



DOI: 10.29298/rmcf.v13i73.1261

Artículo

**Identificación y distribución del mosquito fungoso negro, *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912 (Diptera: Sciaridae) en viveros de clima templado**

**Identification and distribution of the black fungus gnat *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912 (Diptera: Sciaridae) in temperate climate nurseries**

Víctor Hugo Marín Cruz<sup>1</sup>, David Cibrián Tovar<sup>2</sup>, Silvia Edith García Díaz<sup>2</sup>, Omar Alejandro Pérez Vera<sup>2\*</sup>, Herón Huerta Jiménez<sup>3</sup>, Edgar Magdaleno Hernández<sup>4</sup>

Fecha de recepción/Reception date: 17 de marzo de 2022

Fecha de aceptación/Acceptance date: 11 de agosto de 2022

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Forestales, División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. México.

<sup>2</sup>División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. México.

<sup>3</sup>Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE). México.

<sup>4</sup>Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. México.

\*Autor por correspondencia; correo-e: [oalejandroversa@gmail.com](mailto:oalejandroversa@gmail.com)

\*Corresponding author; e-mail: [oalejandroversa@gmail.com](mailto:oalejandroversa@gmail.com)

### Resumen

El mosquito fungoso negro es un díptero que causa severos daños en plantas ornamentales y en viveros forestales que cultivan especies de *Pinus* en el centro de México, con pérdidas superiores al 30 %. Los informes más recientes del mosquito fungoso negro son de 2013 y 2015; se desconoce la distribución actual del género *Bradysia*. Por lo anterior, los objetivos del presente estudio consistieron en identificar morfológica y molecularmente a las especies del mosquito, conocer su distribución y las especies de pino que ataca en cinco regiones de México. Se realizó un muestreo de abril a junio de 2019 en 20 viveros con especies de pino. Las muestras recolectadas se colocaron en cámaras de emergencia durante 45 días en condiciones de fotoperiodo 12:12 h y humedad relativa (HR) de 75 %. Se obtuvieron 934 adultos, y la especie identificada por caracterización morfológica y un fragmento del gen mitocondrial COI correspondió a *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae), presente en 17 especies de pino y, como nuevos hospederos, en *Pinus arizonica*, *P. ayacahuite*, *P. cembroides*, *P. cooperi*, *P. douglasiana*, *P. durangensis*, *P. engelmannii*, *P. hartwegii*, *P. leiophylla*, *P. oaxacana*, *P. oocarpa*, *P. patula* y *P. teocote*. Además, el mosquito fungoso se registró en nueve estados mexicanos: Chiapas, Chihuahua, Durango, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Querétaro, Veracruz y Zacatecas. Actualmente, *B. impatiens* se conoce en 15 estados de la república mexicana.

**Palabras clave:** *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912), COI, mosquito fungoso negro, *Pinus*, plaga, viveros forestales.

### Abstract

The black fungus gnat is a dipteran that causes severe damage to ornamental plants and forest nurseries with *Pinus* species in central Mexico, with losses over 30 %. The most recent reports of the black fungus gnat are from 2013 and 2015; the current distribution of the genus *Bradysia* sp. is unknown. Therefore, the objectives of this study were to identify the black fungus gnat morphologically and molecularly, as well as to know its distribution

on pine species on five regions of Mexico. Sampling was carried out from April to June 2019 in 20 nurseries with pine species. The collected samples were placed in emergency chambers for 45 days under photoperiod conditions of 12:12 h and relative humidity (*RH*) of 75 % for obtaining the adults. 934 adults of black fungus gnat were obtained, and the species identified by morphology and molecularly through a fragment of the mitochondrial COI gene corresponds to *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae), present in 17 pine species, including *Pinus arizonica*, *P. ayacahuite*, *P. cembroides*, *P. cooperi*, *P. douglasiana*, *P. durangensis*, *P. engelmannii*, *P. hartwegii*, *P. leiophylla*, *P. oaxacana*, *P. oocarpa*, *P. patula* and *P. teocote*, as new hosts. In addition, the fungus gnat is recorded for the first time in nine Mexican states: *Chiapas*, *Chihuahua*, *Durango*, *Hidalgo*, *Jalisco*, *Oaxaca*, *Querétaro*, *Veracruz* and *Zacatecas*. Currently, *B. impatiens* is known in 15 states of Mexico.

**Key words:** *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912), COI, black fungus gnat, *Pinus*, pest, forest nurseries.

## Introducción

En la actualidad, en México el 90% de las plantas de coníferas se producen en viveros forestales bajo un sistema de producción de contenedores (Conafor, 2016). En estos viveros, el mosquito fungoso negro de la familia Sciaridae es considerado una plaga. En el mundo se han descrito alrededor de 2 400 especies (Mohrig y Menzel, 2009). En la región Neártica, que comprende Canadá, Estados Unidos y Norte de México, se estiman 166 especies de 25 géneros (Mohrig *et al.*, 2012). A pesar de su importancia económica y ecológica, los ciáridos han sido poco estudiados debido a su tamaño pequeño, modo de vida y la dificultad para determinar su identidad taxonómica (Mohrig y Menzel, 2009; Villanueva-Sánchez *et al.*, 2013).

En viveros del centro de México, las especies *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912 y *Lycoriella ingenua* Dufour, 1839 causan pérdidas económicas hasta de 30 % en la producción de plántulas de pino, aun cuando se aplica medidas culturales de control biológico, químico y físico (Cibrián *et al.*, 2008; Marín-Cruz *et al.*, 2015a; García, 2017). En Italia, *B. impatiens* causa daños en plantas de eucalipto (Mansilla *et al.*, 2001) y en Sudáfrica ataca plántulas de pino (Hurley *et al.*, 2007, Hurley *et al.*, 2010).

Ambas especies de dípteros son comunes en invernaderos, viveros, plantas en macetas, cultivo de hongos comestibles y materia orgánica en descomposición (Menzel *et al.*, 2003; Mohrig y Menzel, 2009; Shin *et al.*, 2012). *Bradysia* Winnertz es el género más numeroso en la familia con 433 especies en comparación con las 85 especies de *Lycoriella* (Menzel y Mohrig, 1999).

Las larvas de los ciáridos provocan daño directo al alimentarse de la raíz e indirecto por la capacidad de transmitir hongos fitopatógenos como *Botrytis cinérea* Pers. 1797, *Pythium* sp. nov., *Fusarium oxysporum* Schltd., 1824, *Verticillium alboatrum* Reinke & Berthold, 1879, *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebr., 1936 y *Fusarium circinatum* Nirenberg & O' Donnell 1998 (Hurley *et al.*, 2007; Shamshad *et al.*, 2009; Cloyd, 2015; Marín-Cruz *et al.*, 2015b). Estos insectos se dispersan a nuevas áreas por medio del movimiento de plantas por los humanos y de sustratos como la turba (Marín-Cruz *et al.*, 2015b); su presencia es cosmopolita (Mohrig *et al.*, 2012; Shin *et al.*, 2012). En México se desconoce la extensión actual que ocupa el mosquito fungoso y que especies de ciáridos están en las especies de pino. Por lo anterior, los objetivos del presente estudio consistieron en identificar a las especies de mosquito fungoso negro por caracterización morfológica y molecular, y conocer su distribución y las especies de pino que atacan en cinco regiones de México.

## **Materiales y Métodos**

### **Recolección de muestras**

Las muestras se recolectaron en 20 viveros forestales (abril a junio de 2019), los cuales producen pinos para la reforestación; 19 viveros tienen el sistema de producción en contenedores y uno usa bolsa de polipropileno (La Gloria). Los viveros se localizan en 12 estados de la república mexicana (Cuadro 1) y que pertenecen a cinco regiones geográficas (I=Norte, II=Occidente, III=Centro, IV=Golfo, V=Sur). En cada vivero se recolectaron muestras por especie en producción al momento de la visita, cuya selección se hizo mediante un muestreo dirigido.

**Cuadro 1.** Localización de viveros forestales en el ciclo de producción 2018-2019 en cinco regiones de México.

Región	Estado	Municipio	Vivero	Coordenadas	Altitud msnm
I=Norte	Chihuahua	Delicias	El Forestal	28°08'42" N; 105°31'04" W	1 193
		Bocoyna	El Ciruelo	28°02'08" N; 107°36'12" W	2 451
	Durango	Durango	Francisco Villa	23°58'22" N; 104°35'53" W	1 875
		Santiago Papasquiaro	Cielo Azul	25°02'09" N; 105°15'40" W	2 077
	Zacatecas	Tlaltenango	Tlaltenango	21°46'12" N; 103°17'29" W	1 723
II=Occidente	Jalisco	Gómez Farías	MASVI	19°48'53" N; 103°28'53" W	1 527
		Sayula	Provincia de Avalos	19°52'46" N; 103°35'50" W	1 370
	Michoacán	Zinapécuaro	Atzimba	19°51'23" N; 100°51'53" W	1 845
III=Centro	Querétaro	Amealco de Bonfil	Ignacio Pérez	20°32'00" N; 100°11'01" W	1 912
	Hidalgo	Zimapán	Zimapán	20°44'38" N; 99°23'15" W	1 799
		Jilotepec	Teoran Productores	19°59'00" N; 99°33'10" W	2 520
	Estado de México	Temamatla	Temamatla	19°11'12" N; 98°52'23" W	2 289
		Chignahuapan	El Rincón	19°46'15" N; 98°01'05" W	2 423
			Pueblo Nuevo	19°57'35" N; 98°06'26" W	2 603
	Puebla	Vicente Guerrero	Plantaciones Teotlalco	18°27'54" N; 98°46'32" W	1 027
IV=Golfo	Veracruz	Perote	Perote	19°34'51" N; 97°13'30" W	2 409
			La Gloria	19°36'20" N; 97°12'18" W	2 426
V=Sur	Oaxaca	Tamazulapan	Tamazulapan	17°41'06" N; 97°35'08" W	1 965
		Monjas	Los Pocitos	16°21'55" N; 96°37'43" W	1 523
	Chiapas	Cintalapa	San Agustín	16°28'06" N; 93°59'57" W	699

Las muestras consistieron en cuatro plantas con cepellón por especie. Solo se escogieron ejemplares con manifestaciones de marchitez, follaje de color verde amarillento, desprendimiento de hojas, pudrición de raíz y poco crecimiento, síntomas provocados por las larvas del mosquito fungoso en pino. Cada muestra se guardó en bolsas herméticas Ziploc® para evitar la posible contaminación de otras muestras. En total se recolectaron 20 muestras del género *Pinus* (80 árboles). Las muestras se procesaron en el insectario del Laboratorio de Parasitología Forestal en la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo para su análisis correspondiente.

## **Procesamiento de plantas recolectadas y emergencia de adultos**

Las plantas recolectadas con cepellón se colocaron en cámaras de emergencia de adultos en condiciones de fotoperiodo 12:12 h y humedad relativa (*HR*) de 75 %. Las cámaras consistieron en envases de un litro, de plástico transparente con tapa perforada en el centro con un círculo de 3 cm de diámetro (para recolectar los adultos de mosquito fungoso, así como suministrar agua y alimento); esta perforación se cubrió con un tapón de gasa y algodón. Las cámaras de emergencia se revisaron cada 24 horas durante 45 días. De cada una de las muestras colocadas en las cámaras de cría, se tomaron ejemplares adultos del mosquito fungoso con un aspirador manual, mismos que se sacrificaron y se conservaron en etanol al 70 % y 100 % para su identificación morfológica y molecular.

## **Identificación morfológica**

La identificación de los ejemplares se hizo con un microscopio estereoscopio Leica® EZ4; en primera instancia, se les separó por sexo. Posteriormente, a 20 machos se les realizaron cortes de los genitales, cabeza, palpos, tibias y alas, estructuras que se prepararon en laminillas con azul de algodón para aclarar los tejidos (Poinar y Thomas, 1984). Se utilizó un microscopio óptico compuesto Leica® M80 y una cámara modelo DFC295 de la misma marca, con la cual se tomaron fotografías de las estructuras con fines de determinación de las especies. Para ello se usaron las claves taxonómicas de la familia Sciaridae de Menzel *et al.* (2003), Mohrig y Menzel (2009), Mohrig *et al.* (2012), Shin *et al.* (2012) y Marín-Cruz *et al.* (2015a).

A fin de corroborar la identificación taxonómica, se envió una muestra de 8 adultos (4 ♂ y 4 ♀) por vivero al M. C. Herón Huerta, responsable de la Colección de Artrópodos con Importancia Médica (CAIM) del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE). El material fue depositado en la colección entomológica de la División de Ciencias Forestales (Dicifo) de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) con número de registro 28x+48.

## **Extracción de ADN, amplificación del gen COI, PCR y análisis**

El ADN genómico se extrajo a partir de adultos completos (un adulto por vivero) por el método de CTAB (Stewart y Via, 1993). El ADN se cuantificó en un Nanodrop ND 1 000

(Thermo Scientific, USA). De cada una de las muestras de ADN se prepararon diluciones a 20 ng para la amplificación del gen Citocromo Oxidada I (COI) por medio de la PCR con los oligonucleótidos LCO1490 (GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG) y HCO2198 (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA) (Folmer *et al.*, 1994). Los productos amplificados se limpiaron con kit ExoSAP-IT™ (Thermo Fisher Scientific, USA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante, se enviaron a secuenciar en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Las secuencias se ensamblaron y editaron con Bioedit 7.0.5 (Hall, 1999) y se compararon con secuencias depositadas en el *GenBank* del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*, [www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)) por medio del programa BLAST. Para confirmar la identificación morfológica, se llevó a cabo un análisis filogenético con secuencias de referencia del *GenBank* (KX538548, MW798234, OM421642) y junto con las obtenidas de este estudio fueron alineados con el método *Clustal W* y procesadas con el método *Maximun Likelihood* basado en el modelo de Tamura de tres parámetros con 5 000 replicaciones *bootstrap* (Tamura, 1992) con el programa MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021).

Para el árbol filogenético se usó como raíz una secuencia de *Psychoda alternata* Say, 1824 del *GenBank* con número de acceso LC422861. Todas las secuencias de este estudio fueron depositadas en el *GenBank* para obtener su número de acceso.

## Resultados y Discusión



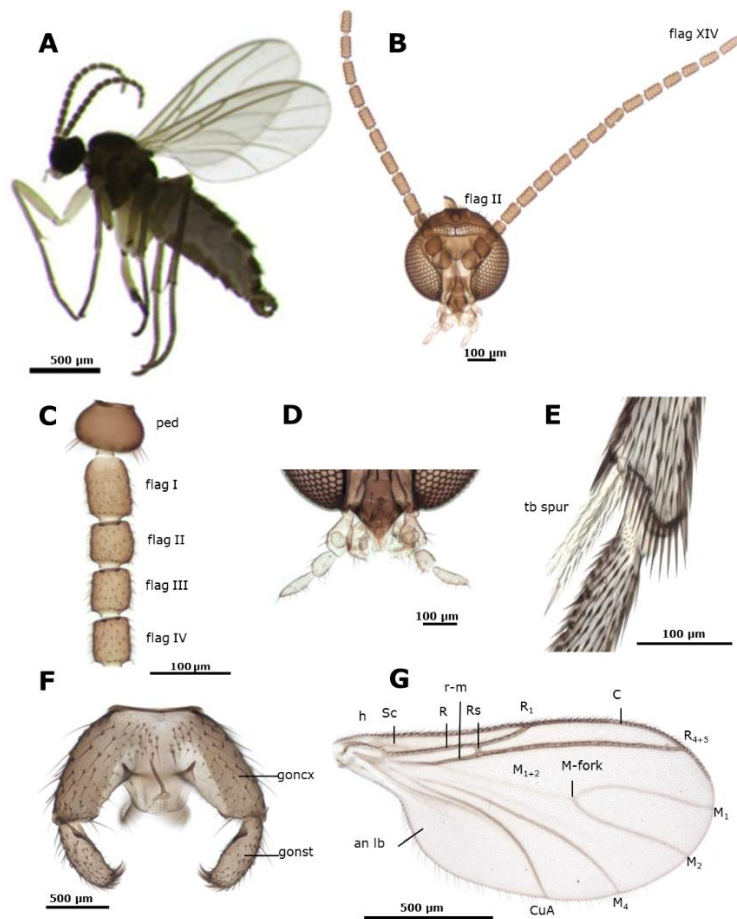
En total se recolectaron 934 adultos de mosquito fungoso negro con un promedio de 46.7 adultos por vivero forestal y 100 % correspondieron a la especie *B. impatiens*, considerada la plaga principal en las cinco regiones de muestreo (Figura 1).



**Figura 1.** Distribución de *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912 en México.

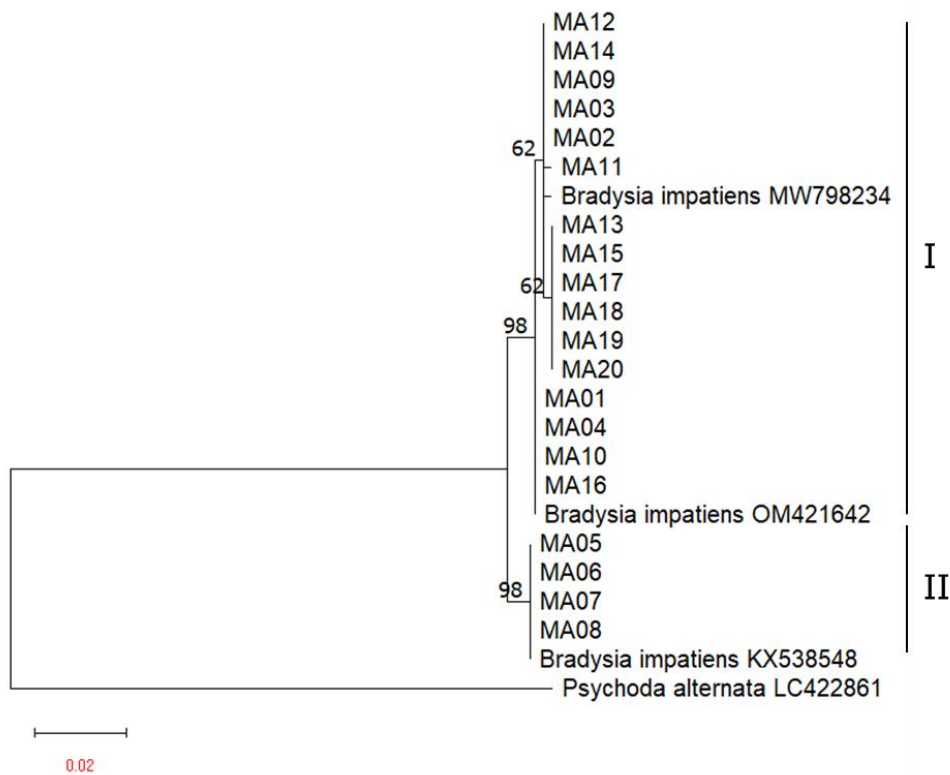
A fin de facilitar la identificación de *B. impatiens*, a continuación se describen sus características: Adultos de color gris oscuro a negro, de 2 a 2.5 mm de longitud,

hembra más grande que el macho. Cabeza redondeada a ovoide con ojos moderadamente prominentes con piezas bucales ligeramente prolongadas (Figura 2A). Antena: 14 flagelómeros, cuarto flagelómero 1.6 veces más largo que ancho, superficie ligeramente rugosa (Figura 2B-C). Palpo: moderadamente largo, amarillo a pardo claro, con tres segmentos, segmento basal con la fosa sensorial profunda, sensilas largas, ligeramente curvadas con punta roma (Figura 2D). Tibia: Lado interno de la tibia anterior con una hilera de 10 sedas; tibia media y posterior con dos sedas delgadas en forma de espolones, subiguales (Figura 2E). Genitales: compactados, sin lóbulo basal o grupo de sedas en la vista ventral. Gonocoxito corto, cubierto con sedas oscuras, así como sedas gruesas y largas principalmente en la base (Figura 2F). Tergito 9 corto, trapezoidal, ligeramente emarginado apicalmente con varias sedas largas. Tegmen ligeramente más ancho que largo, redondeado apicalmente; edeago con base esclerotizada, longitud 0.1 mm. Gonostilo: 2.5 veces más largo que ancho, ocho espinas subiguales curvadas ventromedialmente y una espina apical gruesa (Figura 2F). Ala: con longitud total 1.95 mm, anchura 0.80 mm, infuscada grisácea-parda; venas posteriores sin macrotriquias; base de la M más larga que la bifurcación de M (Figura 2G).



**Figura 2.** Vista lateral de adulto de *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912. A) Hábito ( $\sigma$ ); B) Cabeza vista frontal; C) Vista lateral de flagelómeros antenales; D) Palpo; E) Espolón tibial; F) Genitalia, vista ventral; G) Ala. Abreviaturas: flag I, flag II, flag III, flag IV, flag; XIV: primer, segundo, tercer, cuarto, décimo cuarto flagelómero antenal; tb spur: espolón tibial; goncx: gonocoxito; gonst: gonostilo; h: vena humeral; Sc: vena subcostal; R: vena radial; r-m: vena transversal radio medial; Rs: sector radial; R<sub>1</sub>: primera vena longitudinal; C: vena costal; R<sub>4+5</sub>: tercera vena longitudinal; M<sub>1</sub>: primera rama de la vena media; M<sub>2</sub>: segunda rama de la vena media; M<sub>4</sub>: cuarta rama de la vena media; M<sub>1+2</sub>: fusión de la primera y segunda rama de la vena media; M-fork: bifurcación de la vena medial; CuA: vena cubital anterior; an lb: lóbulo anal.

La identificación genética confirmó la identificación morfológica: los dípteros que emergieron de las cámaras de cría pertenecen a *B. impatiens*, con 99.6 % de identidad con las disponibles en *Genbank* (Figura 3, Cuadro 2). El árbol filogenético muestra la formación de dos grupos: Grupo 1, conformado por adultos del mosquito fungoso de 16 viveros forestales de las regiones Norte, Occidente, Centro y Golfo; Grupo 2, formado por un vivero del centro (Teoran Productores) y tres de la región del sur (Chiapas: Los Pocitos y San Agustín; Oaxaca: Tamazulapan).



**Figura 3.** Árbol filogenético construido con secuencias correspondientes al Citocromo oxidasa I (COI) de *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912 con el método *maximum likelihood* basado en el modelo de Tamura de tres parámetros (T92). Los porcentajes se calcularon con 5 000 réplicas de *bootstrap*.

**Cuadro 2.** Viveros con especies de pino con presencia de *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912, clave de colecta y número de acceso en *GenBank*.

<b>Vivero</b>	<b>Especie</b>	<b>Clave</b>	<b>Número Genbank</b>
El Forestal	<i>Pinus engelmannii</i> Carrière	MA17	MT827936
El Ciruelo	<i>Pinus durangensis</i> Martínez	MA04	MT827923
Francisco Villa	<i>Pinus cooperi</i> C. E. Blanco	MA02	MT827921
Cielo Azul	<i>Pinus arizonica</i> Engelm.	MA11	MT827930
Tlaltenango	<i>Pinus leiophylla</i> Schiede ex Schltdl. & Cham.	MA03	MT827922
MASVI	<i>Pinus douglasiana</i> Martínez	MA12	MT827931
Provincia de Avalos	<i>Pinus devoniana</i> Lindl.	MA13	MT827932
Atzimba	<i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl.	MA01	MT827920
Ignacio Pérez	<i>Pinus greggii</i> Engelm. ex Parl.	MA09	MT827928
Zimapán	<i>Pinus cembroides</i> Zucc.	MA14	MT827933
Teoran Productores	<i>Pinus ayacahuite</i> C. Ehrenb. ex Schltdl.	MA07	MT827926
Temamatla	<i>Pinus hartwegii</i> Lindl.	MA16	MT827935
El Rincón	<i>Pinus teocote</i> Schltdl. & Cham.	MA10	MT827929
Pueblo Nuevo	<i>Pinus montezumae</i> Lamb.	MA18	MT827937
Plantaciones Teotlalco	<i>Pinus oaxacana</i> Mirov	MA15	MT827934
Perote	<i>Pinus patula</i> Schltdl. & Cham.	MA19	MT827938
La Gloria	<i>Pinus montezumae</i> Lamb.	MA20	MT827939
Tamazulapam	<i>Pinus devoniana</i> Lindl.	MA08	MT827927
Los Pocitos	<i>Pinus devoniana</i> Lindl.	MA06	MT827925
San Agustín	<i>Pinus oocarpa</i> Schiede ex Schltdl.	MA05	MT827924

El alineamiento de las secuencias arrojó una matriz de 540 pb por secuencia. Este marcador molecular, Citocromo Oxidada I (COI), es útil para la identificación a nivel de especie a partir de estados inmaduros de *Bradysia* sp. (Shin *et al.*, 2015). Además, se debe de considerar el diseño de un par de oligonucleótidos específicos para esta especie de mosquito fungoso negro a partir del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI) en combinación con los oligonucleótidos LCO1490 y HCO2198, el cual ayudaría a identificar más rápido. Caso similar fue utilizado para identificar a *B. odoriphaga* Yang y Zhang en Japón (Arimoto, 2022).

La localización del mosquito fungoso negro en México es la siguiente: Ciudad de México, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla y Tlaxcala (Villanueva *et al.*, 2013; García, 2017), por lo que Chiapas, Chihuahua, Durango, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Querétaro, Veracruz y Zacatecas corresponden a nuevos reportes para el país (Figura 1). Esta especie tiene un amplio intervalo de distribución, ya que las localidades donde está presente se ubican desde los 699 hasta 2 603 msnm y distancias de 800 a 1 800 km entre cada vivero, esto hace imposible que *B. impatiens* pueda migrar naturalmente (Cuadro 1, Figura 1).

Steffan (1981), Frouz y Nováková (2001) y Marín-Cruz *et al.* (2015a) mencionaron que el insecto tiene poca capacidad de vuelo, su duración de vida como adultos es de 4 a 6 días y sus hábitos impiden que pueda moverse a grandes distancias. Mohring *et al.* (2012) consideran que la diseminación de *B. impatiens* es principalmente por el ser humano.

La especie se ha registrado en Europa (Alemania, Azerbaiyán, España, Finlandia, Países Bajos, Irlanda, Italia, Letonia, Reino Unido, República Checa, Suiza y Ucrania), Asia (China, Corea del Sur, Japón y Rusia), América (Brasil, Canadá, Estados Unidos y Venezuela), África (Sudáfrica) y Oceanía (Australia) en cultivos bajo cubierta y en viveros (Menzel *et al.*, 2003; Mohring *et al.*, 2012; Shin *et al.*, 2012). Esta especie de

díptero causa pérdidas económicas considerables en el centro de país en la producción de plantas de *Pinus montezumae* Lamb., *P. greggii* Engelm. ex Parl., *P. devoniana* Lindl. (Syn.: *P. michoacana* Martínez 1948) y *P. pseudostrobus* Lindl. (López-Pérez *et al.*, 2009; Marín-Cruz *et al.*, 2015b; García *et al.*, 2017; Marín *et al.*, 2017).

Además, se tienen informes que *B. difformis* (como *B. impatiens*) se hospeda y se alimenta del tallo y de la raíz de la Nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex. Klotzch) (Villanueva-Sánchez *et al.*, 2013) y otras ornamentales como ciclamen (*Cyclamen* sp. L.), clavel (*Dianthus* sp. L.), gerbera (*Gerbera* sp. L.), lirio (*Lilium* sp. L.), rosa (*Rosa* sp. L.), violeta africana (*Saintpaulia* sp. H. Wendl.) y geranio (*Pelargonium* sp. L'Hér.) (García, 2008; García-Pérez *et al.*, 2021). Sin embargo, se debe considerar la presencia de otras especies del género, principalmente en la parte sur de México por formar parte de la región neotropical, donde existen pocos estudios relacionados con este grupo de insectos.

Para la región neotropical conformada por América del Sur, Centroamérica y el Caribe, se consignan aproximadamente 62 especies de *Bradysia* (Amorim, 1992). Broadley *et al.* (2018) han registrado en la región holártica a *B. impatiens*, *B. ocellaris* Comstock, 1882, *B. tilicola* Loew, 1850, *Cosmosciara* sp. Frey, 1942, *Lycoriella agraria* Felt, 1898, *L. ingenua* Dufour, 1939, *L. sativae* Johannsen, 1912 y *Pnyxia scabiei* Hopkins, 1895 como plaga por alimentarse del tejido vivo de las plantas.

La obtención de adultos de plantas con síntomas de daño del mosquito fungoso indica que puede habitar y reproducirse en especies del género *Pinus*, sin importar el hábito de crecimiento, requerimientos de humedad, el sistema de producción (contenedores o bolsa de polietileno) y el tipo de sustrato (composta, tierra de monte, corteza precompostada, aserrín, turba, vermiculita o agrolita).

Por último, este estudio proporciona evidencia de que *B. impatiens* tiene una gran plasticidad para adaptarse a diferentes alturas, condiciones ambientales y hospederos. En este estudio, se reporta el mosco fungoso como el causante de pérdida de plantas en 17 especies de pino en 12 estados de la república mexicana y, como nuevos

hospederos, se establecen 13 especies del género *Pinus* (*P. arizonica*, *P. ayacahuite*, *P. cembroides*, *P. cooperi*, *P. douglasiana*, *P. durangensis*, *P. engelmannii*, *P. hartwegii*, *P. leiophylla*, *P. oaxacana*, *P. oocarpa*, *P. patula* y *P. teocote*).

## Conclusiones

Los resultados de la caracterización morfológica y análisis molecular del mosquito fungoso negro confirmaron que los ciáridos obtenidos de plántulas de pino corresponden a *Bradysia impatiens*, que es el causante de la pérdida de ejemplares en 17 especies de pino de cinco regiones de México. De las 17 especies, 13 constituyen registros nuevos como hospederas de la especie de díptero (*Pinus arizonica*, *P. ayacahuite*, *P. cembroides*, *P. cooperi*, *P. douglasiana*, *P. durangensis*, *P. engelmannii*, *P. hartwegii*, *P. leiophylla*, *P. oaxacana*, *P. oocarpa*, *P. patula* y *P. teocote*). Además, se registra por primera vez el mosquito fungoso en nueve estados: Chiapas, Chihuahua, Durango, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Querétaro, Veracruz y Zacatecas. Actualmente, *B. impatiens* se conoce en 15 estados del país.

## Agradecimientos

Al Conacyt por el apoyo de la beca de estancia postdoctoral; a la Maestría en Ciencias Forestales por recibir al primer autor para realizar una estancia postdoctoral; a la Dra. Amparo Borja de la Rosa por toda la confianza y apoyo brindado; a los viveristas que amablemente permitieron el acceso y toma de muestra en sus instalaciones. Al Fondo Sectorial Conacyt-Conafor 2018-1 A-S-



67865 mediante el proyecto "Monitoreo, evaluación de daños, manejo preventivo y control de la secadera y pudrición de raíz causadas por *Fusarium* spp., y las moscas fungosas *Bradysia* y *Lycoriella*".

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

### **Contribución por autor**

Víctor Hugo Marín Cruz: colecta en campo e identificación, elaboración y corrección del manuscrito; David Cibrián Tovar y Silvia Edith García Díaz: elaboración y corrección del manuscrito; Omar Alejandro Pérez Vera: análisis filogenético, elaboración y corrección del manuscrito; Herón Huerta Jiménez: identificación y toma de fotografías; Edgar Magdaleno Hernández: elaboración del manuscrito.

### **Referencias**

- Amorim, D. de S. 1992. A catalogue of the family Sciaridae (Diptera) of the Americas south of the United States. *Revista Brasileira de Entomologia* 36(1):55-77. [http://www.online-keys.net/sciaroidea/add01/Amorim\\_1992\\_cat\\_of\\_sciaridae.pdf](http://www.online-keys.net/sciaroidea/add01/Amorim_1992_cat_of_sciaridae.pdf). (16 de febrero del 2022).
- Arimoto, M. 2022. Development of molecular identification methods for a sciarid fly, *Bradysia odoriphaga* (Diptera: Sciaridae). *Japan Agricultural Research Quarterly* 56(1):19-24. [https://www.jircas.go.jp/sites/default/files/publication/jarq/jarq56-1\\_19-24.pdf](https://www.jircas.go.jp/sites/default/files/publication/jarq/jarq56-1_19-24.pdf). (10 de febrero del 2022).

Broadley, A., E. Kauschke and W. Mohrig. 2018. Black fungus gnats (Diptera: Sciaridae) found in association with cultivated plants and mushrooms in Australia, with notes on cosmopolitan pest species and biosecurity interceptions. *Zootaxa* 4415(2):201-242. Doi: 10.11646/zootaxa.4415.2.1.

Cibrián T., D., S. García D. y B. Don Juan M. 2008. Manual Identificación y manejo de plagas y enfermedades en viveros forestales. Comisión Nacional Forestal (Conafor). Zapopan, Jal., México. 144 p. <http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/MANUALES%20PROD%20PLANTA%20SANIDAD.pdf>. (11 de junio del 2020).

Cloyd, R. A. 2015. Ecology of fungus gnats (*Bradysia* spp.) in greenhouse production systems associated with disease-interactions and alternative management strategies. *Insects* 6(2):325-332. Doi: 10.3390/insects6020325.

Comisión Nacional Forestal (Conafor). 2016. La CONAFOR incrementa la calidad de la producción de planta (Boletín 154). Zapopan, Jal., México. 2 p. <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/7/6426Incrementa%20la%20calidad%20de%20la%20producci%C3%B3n%20de%20planta.pdf>. (06 de junio del 2020).

Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5):294-299. [https://www.researchgate.net/publication/15316743\\_DNA\\_primers\\_for\\_amplification\\_of\\_mitochondrial\\_Cytochrome\\_C\\_oxidase\\_subunit\\_I\\_from\\_diverse\\_metazoan\\_invertebrates](https://www.researchgate.net/publication/15316743_DNA_primers_for_amplification_of_mitochondrial_Cytochrome_C_oxidase_subunit_I_from_diverse_metazoan_invertebrates). (20 de diciembre del 2020).

Frouz, J. and A. Nováková. 2001. A new method for rearing the sciarid fly, *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae), in the laboratory: possible implications for the study of fly-fungal interactions. *Pedobiología* 45(4):329-340. Doi: 10.1078/0031-4056-00090.

García D., S. E. 2017. Especies de *Fusarium* asociadas a la secadera y pudrición de raíz de pino en viveros forestales del centro de México: patogenicidad y biocontrol.

Tesis de Doctorado. Postgrado de Fitosanidad, Fitopatología. Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Edo. Méx., México. 157 p.

García P., F. 2008. Fungus gnat: insecto plaga en ornamentales. Desplegable informativo Núm. 31. Instituto Nacional de investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Zacatepec, Mor., México. 6 p.

García-Pérez, F., J. Dorantes-Jiménez, C. Sánchez-Hernández, S. I. Soto-García and E. Villanueva-Sánchez. 2021. Biological cycle of the fungus gnat *Bradysia* sp. in a Lily (*Lilium* spp.) crop. *Southwestern Entomologist* 46(4):971-976. Doi: 10.3958/059.046.0418.

Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95-96. [https://scholar.google.com.mx/scholar?q=BioEdit:+a+user-friendly+biological+sequence+alignment+editor+and+analysis+program+for+Windows+95/98/NT.&hl=es&as\\_sdt=0&as\\_vis=1&oi=scholart](https://scholar.google.com.mx/scholar?q=BioEdit:+a+user-friendly+biological+sequence+alignment+editor+and+analysis+program+for+Windows+95/98/NT.&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholart). (06 de junio del 2020).

Hurley, B. P., B. Slippers, B. D. Wingfield, P. Govender, J. E. Smith and M. J. Wingfield. 2010. Genetic diversity of *Bradysia difformis* (Sciaridae: Diptera) populations reflects movement of an invasive insect between forestry nurseries. *Biological Invasions* 12(4):729-733. Doi: 10.1007/s10530-009-9509-1.

Hurley, B. P., B. Slippers, T. A. Coutinho, B. D. Wingfield, P. Govender and M. J. Wingfield. 2007. Molecular detection of fungi carried by *Bradysia difformis* (Sciaridae: Diptera) in South African forestry nurseries. *Southern Hemisphere Forestry Journal* 69(2):103-109. Doi: 10.2989/SHFJ.2007.69.2.5.291.

López-Pérez, I., A. Plascencia-González, L. Martínez-Rocha y Ma. S. González-Villalobos. 2009. Monitoreo poblacional de *Bradysia* (Winnertz) como una herramienta para su control, en Morelia, Michoacán, México. In: Equihua M., A., E. Estrada V., J. A. Acuña S. y M. P. Cháirez G. (Edits.). *Memoria del XV Simposio*

Nacional de Parasitología Forestal. Colegio de Postgraduados Montecillo. Texcoco, Edo.Méx., México. pp. 185-190.

Mansilla, J. P., M. I. Pastoriza y R. Pérez. 2001. Estudio sobre la biología y control de *Bradysia paupera* Tuomikoski (= *Bradysia difformis* Frey) (Diptera: Sciaridae). Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 27(3):411-417. [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf\\_plagas%2FBSVP-27-03-411-417.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_plagas%2FBSVP-27-03-411-417.pdf). (5 de junio de 2020).

Marín C., V. H., H. Huerta y S. Rodríguez N. 2017. Familia Sciaridae. In: Cibrián T., D. (Edit.). Fundamentos de entomología forestal. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo.Méx., México. pp. 370-372.

Marín-Cruz, V. H., D. Cibrián-Tovar, J. T. Méndez-Montiel, O. A. Pérez-Vera, J. A. Cadena-Meneses, H. Huerta, G. Rodríguez-Yam y J. A. Cruz-Rodríguez. 2015a. Biología de *Lycoriella ingenua* y *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). Madera y Bosques 21(1):113-128. Doi: 10.21829/myb.2015.211436.

Marín-Cruz, V. H., D. Cibrián-Tovar, J. T. Méndez-Montiel, O. A. Pérez-Vera y J. A. Cadena-Meneses. 2015b. Control del mosco fungoso negro *Lycoriella ingenua* (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Diptera: Sciaridae) en *Pinus montezumae* Lamb. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 6(27):90-100. Doi: 10.29298/rmcf.v6i27.283.

Menzel, F. and W. Mohrig. 1999. Revision der paläarktischen trauermücken (Diptera: Sciaridae). Studia Dipterologica Supplement 6. Ampyx Verlag. Halle, ST Germany. 761 p. [https://www.researchgate.net/publication/282151349\\_Revision\\_der\\_palaarktischen\\_Trauermucken\\_Diptera\\_Sciaridae](https://www.researchgate.net/publication/282151349_Revision_der_palaarktischen_Trauermucken_Diptera_Sciaridae). (15 de diciembre del 2020).

Menzel, F., J. E. Smith and N. B. Colauto. 2003. *Bradysia difformis* Frey and *Bradysia ocellaris* (Comstock): two additional neotropical species of black fungus gnats (Diptera: Sciaridae) of economic importance: a redescription and review.

Annals of the Entomological Society of America 96(4):448-457. Doi: [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2003\)096\[0448:BDFABO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2003)096[0448:BDFABO]2.0.CO;2).

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

Mohrig, W., K. Heller, H. Hippa, P. Vilkamaa and F. Menzel. 2012. Revision of the black fungus gnats (Diptera: Sciaridae) of North America. *Studia Dipterologica* 19:141-286. [https://www.researchgate.net/publication/262935437\\_Revision\\_of\\_Black\\_Fungus\\_Gnats\\_Diptera\\_Sciaridae\\_of\\_North\\_America](https://www.researchgate.net/publication/262935437_Revision_of_Black_Fungus_Gnats_Diptera_Sciaridae_of_North_America). (14 de diciembre de 2020).

Poinar, G. O. and G. M. Thomas. 1984. Laboratory guide to insect pathogens and parasites. Springer. Nueva York, NY, USA. 408 p.

Shamshad, A., A. D. Clift and S. Mansfield. 2009. The effect of tibia morphology on vector competency of mushroom sciarid flies. *Journal of Applied Entomology* 133(6):484-490. Doi: 10.1111/j.1439-0418.2008.01362.x.

Shin, S., S. Jung, K. Heller, F. Menzel, T. K. Hong, J. S. Shin, S. H. Lee, H. Lee and S. Lee. 2015. DNA barcoding of *Bradysia* (Diptera: Sciaridae) for detection of the immature stages on agricultural crops. *Journal of Applied Entomology* 139(8):567-645. Doi: 10.1111/jen.12198.

Shin, S-G., H-S. Lee and S. Lee. 2012. Dark winged fungus gnats (Diptera: Sciaridae) collected from shiitake mushroom in Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 15(1):174-181. Doi: 10.1016/j.aspen.2011.09.005.

Steffan, W. A. 1981. Sciaridae. In: McAlpine, J. F., B. V. Peterson, G. E. Shewell, H. J. Teskey, J. R. Vockeroth and D. M. Wood (Coord.). Manual of Nearctic Diptera Vol. 1. Monograph No. 27. Biosystematics Research Institute and Research Branch Agriculture Canada. Ottawa. ON, Canada. pp. 247-255.

Stewart, C. N. and L. E. Via. 1993. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications. *Biotechniques* 14(5):748-750.

Tamura, K. 1992. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition and G+C-content biases. *Molecular Biology and Evolution* 9(4):678-687. Doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752.

Tamura, K., G. Stecher and S. Kumar. 2021. MEGA 11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38(7):3022-3027. Doi: 10.1093/molbev/msab120.

Villanueva-Sánchez, E., S. Ibáñez-Bernal, J. R. Lomelí-Flores y J. Valdez-Carrasco. 2013. Identificación y caracterización de la mosca negra *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae) en el cultivo de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) en el centro de México. *Acta Zoológica Mexicana* 29(2):363-375. Doi: <https://doi.org/10.21829/azm.2013.2921114>.



Todos los textos publicados por la **Revista Mexicana de Ciencias Forestales** –sin excepción– se distribuyen amparados bajo la licencia *Creative Commons 4.0 Atribución-No Comercial (CC BY-NC 4.0 Internacional)*, que permite a terceros utilizar lo publicado siempre que mencionen la autoría del trabajo y a la primera publicación en esta revista.