pp 153-177 In: L.A. Lacey & H. K. Kaya (Eds.) *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Vega, F. E, P. F. Dowd, L. A. Lacey, J. K. Pell, D. M. Jackson & M. G. Klein. 2007. Dissemination of beneficial microbial agents by insects, pp 127-146. In: Lacey L. A & Kaya H. K. (Eds.) *Field manual of techniques in invertebrate pathology*, Second edition. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Weldon, C. W., M. K. Schutze & M. Karsten. 2014. Trapping to Monitor Tephritid Movement: Results, Best Practice, and Assessment of Alternatives, pp 175-217. In: Shelly T., N. Epsky, E. B. Jang, J. Reyes-Flores & R. Vargas (eds.) *Trapping and the Detection, Control, and Regulation of Tephritid Fruit Flies*, Springer, Dordrecht, The Netherlands.

- Wilson, W. M., J. E. Ibarra, A. Oropeza, M. A. Hernández, R. A. Toledo-Hernández & J. Toledo. 2017. Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) adults during emergence from soil treated with *Beauveria bassiana* under various texture, humidity, and temperature conditions. *Florida Entomologist* 100: 503-508.
- Wraight, S.P., M. A. Jackson & S.L. de Kock. Production, Stabilization and Formulation of Fungal Biocontrol Agents, pp. 253-288. *In*: T.M. Butt, C. Jackson & N. Magan (Eds.) *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*. CAB International, London UK.
- Yousef, M., M. D. Lozano-Tovar, I. Garrido-Jurado & E. Quesada-Moraga. 2013. Biocontrol of *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) with *Metarhizium brunneum* and its extracts. *Journal of Economic Entomology*, 106: 1118-1125.
- Yousef, M., I. Garrido-Jurado & E. Quesada-Moraga. 2014. One *Metarhizium brunneum* strain, two uses to control *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology* 107: 1736-1744.
- Yousef, M., E. Aranda-Valera & E. Quesada-Moraga. 2018. Lure-and-infect and lure-and-kill devices based on *Metarhizium brunneum* for spotted wing *Drosophila* control. *Journal of Pest Science* 91: 227–235.
- Zimmermann, G. 2007a. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology* 17: 879-920.
- Zimmermann, G. 2007b. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* 17: 553-596.
- Zimmermann, G. 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology* 18: 865-901.

Apéndice 1. Estudios sobre el uso de hongos entomopatógenos para el control de moscas de la fruta.

Especie de hongo	Especie de mosca	Tema de estudio	País	Referencia
<i>B. bassiana</i>	<i>A. ludens</i>	Patogenicidad, TL ₅₀ y CL ₅₀ contra larvas, pupas y adultos en condiciones de laboratorio.	México	De la Rosa et al. 2002
<i>B. bassiana</i>	<i>A. ludens</i>	Efecto de dos formulaciones, sobre el comportamiento de la cópula y la transmisión horizontal.	México	Toledo et al. 2007
<i>B. bassiana</i>	<i>A. ludens</i>	Efecto sobre el comportamiento de machos infectados contra machos no infectados.	México	Novelo-R. et al. 2009
<i>B. bassiana</i>	<i>A. ludens</i>	Efecto sobre la emergencia del adulto en suelo bajo condiciones de laboratorio.	México	Wilson et al. 2017
<i>B. bassiana</i>	<i>A. obliqua</i>	Susceptibilidad de adultos en condiciones de laboratorio.	México	Hernández-D-O. et al. 2010
<i>B. bassiana</i>	<i>A. ludens</i>	Efecto sobre el desarrollo ovárico, fecundidad y fertilidad en condiciones de laboratorio.	México	Sánchez-R. et al. 2012
<i>B. bassiana</i>	<i>A. obliqua</i>	Transmisión horizontal de conidios de <i>Beauveria</i> en adultos de <i>Anastrepha obliqua</i> mediante vectores y dispositivos diseminadores: efecto sobre la competitividad sexual y la fecundidad.	México	Campos et al. 2014
<i>B. bassiana</i>	<i>B. carambolae</i>	Evaluación contra larvas con adición de lufenurón en condiciones de laboratorio.	Indonesia	Hadi et al. 2013
<i>B. bassiana</i>	<i>B. carambolae</i>	Efecto de la combinación con lufenurón sobre la capacidad reproductiva en condiciones de laboratorio.	Indonesia	Ndii et al. 2016
<i>B. bassiana</i>	<i>B. carambolae</i>	Combinación con lufenurón para reducir la capacidad reproductiva en condiciones de laboratorio.	Indonesia	Hadi et al. 2017
<i>B. bassiana</i>	<i>Z. cucurbitae</i> <i>B. zonata</i>	Aislamiento de cepas del suelo y efecto sobre moscas de la fruta.	Islas Mauricio	Sookar et al. 2008
<i>B. bassiana</i>	<i>Z. cucurbitae</i> , <i>B. zonata</i>	Efecto sobre pupas en condiciones de laboratorio.	Islas Mauricio	Sookar et al. 2010

Apéndice 1. Estudios sobre el uso de hongos entomopatógenos para el control de moscas de la fruta.

Especie de hongo	Especie de mosca	Tema de estudio	País	Referencia
<i>B. bassiana</i>	<i>B. dorsalis</i>	Evaluación de los hongos entomopatógenos en condiciones de laboratorio.	Tailandia	Aemprapa 2007
<i>B. bassiana</i>	<i>B. dorsalis</i>	Efecto de la formulación comercial sobre larvas y adultos en condiciones de campo.	Gana	Marri et al. 2016
<i>B. bassiana</i>	<i>B. oleae</i>	Efecto de dos productos comerciales en condiciones de laboratorio y semi-campo.	Grecia	Anagnou-V. et al, 2005
<i>B. bassiana</i>	<i>B. oleae</i> <i>Z. cucurbitae</i>	Patogenicidad de cepas en polvo humectable y gránulos humectables para moscas de la fruta en condiciones de laboratorio	India	Jiji et al. 2006
<i>B. bassiana</i>	<i>B. oleae</i>	Evaluación de productos comerciales contra adultos en condiciones de laboratorio.	Egipto	Mahmoud 2009a
<i>B. bassiana</i>	<i>B. oleae</i> , <i>C. capitata</i> , <i>R. cerasi</i>	Aplicaciones de biopesticidas en olivos.	Italia	Benuzzi et al. 2007
<i>B. bassiana</i>	<i>B. zonata</i>	Susceptibilidad de larvas, pupas y adultos en condiciones de laboratorio	Egipto	Mahmoud 2009b
<i>B. bassiana</i>	<i>B. zonata</i>	Evaluación de machos estériles como vectores para la dispersión de hongos a insectos no infectados en condiciones de campo.	Islas Mauricio	Sookar et al. 2014a
<i>B. bassiana</i>	<i>B. zonata</i>	Efecto contra larvas y adultos en condiciones de laboratorio.	Egipto	Rashad et al. 2015
<i>B. bassiana</i>	<i>B. zonata</i>	Patogenicidad contra larvas y adultos en condiciones de laboratorio.	Pakistan	Gul et al. 2015
<i>B. bassiana</i>	<i>B. zonata</i> , <i>C. capitata</i>	Efecto contra larvas y pupas en condiciones de laboratorio.	Egipto	Soliman et al. 2014
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Susceptibilidad de pupas y adultos en condiciones de laboratorio.	Grecia	Beris et al. 2013
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto contra pupas y adultos en condiciones de laboratorio.	España	Quesada-M. et al. 2006
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Patogenicidad contra pupas en suelo en condiciones de laboratorio e invernadero	Brasil	Almeida et al. 2007

Apéndice 1. Estudios sobre el uso de hongos entomopatógenos para el control de moscas de la fruta.

Especie de hongo	Especie de mosca	Tema de estudio	País	Referencia
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto en adultos bajo condiciones de laboratorio.	Costa Rica	Porras & Lecuona 2008
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto contra adultos en condiciones de laboratorio.	España	Medina et al., 2009
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto contra adultos en condiciones de laboratorio y campo.	Italia	Ortu et al. 2009
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Patogenicidad contra adultos en condiciones de laboratorio	México	Muñoz et al. 2009
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Determinación de CL ₅₀ en larvas y pupas en condiciones de laboratorio.	Brasil	Queiroz de O. et al. 2010
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Transmisión horizontal y vertical y efecto sobre el aumento de la fecundidad y supresión de la población	México y Guatemala	Toledo et al. 2014
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Evaluación de machos estériles como diseminadores de conidios en condiciones de campo.	México y Guatemala	Flores et al. 2013
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Patogenicidad en larvas en condiciones de laboratorio.	Marruecos	Imoulan & Elmeziane 2014
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Patogenicidad de cepas indias en adultos en condiciones de laboratorio.	India	Elbashir et al. 2014
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Evaluación de larvas y pupas en condiciones de laboratorio.	Brasil	Bisolli et al. 2014
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto sobre pupas en condiciones de laboratorio.	Italia	Oreste et al. 2015
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Evaluación de cepas nativas palestinas contra adultos en condiciones de laboratorio.	Palestina	Qazzaz et al. 2015
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Caracterización molecular y efecto de cepas nativas contra adultos en condiciones de laboratorio.	Marruecos	Imoulan et al. 2016
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Potencial de las cepas obtenidas en muestras de suelo contra larvas, pupas y adultos.	Marruecos	Hallouti et al. 2017
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto de tres formulaciones contra adultos en condiciones de laboratorio y eficacia de dispositivos diseminadores en condiciones de campo.	México y Guatemala	Toledo et al. 2017

Apéndice 1. Estudios sobre el uso de hongos entomopatógenos para el control de moscas de la fruta.

Especie de hongo	Especie de mosca	Tema de estudio	País	Referencia
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i> , <i>C. cosyra</i> , <i>C. rosa</i> <i>fasciventris</i>	Efecto sobre emergencia de pupas y adultos en condiciones de laboratorio.	Kenia	Ekesi et al. 2002
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i> , <i>C. cosyra</i> , <i>C. rosa</i> <i>fasciventris</i>	Exposición de moscas de la fruta a conidios secos y evaluación en jaulas de campo de tres dispositivos de autoinoculación	Kenia	Dimbi et al. 2003a
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i> , <i>B. oleae</i>	Efecto en adultos por vía oral y contacto en condiciones de laboratorio.	Grecia	Konstantopoulou and Mazomenos 2005
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i> , <i>A. ludens</i>	Efecto de las cepas contra adultos en condiciones de laboratorio.	México	Toledo et al. 2008
<i>B. bassiana</i>	<i>C. capitata</i> , <i>C. rosa</i>	Efecto sobre adultos y pupas en condiciones de laboratorio.	Sudáfrica	Goble et al. 2011
<i>B. bassiana</i>	<i>R. cerasi</i>	Aplicación de <i>B. bassiana</i> como bioinsecticida en condiciones de campo..	Italia	Ladurner et al. 2008
<i>B. bassiana</i>	<i>R. cerasi</i>	Evaluación de dos micoinsecticidas bajo condiciones de campo.	Italia	Daniel & Wyss 2008
<i>B. bassiana</i>	<i>R. indifferens</i>	Susceptibilidad de larvas y pupas en condiciones de laboratorio.	Canadá	Cossentine et al. 2010
<i>B. bassiana</i>	<i>R. pomonella</i>	Susceptibilidad de larvas y pupas en condiciones de laboratorio.	México	Muñiz-R. et al. 2014
<i>B. bassiana</i>	<i>Z. cucurbitae</i>	Competitividad sexual de machos estériles infectados en condiciones de semicampo y jaulas de campo	Islas Mauricio	Sookar et al. 2014a
<i>B. pseudobassiana</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto sobre huevos, larvas, pupas y adultos en condiciones de laboratorio.	Italia	Bedin et al. 2018
<i>I. fumosorosea</i>	<i>A. ludens</i>	Efecto sobre larvas y pupas en condiciones de laboratorio.	México	Gandarilla-P. et al., 2012

Apéndice 1. Estudios sobre el uso de hongos entomopatógenos para el control de moscas de la fruta.

Especie de hongo	Especie de mosca	Tema de estudio	País	Referencia
<i>M. anisopliae</i>	<i>A. fraterculus</i>	Efecto sobre la emergencia de larvas, pupas y adultos en condiciones de laboratorio.	Brasil	Destéfano et al., 2005
<i>M. anisopliae</i>	<i>A. ludens</i>	Virulencia en tercer estadio larvario en condiciones de laboratorio y el efecto en la reducción de emergencia de <i>A. ludens</i> en jaulas de campo	México	Lezama-G. et al., 2000
<i>M. anisopliae</i>	<i>A. ludens</i>	Efecto sobre el consumo y efectos subletales en la mortalidad en condiciones de laboratorio.	México	Toledo-H. et al., 2018
<i>M. anisopliae</i>	<i>A. obliqua</i>	Selección de cepas y la eficacia frente a adultos en condiciones de laboratorio.	Colombia	Osorio-F. & Canal 2011
<i>M. anisopliae</i>	<i>B. carambolae</i>	Efecto sobre larvas, pupas y adultos en condiciones de laboratorio.	Brasil	Brito et al., 2019
<i>M. anisopliae</i>	<i>B. dorsalis</i>	Ecología y manejo de moscas de la fruta nativas y exóticas en África.	Kenia	Ekesi et al., 2016
<i>M. anisopliae</i>	<i>B. zonata</i> , <i>C. capitata</i>	Susceptibilidad de adultos en condiciones de laboratorio.	Egipto	Ibrahim et al., 2014
<i>M. anisopliae</i>	<i>Bactrocera spp.</i>	Efecto sobre pupas en condiciones de laboratorio.	Tailandia	Mar & Lumyong 2012
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto sobre las pupas en el suelo a temperatura y humedad controladas en condiciones de laboratorio.	Kenia	Ekesi et al. 2003
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto de los pesticidas en el suelo sobre la patogenicidad de los hongos, y evaluación de la aplicación en la superficie del suelo en suspensión y conidios secos contra larvas.	Brasil	Mochi et al. 2006
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i>	Transmisión horizontal de conidios en condiciones de laboratorio.	España	Quesada-M. et al. 2008
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i>	Susceptibilidad de larvas y adultos en condiciones de laboratorio.	Argelia	Boudjelida & Soltani 2011
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i>	Virulencia en moscas estériles y atracción a dispositivos contaminantes en condiciones de laboratorio.	España	San Andres et al., 2014

Apéndice 1. Estudios sobre el uso de hongos entomopatógenos para el control de moscas de la fruta.

Especie de hongo	Especie de mosca	Tema de estudio	País	Referencia
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i>	Eficacia de un dispositivo contaminante en condiciones de campo.	España	Navarro-L. et al. 2015
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i> , <i>C. cosyra</i> , <i>C. rosa</i>	Efecto de la especie, edad y sexo y susceptibilidad en laboratorio.	Kenia	Dimbi et al. 2003b
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i> , <i>C. cosyra</i> , <i>C. rosa</i>	Efecto de la temperatura constante en la germinación de conidios y susceptibilidad a diferentes rangos de temperatura	Kenia	Dimbi et al. 2004
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i> , <i>C. cosyra</i> , <i>C. fasciventris</i>	Efecto sobre pupas y endoparasitoides en suelo.	Kenia	Ekesi et al. 2005
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i> , <i>C. cosyra</i> , <i>C. fasciventris</i>	Efecto de la inoculación sobre el comportamiento de apareamiento en condiciones de laboratorio.	Kenia	Dimbi et al. 2009
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i> , <i>C. cosyra</i> , <i>C. fasciventris</i>	Transmisión horizontal, y efecto sobre la fecundidad y fertilidad.	Kenia	Dimbi et al. 2013
<i>M. anisopliae</i>	<i>R. cerasi</i>	Susceptibilidad de diferentes etapas biológicas en condiciones de laboratorio.	Italia	Daniel & Wyss. 2009
<i>M. anisopliae</i>	<i>B. zonata</i> , <i>Z. cucurbitae</i>	Efecto sobre la fecundidad y fertilidad en condiciones de laboratorio.	Islas Mauricio	Sookar et al. 2014b
<i>M. anisopliae</i>	<i>C. capitata</i>	Efecto sobre la fecundidad y fertilidad en condiciones de laboratorio.	España	Castillo et al. 2000
<i>M. brunneum</i>	<i>B. oleae</i>	Infección de larvas, pupas y adultos y efecto del extracto crudo en adultos en condiciones de laboratorio	España	Yousef et al. 2013
<i>M. brunneum</i>	<i>C. capitata</i>	Evaluación frente a adultos y actividad del extracto crudo en condiciones de laboratorio.	España	Yousef et al. 2014

Apéndice 1. Estudios sobre el uso de hongos entomopatógenos para el control de moscas de la fruta.

Especie de hongo	Especie de mosca	Tema de estudio	País	Referencia
<i>M. brunneum</i>	<i>C. capitata</i>	Actividad insecticida del extracto crudo y metabolitos contra adultos en condiciones de laboratorio.	España	Lozano-T. et al., 2015
<i>M. brunneum</i>	<i>R. indifferens</i>	Susceptibilidad de larvas y pupas en condiciones de laboratorio.	Canadá	Cossentine et al. 2011
<i>M. brunneun</i>	<i>B. oleae</i>	Evaluación contra la emergencia en suelo bajo condiciones de laboratorio.	España	Yousef et al., 2018
<i>M. guizhouense</i>	<i>Z. cucurbitae</i>	Efecto sobre la competitividad sexual y la propensión al apareamiento.	Tailandia	Thaochan & Ngampongsai 2015
<i>P. lilacinus</i>	<i>Z. cucurbitae</i>	Susceptibilidad de adultos en condiciones de laboratorio.	India	Amala et al. 2013