



**CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA**

**DIVISIÓN DE EDUCACIÓN**

**PROGRAMA DE POSGRADO**

**Evaluación del potencial de hongos entomopatógenos para el control de *Anastrepha* sp. en *Mangifera indica* L. en República Dominicana**

**Tesis sometida a consideración de la División de Educación y el Programa de Posgrado como requisito para optar al grado de**

**MAGISTER SCIENTIAE**

**Maestría Académica en Agroforestería y Agricultura Sostenible**

**Ingrid Isabel Franco Guerrero**

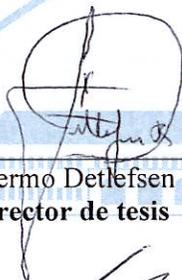
**Turrialba, Costa Rica**

**Septiembre, 2023**

Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma por la División de Educación y la Escuela de Posgrado del CATIE y aprobada por el Comité Consejero de la estudiante, como requisito parcial para optar por el grado de

**MAGISTER SCIENTIAE EN AGROFORESTERÍA Y  
AGRICULTURA SOSTENIBLE**

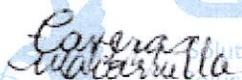
**FIRMANTES:**



Guillermo Detlefsen Rivera, M.Sc.  
**Codirector de tesis**



Eduardo Hidalgo Jaminson, Ph.D.  
**Codirector de tesis**



Rosina Taveras Macarrulla, M.Sc.  
**Miembro Comité Consejero**



Johana Gato Cárdenas, M.Sc.  
**Miembro Comité Consejero**



Mariela Leandro Muñoz, Ph.D.  
**Decana, a.i., Escuela de Posgrado**



Ingrid Isabel Franco Guerrero  
**Candidata**

## **DEDICATORIAS**

### **A Dios,**

Por iluminar siempre mi camino, por brindarme nuevas oportunidades, permitirme alcanzarlas y acompañarme en esta importante etapa de mi vida.

### **A mis padres,**

Por apoyarme en todos mis proyectos personales, enseñándome siempre a luchar por mis sueños y por estar presentes en los periodos más difíciles de este proceso de aprendizaje.

### **A mi hija,**

Ana Laura Franco, eres el mejor regalo que me ha dado la vida, cada día me inspiras a ser un mejor ser humano

### **A mis hermanos,**

Por su motivación y apoyo incondicional.

## **Agradecimientos**

A la Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinaria, Universidad autónoma de Santo Domingo, República Dominicana, especialmente a todo el personal del laboratorio de control biológico, por su apoyo y aporte a esta investigación.

A mis directores consejeros, PhD. Eduardo Hidalgo Jaminson y M. Sc. Guillermo Detlefsen, por sus enseñanzas, paciencia y dedicación en este proceso. Por compartir sus conocimientos, dedicarme tiempo y brindarme su valiosa amistad.

A los miembros del comité consejero, M. Sc. Yohana Gato Cárdenas, y M. Sc. Rosina Taveras Macarrulla, por el apoyo y cariño brindado en el desarrollo de esta investigación.

A mis profesores de maestría, especialmente al profesor Alejandro Imbach, por sus enseñanzas y consejos.

A Eduardo Corrales, por el apoyo en el proceso de análisis estadístico.

Al Ministerio de Educación Ciencia y Tecnología (Mescyt), por brindarme apoyo económico, para poder concluir mis estudios.

A mis compañeros de Maestría, promoción 2022-2023, por brindarme su amistad, compartir momentos especiales, permitirme conocer su cultura y tradiciones.

## Índice de contenidos

1. Evaluación del potencial de hongos entomopatógenos para el control de <i>Anastrepha</i> sp. en <i>Mangifera indica</i> L. en República Dominicana.....	VII
2. Resumen.....	VII
3. Abstract.....	VIII
4. Introducción.....	1
5. Metodología .....	3
5.1. Ubicación y descripción de las áreas de estudio.....	3
5.2. Muestreo de suelos.....	3
5.3. Tratamientos y diseño experimental.....	4
5.4. Aislamiento de suelos muestreados.....	4
5.4.1. Aislamientos directos a partir de suelo .....	4
5.4.2. Aislamiento con insecto cebo .....	5
5.4.3. Pruebas de patogenicidad con aislamientos.....	6
5.4.4. Documentación del uso previo de bioplaguicidas para control de <i>Anastrepha</i> sp... ..	7
5.5. Análisis estadístico.....	8
6. Resultados y Discusión .....	8
6.1. Riqueza microbiológica de los suelos en las parcelas experimentales.....	8
6.1.1. Relación entre la riqueza microbiana del suelo y la incidencia de frutos dañados por <i>Anastrepha</i> sp.....	9
6.2. Aislamiento de hongos entomopatógenos con insecto cebo.....	9
6.3. Pruebas de patogenicidad con aislados.....	10
6.3.1 Pruebas de mortalidad para larvas y adultos de <i>Anastrepha</i> sp. ....	10
6.3.2 Mortalidad de larvas y adultos de <i>Anastrepha</i> sp. con crecimiento de micelio.....	12
6.4. Documentación del uso previo de bioplaguicidas para control de <i>Anastrepha</i> sp. mediante grupos focales.....	14
7. Conclusiones.....	16
8. Recomendaciones.....	17
9. Bibliografías .....	18
10. Anexos .....	¡Error! Marcador no definido.20

## Índice de cuadros

<i>Cuadro 1.</i> Ubicación geográfica de los sitios de muestreo para análisis de los parámetros físicos, químicos, biológicos de en la presente investigación en el municipio Bani, Peravia, República Dominicana.....	12
<i>Cuadro 2.</i> Información de los aislamientos de los hongos entomopatógenos utilizados en la investigación.....	14
<i>Cuadro 3.</i> Mortalidad de adultos de <i>Anastrepha</i> sp. con 10 aislados de hongos entomopatógenos en ensayos de ambiente controlado.....	18

<i>Cuadro 4.</i> Mortalidad de larvas de <i>Anastrepha</i> sp. con 10 aislados de hongos entomopatógenos en ensayos de ambiente controlado. ....	19
<i>Cuadro 5.</i> Mortalidad de larvas y adulto y sus interacciones según el tiempo con estadístico F y valor de p-valor (p).....	20
<i>Cuadro 6.</i> Porcentaje de producción de micelio en aislados de hongos entomopatógenos con adultos de <i>Anastrepha</i> sp.....	20
<i>Cuadro 6.</i> Porcentaje de producción de micelio en aislados de hongos entomopatógenos con larvas de <i>Anastrepha</i> sp.....	21
<i>Cuadro 7.</i> Cuantificación de respuestas a las preguntas orientadoras utilizadas durante el taller de grupos focales realizado en el salón de actos de la Regional Agropecuaria Central del Ministerio de agricultura, Peravia, República Dominicana .....	22
<i>Cuadro 8.</i> Valor ponderado de las preguntas orientadoras utilizadas durante el taller de grupos focales realizado en el salón de actos de la Regional Agropecuaria Central del Ministerio de Agricultura, Peravia, República Dominicana.....	22

### Índice de figuras

<i>Figura 1.</i> Mapa de ubicación de área de estudio, en el municipio de Bani, Peravia, República Dominicana .....	11
<i>Figura 2.</i> Relación entre el manejo e infestación de lotes con la distribución de los biotipos de hongos encontrados en el presente estudio en el Municipio de Bani, Peravia, República Dominicana.....	17
<i>Figura 3.</i> Porcentaje de mortalidad acumulada a los 6DDI para larvas y 4 DDI para adultos de <i>Anastrepha</i> sp. en el municipio de Bani, Peravia, República Dominicana.....	19
<i>Figura 4.</i> Porcentaje de larvas y adultos de <i>Anastrepha</i> sp. que presentaron crecimiento de micelio al ser incubados en cámara húmeda después de morir en el ensayo de patogenicidad con hongos entomopatógenos en la presente investigación en el municipio Bani, Peravia, República Dominicana.....	21
<i>Figura 6.</i> Valoración de las preguntas orientadoras realizadas a los productores de mangos y técnicos del municipio Bani.....	23

### Índice de Anexos

<i>Anexo 1.</i> Muestreos de suelos en lotes del municipio de Bani, Peravia, República Dominicana.....	31
<i>Anexo 2.</i> Aislamiento directos a partir de suelo .....	32
<i>Anexo 3.</i> Clasificación básica para agrupación de las colonias en biotipos de acuerdo con sus características morfológicas.....	33
<i>Anexo 4.</i> Preparación de suspensiones de conidios para ser aplicadas en larvas y adultos de <i>Anastrepha</i> sp. para evaluar su capacidad de control.....	34
<i>Anexo 5.</i> Programa del taller de grupos focales realizado en el salón de actos de la Regional Agropecuaria Central del Ministerio de agricultura, Peravia, República Dominicana.....	35
<i>Anexo 6.</i> Biotipos de hongos encontrados de los lotes muestreados mediante aislamientos directos de suelos .....	36
<i>Anexo 7.</i> Hongos entomopatógenos encontrados en los lotes muestreados mediante aislamientos de suelos con insecto cebo .....	37
<i>Anexo 8.</i> Biotipos de nemátodos entomopatógenos encontrados de los lotes muestreados mediante aislamientos directos de suelos .....	38
<i>Anexo 5.</i> Interpretación de las respuestas brindadas por los productores y técnicos que participaron en el taller de grupos focales realizado en el salón de actos de la Regional Agropecuaria Central del Ministerio de agricultura, Peravia, República Dominicana.....	39

### Lista acrónimos

<b>Sigla</b>	<b>Descripción</b>
<b>ABAPROMANGO</b>	Asociación Banileja de productores de mango
<b>CATIE</b>	Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
<b>FAO</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>FAOSTAT</b>	Estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>HE</b>	Hongos Entomopatógenos
<b>IIAF</b>	Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales
<b>Moscafrut-RD</b>	Programa de mosca de la fruta de la República Dominicana
<b>MTD</b>	Moscas por Trampa por Día Instituto
<b>PDA</b>	Papa Dextrosa Agar
<b>sp</b>	Especie no determinada

### Unidades de medida

<b>Símbolo</b>	<b>Descripción</b>
<b>° C</b>	Grados centígrados
<b>min</b>	Minutos
<b>s</b>	Segundos
<b>%</b>	Porcentaje
<b>cm</b>	Centímetros
<b>ml</b>	Mililitros
<b>ha</b>	Hectárea
<b>cm<sup>3</sup></b>	Centímetro cúbico
<b>tm</b>	Toneladas métricas
<b>g</b>	Gramos
<b>µl</b>	Microlitro

# 1. Evaluación del potencial de hongos entomopatógenos para el control de *Anastrepha* sp. en *Mangifera indica* L. en República Dominicana

Ingrid Franco Guerrero<sup>1</sup>, Guillermo Detlefsen<sup>1</sup>, Eduardo Hidalgo<sup>1</sup>, Yohana Gato<sup>1</sup>, Rosina Taveras<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE, Costa Rica.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Santo Domingo, UASD, República Dominicana.

[ingrid.franco@catie.ac.cr](mailto:ingrid.franco@catie.ac.cr)

## 2. Resumen

La demanda de productos frescos en sistemas de producción agrícola para lograr la seguridad alimentaria mundial provoca la degradación de recursos naturales, lo cual impone la necesidad de buscar prácticas agroecológicas amigables que proporcionen sistemas sostenibles de producción. El objetivo de este estudio fue determinar el potencial del uso de hongos entomopatógenos nativos para el control de poblaciones de *Anastrepha* sp. en la provincia Peravia, República Dominicana. Se muestrearon seis lotes de tres localidades diferentes del municipio Baní, evaluando el manejo realizado en los lotes y la incidencia de la mosca de la fruta como factores de selección. Luego se realizaron aislamientos directos de microorganismos de suelo identificando los hongos encontrados en biotipos por sus características de crecimiento en PDA a 26°C para determinar la riqueza biológica. Además, se realizaron aislamientos con insectos cebo usando larvas de *Galleria mellonella* para coleccionar hongos entomopatógenos. Los aislamientos de hongos entomopatógenos encontrados fueron purificados para realizar ensayos de patogenicidad contra larvas y adultos de *Anastrepha* sp. Según los resultados estadísticos, no se detectaron relaciones significativas entre los tipos de manejo, incidencia y la cantidad de fruto dañado por *Anastrepha*. Sin embargo, se encontró alta diversidad microbiana en las diferentes zonas, encontrando números similares en los lotes con tipo de manejo químico y tradicional. A partir de 12 muestras de suelo se aislaron 17 biotipos, dentro de los que se reconocen hongos de los géneros *Trichoderma*, *Aspergillus* y *Penicillium*, usando medios selectivos. Además, obtuvieron 6 aislamientos de *Metarhizium* y 4 de *Paecilomyces*, utilizando insecto cebo y nemátodos entomopatógenos de los géneros *Rabditis* y *Heterorabditis*. Los hongos entomopatógenos se extrajeron con mayor proporción en lotes con manejo tradicional con baja infestación de *Anastrepha* sp. Se observó diferencias significativas ( $p < 0.0001$ ) en los ensayos de patogenicidad entre los aislamientos evaluados, principalmente debido a la velocidad para producir mortalidad en el tiempo, aunque al final de los 6 días de evaluación para larvas en transición a pupas y 4 días para adultos, todos los aislamientos provocaron mortalidad del 98 al 100 % en larvas en transición a pupas y adultos de *Anastrepha* sp. Los resultados indican que estos hongos provenientes del suelo de manera natural pueden ser efectivos para control de este insecto. Durante una validación con los productores y técnicos de la zona realizada mediante grupos focales se encontró que *Anastrepha* sp. es percibida una limitante para la producción mango las plantaciones del municipio Baní. Sin embargo, los productores y técnicos del municipio Baní afirman nunca haber utilizado productos caseros o de fabricación artesanal de origen biológico, ni conocer enemigos naturales que puedan ser utilizados para controlar *Anastrepha* sp., evidenciando desconocimiento sobre este tema bajo investigación.

**Palabras claves:** Agroecología, diversidad microbiana, patogenicidad plagas, soluciones amigables.

### 3. Abstract

The demand for fresh products in agricultural production systems to achieve global food security causes the degradation of natural resources, which imposes on us the need to seek friendly agroecological practices that provide us with sustainable production systems. The objective of this study was to determine the potential of using native entomopathogenic fungi to control populations of *Anastrepha* sp. in the Peravia province, Dominican Republic. Six batches from three different locations in the Baní municipality were sampled, evaluating the management carried out in the batches and the incidence of the fruit fly as selection factors. Then, direct isolations of soil microorganisms were performed, identifying the fungi found in biotypes by their growth characteristics in PDA at 26°C to determine the biological richness. In addition, bait insect isolations were performed using *Galleria mellonella* larvae to collect entomopathogenic fungi. The isolates of entomopathogenic fungi found were purified to carry out pathogenicity tests against larvae and adults of *Anastrepha* sp. According to the statistical results, no significant relationships were detected between the types of management, incidence and the amount of fruit damaged by *Anastrepha*. However, high microbial diversity was found in the different zones, finding similar numbers in the lots with the type of chemical and traditional management. From 12 soil samples, 17 biotypes were isolated, within which fungi of the genera *Trichoderma*, *Aspergillus* and *Penicillium* are recognized, using selective media. In addition, they obtained 6 isolates of *Metarhizium* and 4 of *Paecilomyces*, using bait insect and entomopathogenic nematodes of the genera *Rabditis* and *Heterorabditis*. Entomopathogenic fungi were extracted with a higher proportion in batches with traditional management with low infestation of *Anastrepha* sp. Significant differences ( $p < 0.0001$ ) were observed in the pathogenicity tests between the isolates evaluated, mainly due to the speed to produce mortality over time, although at the end of the 6 days of evaluation for larvae in transition to pupae and 4 days for adults, all isolates caused mortality from 98 to 100 % in larvae in transition to pupae and adults of *Anastrepha* sp. The results indicate that these naturally occurring fungi from the soil can be effective in controlling this insect. During a validation with the producers and technicians of the area carried out through focus groups, it was found that *Anastrepha* sp. a limitation is perceived for mango production in the plantations of the Baní municipality. However, the producers and technicians of the Baní municipality state that they have never used homemade or artisanal products of biological origin, nor are they aware of natural enemies that can be used to control *Anastrepha* sp., evidencing ignorance on this subject under investigation.

**Keywords:** Agroecology, friendly solutions, microbial diversity, pathogenicity, pests.

#### 4. Introducción

El mango (*Mangifera indica* L.) es una de las frutas producidas en áreas tropicales y subtropicales del mundo, por el interés del consumidor de alimentos más saludables y frescos. El mango es considerado una de las 15 frutas más comercializadas en estado fresco en el mundo con una producción mundial de 54,831,104 tm, obtenidas en una superficie cosechada de 5,522,933 ha (FAO 2014). Según información presentada en FAOSTAT (2020), el rendimiento promedio estimado es de 9.9 t m / ha. En la República Dominicana es considerado un fruto importante a nivel cultural y económico, encontrándose ampliamente distribuido en las regiones agropecuarias sur central, suroeste, noroeste (De la Rosa *et al.* 2013). El cultivo de mango registra un aumento permanente en el mercado cada día, con compradores vitales como Estados Unidos, Unión europea, Belice, Francia e Inglaterra y en los últimos años, han aumentado el consumo de esta fruta los holandeses y alemanes. Este crecimiento muestra una expansión de este cultivo y el aumento de las exportaciones lo que prevé el incremento de las fincas productoras, creándose la necesidad de utilizar más tecnologías con la finalidad de producir más y comercializar estos frutos (Ministerio de Agricultura 2021).

A pesar de la importancia de este cultivo, en la República Dominicana se presenta un historial de problemas fitosanitarios, siendo *Anastrepha* sp. considerada el principal problema para las plantaciones, provocando daños directos en frutas (Ministerio de Agricultura, 2022). Según Gómez *et al.* (2019), los problemas causados por *Anastrepha* sp. oscilan entre 5 y 50%, si no son manejados adecuadamente y es un factor que resulta en restricciones para el comercio internacional, lo que ha obligado a los productores al uso excesivo de plaguicidas químicos – sistémicos para tratar de controlar los daños ocasionados por esta plaga. Gómez *et al.* (2019), Serra (2011) y Serra (2011), coinciden en que las moscas de la fruta están consideradas como una de las 10 plagas agrícolas que afectan la economía del mundo de manera importante por disminuir la calidad organoléptica y el valor comercial de las frutas de mango.

Reddy *et al.* (2018), indican que el cambio climático ha propiciado el surgimiento de nuevas plagas y la globalización de los mercados favorece el movimiento de las plagas entre distintas regiones productoras. Mientras que Pacheco *et al.* (2019), aseguran que, en los últimos años, la agricultura ha dado un cambio drástico en el modo de combatir plagas y enfermedades, evidenciando el uso indiscriminado de plaguicidas sintéticos, siendo la causa directa del desarrollo de resistencia de diferentes organismos y, por tanto, de la pérdida de su eficacia. La protección al medio ambiente y el desarrollo humano sustentable debe ser una prioridad para combatir los problemas que afectan la agricultura a nivel mundial, por lo que resulta innegable la necesidad de investigar sobre nuevos métodos biológicos para la protección de los cultivos. Guédez *et al.* (2008), indican que el control biológico de plagas presenta diversas ventajas entre las que se mencionan, poco o ningún efecto nocivo colateral de los enemigos naturales hacia otros organismos incluido el ser humano, presentar efectividad con frecuencia a largo plazo (pero permanente), reduce el uso de insecticidas de forma sustancial y genera una favorable relación costo-beneficio para el productor. Mientras que Jiménez Acosta (2020), señala que el control biológico no erradica las plagas, si no que las mantiene a bajas densidades durante largos períodos.

Rivera (2015) asegura que dentro del control biológico se han reportado microorganismos que infectan diferentes especies de mosca de la fruta. Pucheta *et al.* (2006), señala que dentro de los principales microorganismos para control de artrópodos los hongos entomopatógenos (HE) son un amplio grupo que proveen múltiples servicios a los sistemas agroecológicos como agentes controladores. Según Motta *et al.* (2011), los HE infectan a los artrópodos directamente, a través de la penetración de la cutícula y ejercen múltiples mecanismos de acción, confiriéndoles una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia y frecuentemente causan epizootias en sus hospedantes. De igual modo, Rodríguez- Lecuona

(2002) y Elizarrarás López (2017), señalan que los síntomas causados por entomopatógenos en adultos infectados pueden ser variables desde reducción de la movilidad, pérdida de apetito, disminución del radio de vuelo, reducción significativa de la oviposición de hembras en frutos y hasta provocar que la plaga abandone los lugares de ataque.

Ortiz Villacís (2021) indica que los hongos entomopatógenos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, pudiéndose encontrar con óptimo desarrollo en lugares con poco sol, frescos y húmedos en suelo, así como en plantas y que para obtener HE el proceso de aislamiento incluye la colección de la muestra, el aislamiento mediante insectos, la aplicación de diluciones seriadas, el aislamiento mediante métodos selectivos y el establecimiento de cultivos puros en el laboratorio. Según García Cruz *et al.* (2019), para el uso de estos microorganismos es necesario basarse en la identificación del complejo de especies de plaga y sus patógenos nativos para posteriormente seleccionar el microorganismo con mayor potencial para el control, tomando como criterios de referencia la virulencia, movilidad, persistencia, especificidad y los costos de producción del patógeno. Mientras que García *et al.* 2015, indican que el éxito de un programa de manejo integrado de plagas basado en hongos entomopatógenos depende de la producción del inóculo, la selección de cepas o aislados con alta virulencia, el buen crecimiento, la esporulación y la resistencia a condiciones ambientales adversas.

Vega Reaño (2021), Pacheco *et al.* (2019) resaltan que entre los géneros más importantes para el control de plagas se pueden destacar: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Lecanicillium*. Destacando que *B. bassiana* puede infectar más de 200 especies de insectos como *Spodoptera frugiperda*, *Hypothenemus hampei* mientras que *M. anisopliae* puede controlar al menos a 400 especies. Vega Reaño (2021) confirma la eficacia de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *Lecanicillium lecanii*, contra moscas de la fruta y agrega que son entomopatógenos de fácil disponibilidad en el mercado y de bajo costo, pero cuya acción no es muy conocida para este complejo de plagas por falta de estudios y ensayos específicos.

*Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, es la segunda especie de hongos entomopatógenos con la que más se ha trabajado respecto a su producción masiva y comercialización como bioplaguicida (Liao *et al.* 2014 y Liu *et al.* 2016). Por otro lado, Vázquez (2017), realizó estudios sobre el uso de bioplaguicidas obtenidos de hongos entomopatógenos para el control de plagas en Cuba, indicando que el uso de HE se ha convertido en una práctica difundida entre agricultores. Osorio *et al.* (2011), realizaron estudios similares reportando buenos resultados con los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en larvas de *Anastrepha obliqua* (Macquart) y la emergencia de adultos. En estas investigaciones es notorio la importancia de las especies de los hongos entomopatógenos como una alternativa amigable para el control de esta plaga.

En el 2021, Castellanos y Bruno, identificaron microorganismos adecuados para un manejo integrado sostenible de *A. obliqua*, mediante bioprospección de los suelos de plantaciones de mango en doce localidades de la República Dominicana, donde evidenciaron la efectividad de *Fusarium* spp. contra *A. obliqua*, registrando mayor mortalidad y grado de infección (0-4 días) hasta las 144 h en los bioensayos. Sin embargo, recomiendan la evaluación de nuevas cepas nativas contra *A. obliqua*. Ante esta situación, es necesario seguir investigando sobre estrategias efectivas que puedan disminuir poblaciones de moscas de la fruta y crear zonas de disminución de la prevalencia para poder acceder sin dificultades a los mercados internacionales de frutas frescas, pues es constante y cada vez más grave el uso de insecticidas convencionales y sintéticos generando problemas sociales y medio ambientales.

A partir de este escenario, es preciso desarrollar métodos de manejo de plagas compatibles con el medio ambiente. Una de las iniciativas es el control biológico, el cual puede reducir la aparición de poblaciones de moscas resistentes, contribuir a la protección del medio ambiente y disminuir el uso de plaguicidas en las cosechas. Además, ofrece grandes beneficios a la economía de los agricultores y la salud del consumidor. El potencial de los hongos entomopatógenos para el control de *Anastrepha* sp. que afecta la productividad de mangos en la República Dominicana se pretende determinar con el fin de brindar soluciones ecológicas y amigables con el medio ambiente que permitan una producción más rentable para los agroecosistemas y elevar la productividad del cultivo. Esta investigación aporta información sobre alternativas biológicas meritorias con potencial para ser incorporadas a los esquemas de manejo de dicha plaga.

## 5. Materiales y Métodos

### 5.1. Ubicación y descripción de las áreas de estudio

La investigación se realizó en República Dominicana (Figura 1) dentro del municipio de Baní, ubicado en la provincia Peravia, perteneciente a la subregión de Valdesia y ubicada a 65 km al sur de Santo Domingo a una altitud de 64 msnm, temperatura promedio anual de 26.6 °C, precipitación 776 mm/año y humedad relativa promedio de 79.06% (Calderón, *et al.* 2007)). Los suelos presentan topografía accidentada de 60% e irregular con pendiente hasta un 30%, con una capa fértil que se encuentra entre los 10-30 cm de profundidad, con texturas franco arcilloso, franco arenoso y franco arcillo- arenoso. Además, presenta pH 7.27 a 8.26 y porcentaje de materia orgánica de 2.55 a 11.15 con buen drenaje. (Martínez, 2006).

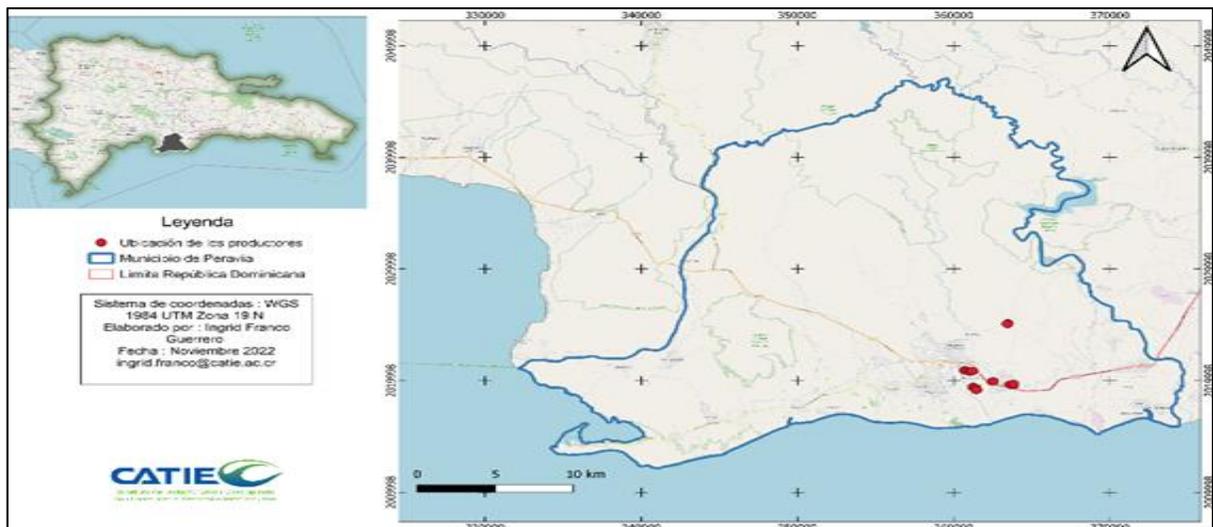


Figura 1. Mapa de ubicación de área de estudio, en el municipio de Baní, Peravia, República Dominicana.

### 5.2. Muestreo de suelos

Se realizó un recorrido por las tres zonas productoras de mango de la variedad míncipe del municipio de Baní, provincia Peravia para seleccionar dos fincas productoras de mango por zona: una con manejo tradicional (bajo insumo químico) y otra con manejo químico, en cada una de las zonas. Las fincas de estudio pertenecen a investigaciones de largo plazo, donde se monitorea la incidencia de *Anastrepha* sp. en plantaciones de mango certificadas para

exportación. La selección de parcelas se hizo de acuerdo con el historial de alta incidencia de moscas de la fruta, basados en los datos de capturas semanales (MTD) del programa Moscafrut-RD del Ministerio de Agricultura.

En estas parcelas se realizó un muestreo sistemático mediante la remoción de hojarasca, tomando 10 submuestras de 100 g de los primeros 20 cm de profundidad por cada unidad experimental para un total de 12 muestras compuestas de las 6 fincas incluidas en el estudio. Estas muestras fueron evaluadas en los laboratorios control biológico, química y física de suelos de la Facultad de ciencias agronómicas y veterinarias perteneciente a la Universidad Autónoma de Santo Domingo para determinación de diversidad microbial, análisis físico y químico para cada repetición del tratamiento (anexo 1).

### 5.3. Tratamientos y diseño experimental

Para esta investigación se tomó en cuenta la combinación de tres factores para definir los tratamientos: el tipo de manejo del cultivo realizado en los lotes (químico o tradicional), la incidencia de la mosca de la fruta (alta o baja) y la ubicación del lote (Cuadro 1). Para conocer la diversidad de hongos entomopatógenos y para conocer la dinámica de los parámetros físicos, químicos y biológicos de los suelos se utilizaron 6 bloques distribuidos en un diseño de bloques completos al azar con parcelas divididas. Cada tratamiento tuvo 3 repeticiones (parcelas), cada una con un área de 100 m<sup>2</sup>. Este diseño ha sido utilizado para otros trabajos similares para evaluación de presencia de hongos entomopatógenos nativos en suelos por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) y la Universidad Autónoma de Zacatecas en el del municipio Epitacio Huerta, Michoacán, México por Ramírez *et al.* (2018) y para el aislamiento de hongos entomopatógenos en sectores agropecuario y forestal, México por Pacheco *et al.* (2019).

*Cuadro 1.* Ubicación geográfica de los sitios de muestreo para análisis de los parámetros físicos, químicos, biológicos de en la presente investigación en el municipio Bani, Peravia, República Dominicana.

Sitios	Manejo	Incidencia
Paya	Manejo tradicional	Alta incidencia
Paya	Manejo tradicional	Baja incidencia
Paya	Manejo químico	Alta incidencia
Paya	Manejo químico	Baja incidencia
Sabana Chiquita	Manejo tradicional	Alta incidencia
Sabana Chiquita	Manejo tradicional	Baja incidencia
Sabana Chiquita	Manejo químico	Alta incidencia
Sabana Chiquita	Manejo químico	Baja incidencia
El Llano	Manejo tradicional	Alta incidencia
El Llano	Manejo tradicional	Baja incidencia
El Llano	Manejo químico	Alta incidencia
El Llano	Manejo químico	Baja incidencia

Todos los sitios ubicados en Bani, Provincia Peravia.

### 5.4. Aislamiento de hongos a partir de suelos muestreados

#### 5.4.1. Aislamientos directos a partir de suelo

Las muestras compuestas de suelo colectadas se colocaron en bolsas de plástico debidamente etiquetadas. Cada muestra compuesta de suelo tomada de las parcelas experimentales fue pesada y se tomó una submuestra de 10 g para ser colocada en un Erlenmeyer con 100 ml de agua destilada estéril + Tween 80 al 0.5%. La suspensión de suelo

resultante de esta mezcla, se colocó en un ultrasonificador Vortex Benchmark durante 5 min y luego, en un agitador orbital para mantener la homogeneidad de la suspensión. A partir de estas suspensiones se tomaron alícuotas de 1ml usando una pipeta Eppendorf y se transfirieron un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril +Tween 80 al 0.5% (Anexo 2).

Luego, utilizando agua destilada estéril, se prepararon diluciones seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  sucesivamente. De las diluciones a  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  se tomaron alícuotas de 0.1ml y se colocaron en una placa de Petri conteniendo medio de cultivo PDA + cloranfenicol al 0.03%, siendo esparcida homogéneamente sobre toda la superficie. Este proceso se repitió en cuatro placas de Petri para cada suspensión de suelo, usando las metodologías de aislamiento de hongos entomopatógenos de Moino *et al.* (2011); Monzón (2021) y Baró *et al.* (2022). Finalmente, las placas inoculadas se incubaron durante 7 días a 26°C, evaluando cada 2 días la aparición de colonias de microorganismos. Transcurrido el tiempo de incubación, las colonias fueron clasificadas de acuerdo con su forma, color y tamaño, como una clasificación básica para determinar un índice de diversidad, agrupando las colonias en biotipos de acuerdo con sus características. Las colonias de cada biotipo fueron llevadas hasta esporulación para permitir la identificación y registro de hongos entomopatógenos (Anexo 3).

#### **5.4.2. Aislamiento con insecto cebo**

Este ensayo se realizó mediante la técnica de aislamiento de hongos descrita por Zimmermann, G. (1986); Realpe *et al.* (2008) y Cardoso (2007) utilizando larvas de séptimo instar de *Galleria mellonella* (Orden Lepidoptera, Familia Pyralidae) obtenidas del pie de cría del Laboratorio de Control Biológico de la Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias de la Universidad Autónoma de Santo Domingo. La cría de las larvas de *G. mellonella* se realizó en un rango de temperatura de 25-32°C hasta que alcanzaron el séptimo instar para ser utilizadas, colocándolas en las muestras de suelo como insecto cebo para la extracción de hongos entomopatógenos.

Las larvas utilizadas fueron sometidas previamente a tratamiento térmico sumergiéndolas en agua a 56 °C durante diez segundos y secadas en toallas de papel esterilizadas, para inhibir las glándulas productoras de cera y asegurar así el contacto con el suelo y evitar que muden a pupa. Para este ensayo en laboratorio se utilizó una submuestra de 200 cm<sup>3</sup> de suelo de cada parcela para capturar cepas infectivas de hongos entomopatógenos utilizando larvas de *G. mellonella*. El suelo fue tamizado con un tamiz de filtrado medio para eliminar grumos, piedras y materia orgánica. Luego se colocó en frascos con tapa y se agregó agua hasta llevar la muestra a capacidad de campo sobre la superficie del suelo en cada frasco, se colocaron 6 larvas de *G. mellonella* y se cerró el frasco con su tapa. Luego, los frascos se colocaron invertidos de forma que las larvas quedaran en el fondo. Los frascos se mantuvieron a 26°C y se evaluaron cada tres días durante 15 días.

En las evaluaciones, cada tres días se encontraron larvas muertas, que fueron sacadas del frasco, desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0.5% y lavadas posteriormente con agua destilada estéril. Luego, estas larvas limpias se colocaron en trampas White y se incubaron a 26°C durante 7 días para permitir el desarrollo e identificación de hongos entomopatógenos u otros agentes causales de la mortalidad. La identificación de los hongos entomopatógenos se realizó por características morfológicas de sus estructuras (fiálides, conidióforos y conidios) mediante la morfologías y claves de especies de hongos descritas en el Atlas pictórico de hongos de suelo y semillas de Watanabe (2010).

### 5.4.3. Pruebas de patogenicidad con aislamientos

Las pruebas para determinar la capacidad para causar mortalidad a adultos y larvas de *Anastrepha* sp. se realizaron con los aislamientos provenientes de los muestreos sistemáticos, aislados usando *G. mellonella*, e identificados morfológicamente como entomopatógenos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Información de los aislamientos de los hongos entomopatógenos utilizados en la presente investigación provenientes de suelos de plantaciones de mango del municipio Baní, Peravia, República Dominicana.

Género	Código de aislado
<i>Metarhizium</i>	JV_M-2
	JMB-M-1
	JMB-M-2
	RDS-M-1
	RDS-M-2
	RV-M-2
<i>Paecilomyces</i>	JV_P-2
	JMB-P-2
	RDS-P-1
	RDS-P-2

Hongos aislados de muestras de suelo compuestas de las 6 unidades experimentales, utilizando *G. mellonella* como insecto cebo.

Estos aislamientos fueron purificados y multiplicados en placas de Petri con PDA + cloranfenicol al 0.03%, hasta tener una composición pura, para obtener el inóculo para las pruebas de patogenicidad. Los conidios fueron raspados de las cajas de Petri con una espátula y colocados en agua destilada estéril con Tween 80 al 0.05%, llevándolos a una concentración de  $3 \times 10^6$  conidios/ml. Estas suspensiones de conidios fueron aplicadas tanto a larvas como a adultos para evaluar su capacidad de control. Para determinar la cantidad de esporas en cada suspensión se colocaron en tubos Eppendorf esporas del hongo en 1 ml de agua destilada estéril, adicionándole 0.1 ml de Tween 20 al 80% (Anexo 4). Cada tubo se colocó en un agitador por 5 min, luego se tomó con una micropipeta 10  $\mu$ l y se colocaron en el hemacitómetro o cámara de Neubauer, donde se realizó el conteo de conidios en el microscopio utilizando un aumento de 40 X y se aplicaron las siguientes ecuaciones:

Ecuación 1 (para los conteos de conidios):

$$C = (n/\text{cuadros contados}) * 400 * (\text{profundidad}) * 1000 * \text{dilución}$$

C: concentración de la suspensión madre

N: número de conidios observados

Ecuación 2 (para las concentraciones):

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

V: volumen en 1

C: concentración en 1

V: Volumen 2

C: Concentración 2

Para este ensayo en laboratorio bajo condiciones controladas se utilizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones de 10 insectos por cada aislamiento, un testigo aplicado con agua y un producto comercial a base de *B. bassiana*. Los insectos para las

pruebas de patogenicidad fueron obtenidos de un pie de cría mediante frutos infectados colocados en recipientes con arena esterilizada por un periodo de veintiún días, donde las moscas completaron su ciclo de larvas a adultos. Para las obtener las larvas se colectaron frutos infestados y se extrajeron haciendo disección del fruto. Se realizaron evaluaciones cada dos días durante siete días después de la inoculación. En cada evaluación se contabilizó el número de insectos vivos y muertos.

Cada instar de *Anastrepha* sp. (adulto y larva) fue evaluado en ensayos independientes, siguiendo metodologías similares a las usadas por Osorio-Fajardo (2011) y Ramírez *et al.* (2018). La variable de respuestas fue el porcentaje de mortalidad alcanzado a los 7 días después de la inoculación.

#### **5.4.4. Documentación del uso previo de bioplaguicidas para control de *Anastrepha* sp.**

En este acápite se presenta la percepción y experiencias de los productores de mango de las localidades de Paya, Sabana Chiquita y El Llano, todas del municipio de Baní, pertenecientes a la asociación de productores de mangos del municipio de Baní (ABAPROMANGO) y que representan los dos sitios por localidad donde se establecieron los experimentos de este trabajo de investigación, evaluando dos fincas en cada localidad para un total de seis fincas. Los participantes fueron seleccionados durante un recorrido realizado por dichas localidades, invitando veinte productores a participar en un taller de grupos focales con el propósito de discutir, comentar y conocer su percepción desde sus experiencias sobre el uso de bioplaguicidas para el control de la mosca de la fruta (*Anastrepha* sp.). De igual forma, se invitó al taller a técnicos del Ministerio de Agricultura que trabajan como asistentes o encargados zonales de estas localidades pertenecientes al municipio de Baní.

En el taller de grupos focales participaron 13 productores integrantes de ABAPROMANGO y 15 técnicos del Ministerio de Agricultura, con quienes mediante preguntas orientadoras se apreciaron las experiencias de tres grupos de productores y un grupo de técnicos en el uso de bioplaguicidas para control de mosca de la fruta. En este taller, los participantes tuvieron la posibilidad de presentar sus puntos de vista, tanto dentro de cada grupo focal, como al final en plenaria. La metodología de grupos focales utilizada consistió en una sesión de tres h donde se siguieron los pasos metodológicos referidos por Bonilla *et al.* (2017) y Rodas-Pacheco *et al.* (2020) como una técnica de trabajo en equipo entre el moderador y los participantes, con la finalidad de coleccionar datos cualitativos y cuantitativos relevantes sobre el tema de investigación. Este taller fue organizado previamente y se estableció un programa que se desarrolló en seis etapas como se muestra en el Anexo 1.

Las preguntas orientadoras realizadas durante el evento de grupos focales son las que se describen a continuación y fueron atendidas por 28 participantes (13 productores y 15 técnicos):

1. ¿Consideran ustedes que la mosca de la fruta representa un problema para sus plantaciones de mango?
2. ¿Cuáles métodos de control (caseros, químicos, etc.) han utilizado en sus plantaciones de mango para reducir los daños de la mosca de la fruta?
3. ¿Conocen ustedes a los enemigos naturales que puedan controlar la mosca de la fruta?
4. ¿Si han utilizado productos biológicos para controlar la mosca de la fruta, indiquen cuáles ha utilizado y qué tan efectivos han sido?

5. ¿Considera que resulta más barata y efectiva la utilización de productos caseros o de fabricación artesanal para controlar la mosca de la fruta que los productos químicos que se compran en los comercios?

## 5.5. Análisis estadístico

Debido a que ninguno de los tratamientos presentó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en los parámetros físicos, químicos y biológicos, asimismo para las variables de las parcelas muestreadas, incidencia de capturas, manejo de la plantación y número de frutos dañados por *Anastrepha* sp., el comportamiento de los tratamientos fue analizado por medio de estadística descriptiva. Sin embargo, se realizó un análisis multivariado exploratorio utilizando análisis de correspondencia para descubrir y mostrar la relación entre categorías. En este análisis se graficaron las observaciones multivariadas en planos para así poder identificar las asociaciones de mayor peso entre las variables, los biotipos de hongos encontrados en función de los tipos de manejo en las parcelas y la incidencia de la plaga.

Para las pruebas de patogenicidad, se evaluó la mortalidad a través del tiempo ajustando un modelo generalizado mixto (MGM) con función de distribución binomial y función de enlace logit. Se probó el efecto de los diferentes aislamientos, tiempo y su interacción, utilizando como efecto aleatorio la parcela principal representada con las placas de Petri conteniendo los estadios de la mosca de *Anastrepha* sp., como unidad de medidas en el tiempo. Mientras que para la mortalidad con crecimiento de micelio solo se hizo con los aislamientos. Las pruebas de patogenicidad para comparación de efecto de tratamiento y del tiempo, se realizaron análisis de varianza (Anova), ( $P < 0.05$ ). Además, se evaluó el ajuste del modelo a partir de los cocientes del Deviance dividido entre los grados de libertad. Para seleccionar el mejor de los modelos se utilizaron los criterios de información penalizada (Criterios de Información de Akaike (AIC) y el Criterio de Información de Schwarz (BIC)). La comprobación de los supuestos distribucionales de los errores se realizó analizando los gráficos de diagnóstico del modelo. Finalmente, para las variables en las que se concluye que existen diferencias estadísticas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ), se realizó la prueba de comparaciones de medias de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC). Todos los análisis se hicieron utilizando el software Infostat (Di Rienzo *et al.* 2019).

El análisis de la información del taller de grupos focales se realizó mediante la clasificación obtenida de la transcripción de las discusiones, utilizando las preguntas guías como categorías iniciales y análisis de las grabaciones. Luego, se procesó la información a través de resúmenes y como resultado final se presentaron gráficos y cuadros.

## 6. Resultados y Discusión

### 6.1. Riqueza microbiológica de los suelos en las parcelas experimentales

De los aislamientos directos de hongos a partir de suelo se obtuvo un grupo de 18 biotipos dentro de los que se logró identificar géneros como *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y nematodos entomopatógenos de las familias *Rabditidae* y *Heterorabditidae* (Anexos 7 y 8), evidenciando la diversidad microbiológica de estos suelos. Castellanos y Bruno (2021) encontraron resultados similares con cepas de hongos, bacterias y nematodos entomopatógenos en cuatro zonas de la República Dominicana, incluyendo el municipio de Baní. Por otro lado, Galán, (2012) indica que los factores ambientales como temperatura, humedad y uso mínimo de plaguicidas son determinantes para la presencia de microorganismos en el suelo. La mayoría de los suelos muestreados representan mono cultivo con poca cobertura, lo que desfavorece la disponibilidad de nutrientes para los

microrganismos. Los resultados encontrados se pueden explicar debido a las diferencias fisicoquímicas de los suelos. Garrido-Jurado *et al.*, (2011) indica que, en los hongos saprófitos, la sobrevivencia está influenciada por diversos factores como las propiedades fisicoquímicas de los suelos, hidrofobicidad de los sustratos y las interacciones electrostáticas.

### 6.1.1. Relación entre la riqueza microbial del suelo y la incidencia de frutos dañados por *Anastrepha* sp.

Los resultados obtenidos en cuanto a la posible relación entre los tipos de manejo, la incidencia de la plaga y la cantidad de fruto dañado por *Anastrepha* sp., no se detectaron interacciones estadísticamente significativas, por lo que hay suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada que sugería diferencias en la composición de la diversidad de biotipos de hongos disponibles en los diferentes suelos de plantaciones de mango, incluidos en este estudio. Sin embargo, se observó una tendencia positiva hacia la presencia de los biotipos 6, 7, 8, 9, 11 y *Metarhizium* en lotes de manejo tradicional con baja incidencia de plaga y biotipos 10 y 14 en lotes de manejo químico con baja incidencia de plaga (Figura 2).

Los hongos entomopatógenos se extrajeron en mayor proporción de lotes con manejo tradicional y alta infestación de *Anastrepha* sp. En cuanto a los frutos dañados se observaron en mayor cantidad en las parcelas de manejo tradicional clasificadas como de alta infestación de mosca, seguido por parcelas de manejo químico con alta infestación (Figura 2). La cantidad de frutos dañados no fue muy alta, pues los árboles no se encontraban en su máximo nivel de producción. Esto puede explicar la cantidad de frutos dañados encontrados y los manejos en finca y la baja incidencia de la mosca.

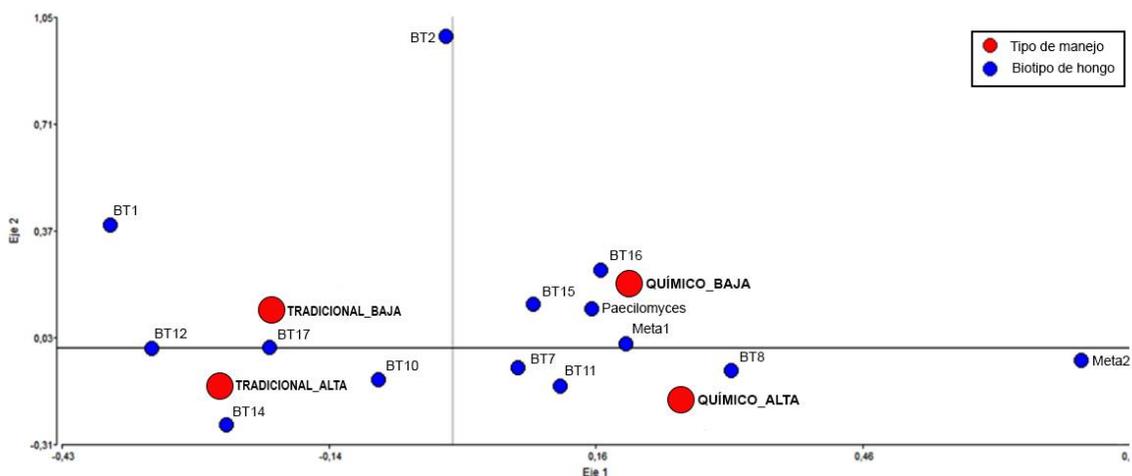


Figura 2. Relación entre el manejo e infestación de lotes (marcadores rojos) con la distribución de los biotipos de hongos encontrados (marcadores azules) en el presente estudio en el Municipio de Baní, Peravia, República Dominicana.

### 6.2. Aislamiento de hongos entomopatógenos con insecto cebo

El uso de larvas de *Galleria mellonella* como insecto cebo para capturar hongos con patogenicidad comprobada contra insectos, dio como resultado el aislamiento de cinco casos de *Paecilomyces* sp. y seis de *Metarhizium* sp., como se muestra en el anexo 3, de las cuales cuatro *Paecilomyces* y seis *Metarhizium* fueron purificados con éxito (Anexos 7). Estos dos géneros de hongos son ampliamente conocidos como entomopatógenos. Fernández- Salas *et al* (2020); Carbonero *et al* (2014) y Amala *et al* (2012) también encontraron presencia de *Metarhizium* y *Paecilomyces* en muestras de suelo utilizando la técnica de aislamiento con

insecto cebo. Hernández – Velázquez *et al* (2011), indican que en suelos agrícolas *Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces* son los géneros de hongos entomopatógenos más encontrados en aislamientos de suelos lo que refuerza los resultados obtenidos en esta investigación.

### 6.3. Pruebas de patogenicidad con aislados

#### 6.3.1 Pruebas de mortalidad para larvas y adultos de *Anastrepha* sp.

Los resultados obtenidos de las pruebas de patogenicidad de aislamientos de entomopatógenos contra larvas de último instar y adultos de *Anastrepha* sp., muestran que todos los aislamientos lograron producir niveles de mortalidad entre 98 y 100% a los 6 días después de la inoculación (DDI) en larvas y entre 94 y 100% a los 4DDI en adultos (Figura 3).

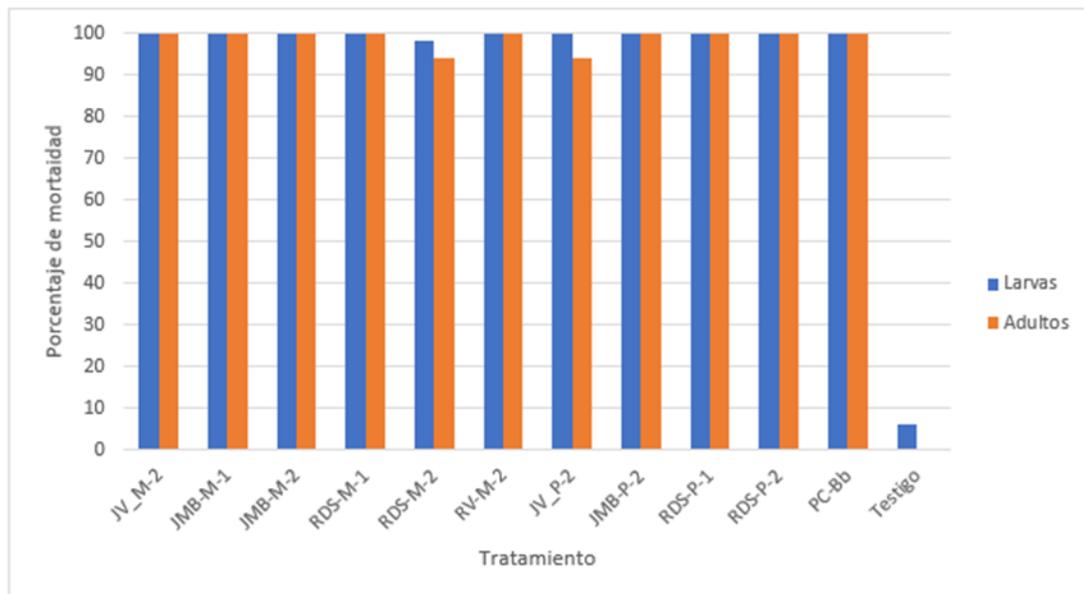


Figura 3. Porcentaje de mortalidad acumulada a los 6DDI para larvas y 4 DDI para adultos de *Anastrepha* sp. en el municipio de Baní, Peravia, República Dominicana.

La alta mortalidad observada en ambos instares en un periodo tan corto de tiempo muestra que todos los aislamientos probados tienen potencial para controlar la plaga, sin embargo, se observó una tendencia a obtener mayor mortalidad en menor tiempo con los aislamientos de *Metarhizium* JMBM1, JMBM2, RDSM1, RDSM2, JVM2 y el *Paecilomyces* JMBP2. Los tratamientos que alcanzaron el 100% de mortalidad (JMB-M-1, JMB-M-2, JMB-P-2, JV\_M-2, RDS-M-1, RDS-M-2, RDS-P-1 y RV-M-2), no mostraron variabilidad entre sí. Estos aislamientos presentan resultados iguales al tratamiento PC-Bb que corresponde a un producto comercial a base de *B. bassiana* (cuadros 3 y 4). Estos resultados prueban la hipótesis planteada pues todos los géneros de hongos encontrados e identificados como hongos entomopatógenos presentan patogenicidad contra los dos estadios de *Anastrepha* sp. evaluados.

Cuadro 3. Mortalidad de adultos de *Anastrepha* sp. con 10 aislados de hongos entomopatógenos en ensayos de ambiente controlado en la presente investigación en el municipio Baní, Peravia, República Dominicana.

Aislamientos	Hongos	% mortalidad acumulada diaria	Media	E.E.	
JMB-M-1	<i>Metarhizium</i>	99	0.99	0.19	A
PC-Bb	<i>Beauveria</i>	71	0.71	0.07	A
JMB-M-2	<i>Metarhizium</i>	66	0.66	0.08	A
RDS-P-2	<i>Paecilomyces</i>	63	0.63	0.07	A
RDS-M-1	<i>Metarhizium</i>	63	0.63	0.08	A
RDS-M-2	<i>Metarhizium</i>	54	0.54	0.09	A
JMB-P-2	<i>Paecilomyces</i>	50	0.50	0.10	A
RV-M-2	<i>Metarhizium</i>	49	0.49	0.10	A
JV_M-2	<i>Metarhizium</i>	48	0.48	0.10	A
RDS-P-1	<i>Paecilomyces</i>	47	0.47	0.10	A
JV_P-2	<i>Paecilomyces</i>	44	0.44	0.08	A
Testigo		3	0.03	0.01	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

Cuadro 4. Mortalidad de larvas de *Anastrepha* sp. con 10 aislados de hongos entomopatógenos en ensayos de ambiente controlado en la presente investigación en el municipio Baní, Peravia, República Dominicana.

Aislamientos	Hongos	% mortalidad acumulada diaria	Media	E.E.	
RDS-P-2	<i>Paecilomyces</i>	70	0.70	0.07	A
JMB-M-1	<i>Metarhizium</i>	67	0.67	0.07	A
RDS-M-1	<i>Metarhizium</i>	65	0.65	0.07	A
RDS-M-2	<i>Metarhizium</i>	63	0.63	0.07	A
JMB-P-2	<i>Paecilomyces</i>	63	0.63	0.07	A
JMB-M-2	<i>Metarhizium</i>	61	0.61	0.07	A
RDS-P-1	<i>Paecilomyces</i>	61	0.61	0.07	A
JV_M-2	<i>Metarhizium</i>	60	0.60	0.07	A
JV_P-2	<i>Paecilomyces</i>	56	0.56	0.07	A
PC-Bb	<i>Beauveria</i>	52	0.52	0.07	A
RV-M-2	<i>Metarhizium</i>	47	0.47	0.07	A
Testigo		2	0.02	0.01	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

Las larvas de *Anastrepha* sp. usadas en el ensayo fueron inoculadas en su último instar larval, cerca a su paso a pupa. Esto debido a que es el estadio en el cual las larvas salen de los frutos para pupar en el suelo y es el momento en el que los hongos entomopatógenos pueden infectarlas en forma natural. La mortalidad registrada en el ensayo incluye ambos, larvas y pupas. La mortalidad en ambos estadios se confirmó por cambios de color y crecimiento de micelio sobre los cadáveres. Todos los aislamientos presentaron mortalidad similar y diferente al testigo estadísticamente. Hernández Díaz-Ordaz, *et al.* (2010), obtuvieron resultados similares en patogenicidad de tres cepas de hongos entomopatógenos en adultos de *Anastrepha obliqua*, coincidiendo con Vega Reaño (2021) quien obtuvo mortalidad de estados inmaduros de moscas de la fruta *Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata* con hongos entomopatógenos provenientes de muestreos de suelos.

Se encontró diferencia significativa ( $p < 0.0001$ ) entre los aislamientos y el testigo, tanto para larvas como para adultos. Mientras que la interacción mortalidad- tiempo no fue significativa

para ninguno de los estadios de *Anastrepha* sp. (Cuadro 5). Debido a la rapidez para causar la mortalidad total a larvas y adultos de la plaga, todos los aislamientos probados tienen buen potencial para el desarrollo de bioplásticos para el control de *Anastrepha* sp. En este estudio, *Anastrepha* sp. mostró ser muy susceptible a los géneros de hongos entomopatógenos *Metarhizium*, *Paecilomyces* y *Beauveria*. Otros tefritidos han mostrado susceptibilidad a los mismos géneros de acuerdo con investigaciones realizadas por Quesada *et al.* (2006); Sookar *et al.* (2008) y Osorio-Fajardo (2011).

**Cuadro 5.** Mortalidad de larvas y adulto y sus interacciones según el tiempo con estadístico F y valor de p-valor (p)

Mortalidad	Términos del modelo		
	Aislamientos	Tiempo	Interacción Aislamientos: Tiempo
	F p-valor	F p-valor	F p-valor
Larvas	9.95 <b>&lt;0.0001</b>	101.71 <b>&lt;0.0001</b>	1.31 0.0834
Adultos	6.30 <b>&lt;0.0001</b>	72.37 <b>&lt;0.0001</b>	1.06 0.3923

Valores en negrita indican diferencias estadísticas (p <0,05).

### 6.3.2 Mortalidad de larvas y adultos de *Anastrepha* sp. con crecimiento de micelio

Se observó diferencia significativa (p<0.0001) (Cuadro 5) en la producción de micelio sobre los insectos adultos muertos por los tratamientos, mostrando los signos en un 54 a 88% para los aislamientos de *Metarhizium*, 48-76 % para los aislamientos de *Paecilomyces* y un 92 % para el producto comercial a base de *B. bassiana* PC-Bb (Figura 4y Cuadro 6). En el caso del crecimiento de micelio sobre las larvas muertas de *Anastrepha* sp., fue observado para todos los aislamientos con diferencias significativas (p<0.0001) entre los tratamientos JMB-P-2 (*Paecilomyces*) y RDS-M-2 (*Metarhizium*) con respecto a los otros tratamientos, con un 92 y 86% de casos respectivamente. (Cuadros 7).

**Cuadro 6.** Porcentajes de producción de micelio en aislados de hongos entomopatógenos con adultos de *Anastrepha* sp. encontrados en la presente investigación en el municipio Baní, Peravia, República Dominicana.

Aislamientos	Hongo	%Micelio	Media	E.E.	
PC-Bb	<i>Beauveria</i>	92	0.92	0.04	A
JMB-M-2	<i>Metarhizium</i>	88	0.88	0.05	A
JMB-M-1	<i>Metarhizium</i>	88	0.88	0.05	A
RDS-M-2	<i>Metarhizium</i>	78	0.78	0.06	A
JV_M-2	<i>Metarhizium</i>	76	0.76	0.06	A
JMB-P-2	<i>Paecilomyces</i>	72	0.72	0.06	A
RDS-P-2	<i>Paecilomyces</i>	68	0.68	0.07	A
RDS-M-1	<i>Metarhizium</i>	66	0.66	0.07	A
RV-M-2	<i>Metarhizium</i>	54	0.54	0.07	B
RDS-P-1	<i>Paecilomyces</i>	52	0.52	0.07	B
JV_P-2	<i>Paecilomyces</i>	48	0.48	0.07	B
Testigo		2	0.02	0.02	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

Cuadro 7. Porcentajes de producción de micelio en aislados de hongos entomopatógenos con larvas de *Anastrepha* sp. encontrados en la presente investigación en el municipio Baní, Peravia, República Dominicana.

Aislamientos	Hongo	% micelio	Media	E.E.	
JMB-P-2	<i>Paecilomyces</i>	92	0.92	0.04	A
RDS-M-2	<i>Metarhizium</i>	86	0.86	0.05	A
JMB-M-1	<i>Metarhizium</i>	80	0.80	0.06	B
PC-Bb	<i>Beauveria</i>	76	0.76	0.06	B
JMB-M-2	<i>Metarhizium</i>	72	0.72	0.06	B
RV-M-2	<i>Metarhizium</i>	70	0.70	0.06	B
JV_M-2	<i>Metarhizium</i>	68	0.68	0.07	B
RDS-P-1	<i>Paecilomyces</i>	68	0.68	0.07	B
RDS-M-1	<i>Metarhizium</i>	66	0.66	0.07	B
JV_P-2	<i>Paecilomyces</i>	60	0.60	0.07	B
RDS-P-2	<i>Paecilomyces</i>	56	0.56	0.07	B
Testigo		2	0.02	0.02	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

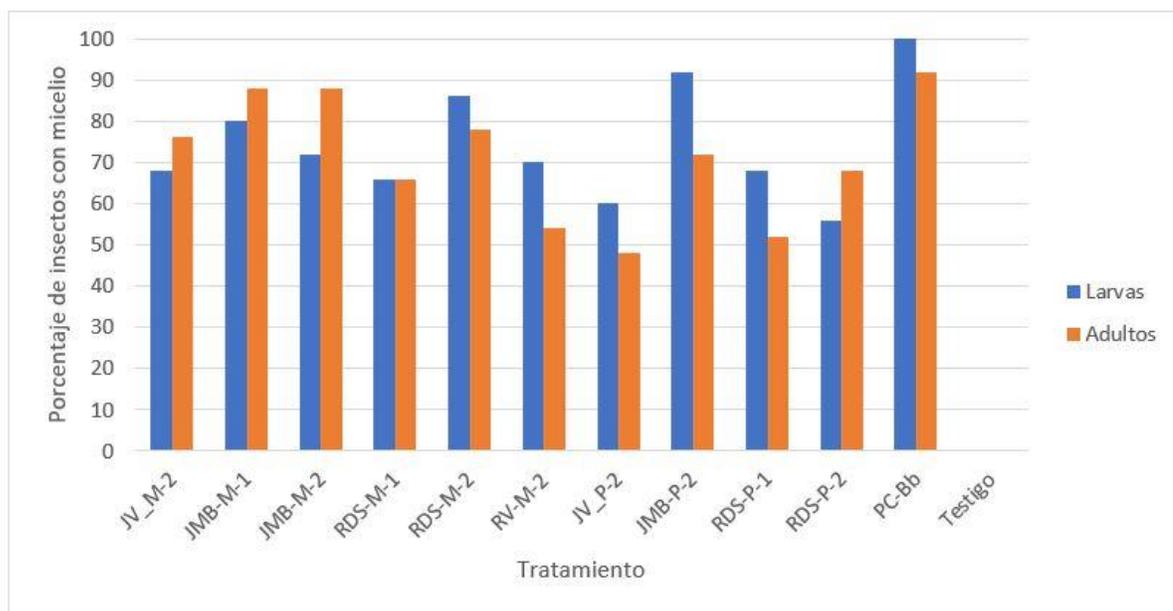


Figura 4. Porcentaje de larvas y adultos de *Anastrepha* sp. que presentaron crecimiento de micelio al ser incubados en cámara húmeda después de morir en el ensayo de patogenicidad con hongos entomopatógenos en la presente investigación en el municipio Baní, Peravia, República Dominicana.

El proceso de esporulación del patógeno sobre los insectos infectados varía de acuerdo con el hospedero de donde se obtuvo la cepa y es un factor importante en la diseminación y ocurrencia de la enfermedad en la población de insectos hospederos bajo condiciones de campo (García–Gutiérrez *et al.*2007). En el caso de *Anastrepha* sp., los insectos presentaron mortalidad y presentaron crecimiento micelial en órganos y tejidos. Esta sintomatología ya ha sido descrita en otros hospederos muertos e infectados de la familia de los tefritidos por diversas cepas de estos hongos en trabajos realizados por De la Rosa *et al.* (2002); Feris-M *et al.* (2002); Muñoz *et al.* (2009).

#### 6.4. Documentación del uso previo de bioplaguicidas para control de *Anastrepha* sp. mediante grupos focales

Según la dinámica de grupos focales, se pudo recolectar las percepciones de los participantes de forma efectiva mediante tres grupos conformados: dos de productores y uno de técnicos. para cada pregunta se cuantificó las respuestas negativas o positivas de los participantes (Cuadro 7). Para cada participante pudo hacer su aporte oral y escrito de cada pregunta planteada. En el cuadro 7 se muestra en una forma cuantificada cuál fue la percepción de los productores en cada pregunta orientadora planteada.

*Cuadro 8.* Cuantificación de respuestas a las preguntas orientadoras utilizadas durante el taller de grupos focales realizado en el salón de actos de la Regional Agropecuaria Central del Ministerio de Agricultura, en el municipio de Baní, Peravia, República Dominicana.

Preguntas orientadoras	Grupos							
	Llano		Paya		Sabana chiquita		Técnicos	
	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
1	4	0	4	0	4	0	15	0
2	4	0	4	0	4	0	15	0
3	1	3	0	4	0	4	3	12
4	0	4	0	4	0	4	2	13
5	3	1	4	0	4	0	10	5

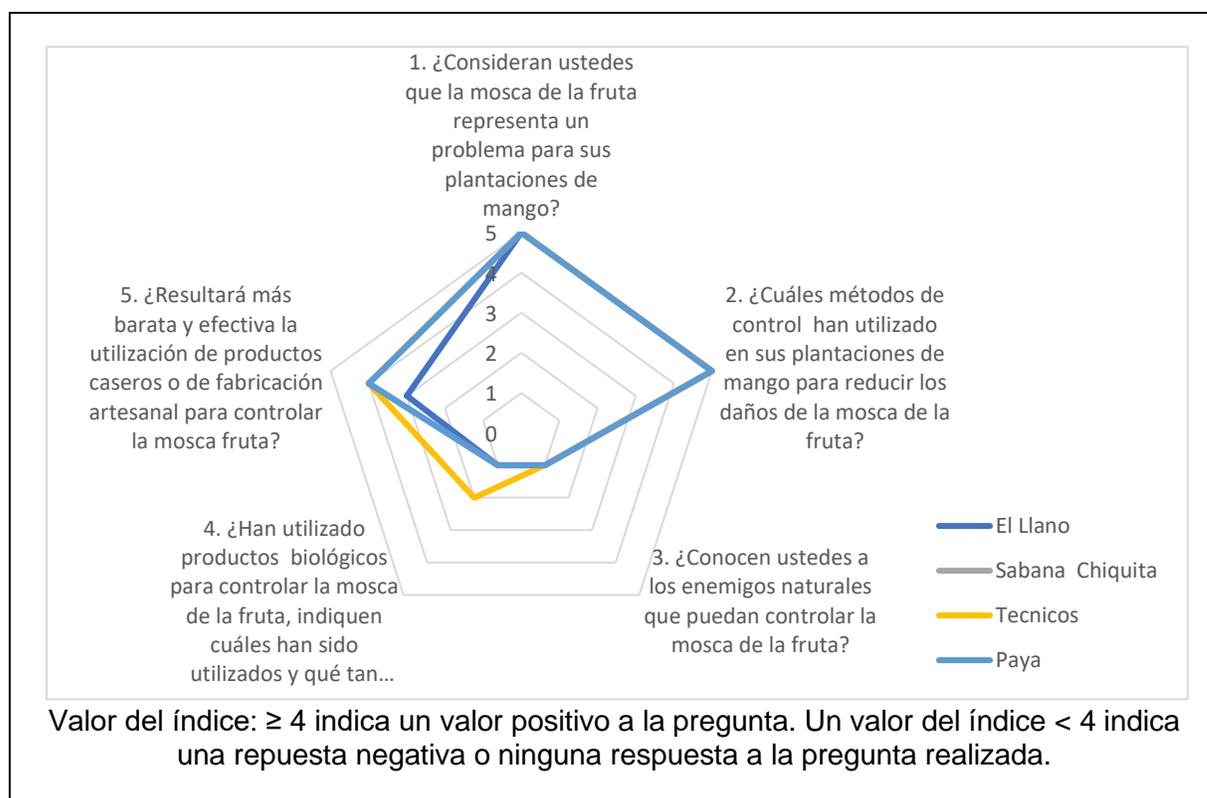
Además de cuantificar las respuestas de los participantes, se les asignó un valor ponderado de 1 a 5 según los siguientes criterios: “1” cuando el participante desconoce o no tiene ninguna respuesta; “2” cuando la percepción del participante es baja; “3” cuando el participante está moderadamente de acuerdo pero plantea otras opciones; “4” alta cuando los participantes presentan una percepción firme y positiva a la pregunta planteada; y “5” muy alta cuando el participante presenta un conocimiento positivo a la repuesta. Los detalles de estas respuestas de muestran en el Cuadro 8 y Figura 1.

**Cuadro 9.** Valor ponderado de las preguntas orientadoras utilizadas durante el taller de grupos focales realizado en el salón de actos de la Regional Agropecuaria Central del Ministerio de Agricultura, en el municipio de Baní, Peravia, República Dominicana.

Preguntas orientadoras	Grupos			
	P-P	P-Sc	P -EL	Técnicos
1. ¿Consideran ustedes que la mosca de la fruta representa un problema para sus plantaciones de mango?	5	5	5	5
2. ¿Cuáles métodos de control han utilizado en sus plantaciones de mango para reducir los daños de la mosca de la fruta?	5	5	5	5
3. ¿Conocen ustedes a los enemigos naturales que puedan controlar la mosca de la fruta?	1	1	1	2
4. ¿Si han utilizado productos biológico para controlar la mosca de la fruta, indiquen cuáles han sido utilizados y qué tan efectivos han sido?	1	1	1	1
5. ¿Resultará más barata y efectiva la utilización de productos biológicos para controlar la mosca fruta?	3	4	4	4

Valoración: 1. Ninguna, 2. baja, 3. media 4. Alta 5. Muy alta

Grupos: P-P productores paya; P-SC productores Sabana chiquita; P-EL Productores el Llano; Técnicos Ministerio de agricultura de República Dominicana



**Figura 5.** Valoración de las preguntas orientadoras realizadas a los productores de mangos y técnicos del municipio Baní.

La percepción de los productores y técnicos sobre la importancia de la mosca de la fruta en las plantaciones de mango del municipio de Baní coincide en que *Anastrepha* sp. es una plaga de importancia económica para sus plantaciones, representando un problema fitosanitario que limita la economía de las familias de este municipio. Según lo expresado en el taller por los participantes, esta mosca causa daños en los frutos que provocan restricciones para el comercio nacional e internacional, lo que resulta en pérdidas económicas para el productor.

En cuanto a la identificación de los métodos de control utilizados por los productores en sus plantaciones para reducir los daños de la mosca de la fruta, se pudo comprobar que todos los productores utilizan métodos de control. Los productores manifestaron que principalmente control químico y control cultural, incluyendo control de malezas, podas de formación y prácticas sanitarias postcosecha. Además, hacen recolección y destrucción de frutos dañados durante y después de la cosecha. Estos métodos de control son asistidos por los técnicos del ministerio de agricultura. Este conjunto de métodos de control los ayuda a mantener niveles bajos de infestación de *Anastrepha* sp. en sus plantaciones permitiéndoles vender sus frutos para exportación y en el mercado local.

Casi todos participantes manifiestan desconocimiento sobre los enemigos naturales que pueden controlar a la mosca de la fruta. Solo algunos técnicos que anteriormente han trabajado en programas de investigación pudieron hablar sobre estos enemigos naturales. Los productores presentan un desconocimiento total de los enemigos naturales y el efecto como controladores de mosca de la fruta. De igual modo, tanto productores como técnicos señalan que nunca han utilizado productos biológicos para controlar la mosca de la fruta. *Anastrepha* sp. son de origen químico - sintético. Tanto productores como técnicos coinciden que el control químico hasta el momento ha dado buenos resultados, pero consideran inevitable buscar otras alternativas que mejoren el medio ambiente.

A pesar del uso de productos químicos, los participantes perciben una buena valoración económica sobre la utilización de productos artesanales con agentes biológicos en comparación con los productos químicos que se compran en el comercio para controlar la mosca de la fruta. Además, presentaron mucho interés en seguir conociendo las prácticas amigables que puedan realizar en sus plantaciones. Este análisis a las repuestas orientadoras se presenta de manera resumida en el Anexo 9.

## **7. Conclusiones**

Los resultados de esta investigación aportan información técnica sobre nuevas herramientas para adopción de manejo agroecológico de *Anastrepha* sp. en estos sistemas de producción en monocultivo.

No se detectaron relaciones significativas entre los tipos de manejo, incidencia y la cantidad de fruto dañado por *Anastrepha* sp.

Se observó una tendencia hacia la presencia de los biotipos de hongos 6, 7, 8, 9, 11 y *Metarhizium* en lotes de manejo tradicional con baja incidencia de plaga y biotipos 10 y 14 en lotes de manejo químico con baja incidencia de plaga.

La mayor proporción de hongos entomopatógenos se extrajeron de lotes con manejo tradicional con baja infestación de *Anastrepha* sp. presentando presencia de entomopatógenos en las tres zonas muestreadas, encontrándose en Paya la mayor proporción.

Los ensayos de patogenicidad con los aislamientos de hongos entomopatógenos contra estadios de *Anastrepha* sp. presentan diferencias significativas en mortalidad en larvas y adultos en el tiempo, aunque todos los aislamientos causaron mortalidad por encima del 98% a los 6 días después de la inoculación. Entre un 56 y 100% de las larvas y adultos muertos con todos los aislamientos utilizados en las pruebas de patogenicidad, desarrollaron micelio, mostrando la capacidad de los hongos de reproducirse sobre los insectos infectados. Los resultados indican que estos hongos provenientes del suelo de manera natural pueden ser muy efectivos para control de este insecto.

La mosca de la fruta (*Anastrepha* sp.) es percibida, por los productores y técnicos, como una limitante para la producción mango las plantaciones del municipio Baní. Los productores utilizan un conjunto de métodos de control para reducir daños de *Anastrepha* sp. en las plantaciones de mango.

Sin embargo, existe desconocimiento de los participantes sobre los enemigos naturales y productos biológicos para controlar *Anastrepha* sp. Evidenciando que ninguno de los participantes ha utilizado productos biológicos para controlar *Anastrepha* sp. Los participantes coinciden en que es necesario buscar alternativas amigables para el control de *Anastrepha* sp. que mejoren el medio ambiente.

## **8.Recomendaciones**

- Establecer un ensayo a largo plazo para profundizar en el conocimiento de posibles interacciones entre el tipo de manejo, suelo y la riqueza microbial, y su correlación con la incidencia de *Anastrepha* sp. y el número de frutos dañados.
- Utilizar técnicas moleculares como análisis de metagenómica, para la identificación precisa de la diversidad microbial de los suelos de parcelas con alta y baja incidencia de *Anastrepha* sp.
- Estos resultados han mostrado que los hongos encontrados tienen potencial para el control de *Anastrepha* sp., por lo que sería importante desarrollar protocolos para pruebas semi-campo y campo para evaluar su efectividad para el control de la plaga. Además, desarrollar formulaciones para aplicación a suelo para el control de larvas y follaje para adultos, así como la evaluación de posibles sinergias en mezclas de los aislamientos seleccionados.
- Se recomienda establecer parcelas demostrativas como escuela de campo, donde los productores puedan observar el efecto a largo plazo de estos hongos entomopatógenos y su efectividad para reducir las poblaciones de *Anastrepha* sp. sin uso de insecticidas químicos.

## 9. Bibliografías

- Amala, U; Jiji T; Naseem, A. 2012. Mass multiplication of entomopathogenic fungus, *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson with solid substrates. (en línea) Journal of Biopesticides, publicación no. 5, Vol. (2): 168-170. Consultado el 10 May 2022. Disponible en: [http://www.jbiopest.com/users/lw8/efiles/Vol\\_5\\_2\\_168-170-12067.pdf](http://www.jbiopest.com/users/lw8/efiles/Vol_5_2_168-170-12067.pdf)
- Baró, Y; Schuster C; Gato Y.; Márquez M. E; Leclerque, A. (2022). Characterization, identification and virulence of *Metarhizium species* from Cuba to control the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* Fabricius (Coleoptera: Brentidae). Journal of Applied Microbiology, Volumen 132, Número 5, 1 de mayo de 2022, páginas 3705–3716. Consultado el 10 de marzo del 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jam.15460>
- Barnett H.; Hunter, B. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. (en línea). (4th ed.). New York: Macmillan Publishing Company. Consultado 03 May 2022. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10453-010-9172-0>
- Bonilla-Jiménez, F; Escobar, J. 2017. Grupos focales: una guía conceptual y metodológica. (en línea) Cuadernos Hispanoamericanos de Psicología, Vol. 9 No. Pág. 1, 51-67. Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. Consultado el 8 de oct 2022. Disponible en: <http://biblioteca.udgvirtual.udg.mx/jspui/hand>
- Carbonero Peñaloza, C., Córdova Soto, M. 2014. Aislamiento de hongos entomopatógenos de suelos agrícolas de Ica y su efectividad in vitro en el control de *Spodoptera frugiperda* (Smith), enero-marzo 2013. Páginas. 17-23. Perú. Consultado 16 mayo 2023. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.13028/2200>
- Calderón, H; de León E; Reyes, M; Carvajal J. Lagombra, G. 2007. Follaje deshidratado de guandul (*Cajanus cajan*) como suplementación en ovinos en crecimiento. Producción animal. República Dominicana. (en línea) Resultados de investigación. IDIAF. Santo Domingo República Dominicana Pág. 91. Consultado 8 sep. 2022. Disponible en: <http://www.cedaf.org.do/digital/resultadosinvestigacionproduccionanimalidiaf>.
- Castellanos, G; Alonso Bruno, G. 2021. Control Microbiológico de la mosca de la fruta *Anastrepha obliqua* en República Dominicana. Tesis grado. Santo Domingo, República Dominicana. Pág. 12-20, 34-47.
- De la Rosa, D; Batista, C; Martich, D. 2013. caracterization of mango'banilejo'(mangifera indica l.) for commercial exploitation in the Dominican Republic. (en línea). In X International Mango Symposium. Bávaro, Punta cana, República Dominicana 1075 (pág. 75-82). Consultado 18 jun 2022. Disponible en: <https://www.actahort.org/books/1075/index.htm>
- De la Rosa, W., López, F. L., & Liedo, P. (2002). *Beauveria bassiana* as a pathogen of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology*, 95(1),36-43. Consultado en línea julio 2023. Disponible en: <http://dtisartec.senasica.gob.mx:8080/biblioteca/libros/articulos/De%20la%20Rosa%20et%20al.%202002.pdf>
- Di Rienzo, J; Casanoves, F; Balzarini, M; González, L; Tablada, M; Robledo, C. InfoStat versión 2019 (en línea). Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Consultado 10 sept. 2022. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>

- Elizarrarás López, S. 2017. Aislamiento de microorganismos del suelo con capacidad antagónica y entomopatogénica. Universidad de Baja California (en línea). Tesis grado en San Vicente, Baja California. Consultado el 20 agosto. 2022. Disponible en: <https://repositorioinstitucional.uabc.mx/bitstream/20.500.12930/1128/1/ENS087437>.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2014. Agricultura Familiar en América Latina y El Caribe. Santiago, Chile E-ISBN 978-92-5-308364-0 (PDF) Consultado el 06 jun. 2022. Disponible en <http://www.fao.org/publications>
- FAOSTAT FAO Statistics. 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Producción Mundial de mango. (en línea). Roma. Consultado 17 may-2022. Disponible en: <http://faostat.fao.org/>
- Feris-M, M., Gutiérrez-C G., Varela-R, A; Espitia-M. (2002). Evaluación de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 28(2), pág. 179-182. Consultado en línea junio 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.25100/socolen.v28i2.9645>
- Fernández-Salas, A., Alonso-Morales, R. A., & Alonso-Díaz, M. Á. (2020). Distribution of entomopathogenic fungi in soils of cattle farms and factors associated with their presence in the Mexican Tropics. Veracruz, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(3). Pág. 5-12. Consultado en línea junio 2022. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3293>
- Galán Franco, L. 2012. Aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos de las diferentes zonas citrícolas de México. (en línea). Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León, México Pág. 62-68. Consultado 3 agosto 2022. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/2799/1/1080227487.pdf>
- Garrido-Jurado, I., Ruano, F., Campos, M., Quesada-Moraga, E. 2011. Effects of soil treatments with entomopathogenic fungi on soil dwelling non-target arthropods at a commercial olive orchard. *Biological Control*, 59, 239-244 Pág. Universidad de Córdoba. (en línea). Tesis doctoral. Córdoba, Argentina. Pág. 58, 277-285. Consultado 30 May 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.07.001>
- García Cruz, I; del Pozo Núñez, E; Hernández Pérez, Y. 2019. Producción y conservación de conidios del aislado Ma-005 de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.). (en línea). Sorokin. Centro Agrícola, Universidad Agraria de La Habana (UNAH). informe técnico 46(1), Pág. 5-12. Consultado 07 jun 2022. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-57852019000100005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852019000100005)
- García, N; Tlecuitl, S; Favela, E; Loera, O. 2015. Production and quality of conidia by *Metarhizium anisopliae* var. *Lepidiotum*: critical oxygen level and period of mycelium competence. (en línea) *Applied Microbiology and Biotechnology*. 99 (6): 2783-2791. Consultado el 12 jun 2022. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-014-6225-2>
- Gómez E; Piñales F; Castillo F., Díaz C.; Alcántara CM; Díaz A; Franco I. 2019. Principales enfermedades, insectos y ácaros del mango: Breve descripción y recomendaciones de control. Peravia, República Dominicana, Ministerio de Agricultura. 3 pág.
- Gómez Guirao A. 2019. Caracterización e identificación de hongos entomopatógenos con

potencial antifúngico. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. (en línea). Tesis grado. Chiapas, México. Consultado 9 sep. 2022. Disponible en: <http://repositorio.digital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/handle/123456789/3398>

Guédez, C.; Castillo, C; Cañizales, L; Olivar, R. 2008. Control biológico: Una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. Laboratorio de Fitopatología y Control Biológico. (en línea). Academia, Trujillo, Venezuela. 7(13), Pág. 50-74. Consultado 02 oct 2022. Disponible en: <https://www.researchgate.net>

García-Gutiérrez, C., Hernández-Velásquez, V.; González-Maldonado, M. (2007). Hongos entomopatógenos. *Biotecnología financiera aplicada a bioplaguicidas. Edit. Artes Gráficas La Impresora. Durango, México*, 91-118. Consultado en línea junio 2022. Disponible en:

Hernández Díaz-Ordaz, N; Pérez, N; Toledo, J. 2010. Patogenicidad de tres cepas de hongos entomopatógenos a adultos de *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) en condiciones de laboratorio (en línea). Acta zoológica mexicana, vol. 27, no. 3, pág.591-599. Cuernavaca, México. consultado el 22 de julio 2023. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0065-17372011000300007&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0065-17372011000300007&script=sci_arttext)

Rodas Pacheco, F.D. y Pacheco Salazar, V.G. 2020. Grupos Focales: Marco de Referencia para su Implementación. (en línea) *INNOVA Research Journal*. Vol.5, No.3 (sep. 2020), Pág. 182–195. Consultado el 10 de junio 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.33890/innova.v5.n3.2020.1401>

Jiménez Acosta, K. F. 2020. El acondicionamiento de los parasitoides coptera haywardi y eurytoma sivinskii con olores de pupas de la mosca mexicana de la Fruta, *Anastrepha ludens* (diptera: tephritidae), no mejora su eficiencia de parasitoidismo. (en línea). Informe técnico. México. Consultado 23 jul 2022. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.12495/6334>

Liu, H.; Zhao, X; Guo, M; Liu, H; Zheng, Z. 2016. Growth and metabolism of *Beauveria bassiana* spores and mycelia: Insights into adaptations to a near-obligate nematode endoparasitic lifestyle from the finished genome of *Drechmeria coniospora*. (en línea) *Scientific reports, BMC Microbiology*, 15: Pág. 267-279. Consultado 15 jul 2022. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/srep23122>

Liao, X; O'brien, T; Fang, W; ST Leger, R. 2014. The plant beneficial effects of *Metarhizium* species correlate with their association with roots. (en línea) *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98 (16): Pág. 7089-7096. Consultado 8 agost 2022. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-014-5788-2>

Martínez, M. A. (2006). Caracterización físico-química de los suelos de la estación experimental IDIAF, Bani, República Dominicana. Tesis de grado. No. T002. 027). Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD).

Ministerio de Agricultura. 2021. Resolución RES-MA-2021-35 sobre mosca caribeña de la fruta. (en línea). Santo Domingo. Consultado el 23 jun 2022. Disponible en: <http://agricultura.gob.do/category/estadisticas-agropecuarias/>

Ministerio de Agricultura. 2022. Resolución RES-MA-2022-20. Mosca caribeña de la fruta. Bani, provincia Peravia (en línea). República Dominicana. Consultado el 18 jun 2022. Disponible en: <http://agricultura.gob.do/category/estadisticas-agropecuarias/>

- Moino, A; Sousa Cavalanti, R. 2011. Hongos y nematodos entomopatógenos. Manual de biología de suelos tropicales. (en línea) Ed. del Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, México, Pág. 287-295. Consultado 22 oct 2022. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/667/cap10.pdf>
- Motta-Delgado, P; Murcia-Ordoñez, B. 2011. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. (en línea) Ambiente & Água-An Interdisciplinary Journal of Applied Science, 6(2), pág. 77-90. Consultado el 13 de mayo 2022. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/928/92819767006.pdf>
- Monzón, C. (2021). Producción y uso de hongos entomopatógenos. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomía, Departamento de Protección Agrícola y Forestal. Revisión técnica: Dr. Programa CATIE/MIP-AF. (en línea). Consultado el 6 de mayo 2022. Disponible en: <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/10698>
- Muñoz, J, De la Rosa, W.; Toledo, J. (2009). Mortalidad de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) por diversas cepas de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, en condiciones de laboratorio. *Acta zoológica mexicana*, 25(3), 609-624. Consultado en línea junio 2022. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0065-17372009000300013&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0065-17372009000300013&script=sci_arttext)
- Osorio-Fajardo, A; Canal, N. A. 2011. Selección de cepas de hongos entomopatógenos para el manejo de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) en Colombia. (en línea). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 64(2), Pág. 6129-6139. Consultado 10 de mar 2022. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid>
- Ortiz Villacís, J. A. 2021. Aislamiento y caracterización de hongos entomopatógenos presentes en el suelo de las diferentes zonas agrícolas de la Provincia de Tungurahua. (en línea). (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato (en línea). Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Ingeniería Bioquímica). Consultado 11 mayo 2022. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/33664>
- Pacheco Hernández, M; Reséndiz Martínez, J; Arriola Padilla, V. 2019. Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. (en línea). Revista mexicana de ciencias forestales, 10(56), Pág. 4-32. Consultado 19 jul 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>
- Pucheta Díaz, M; Flores Macías, A; Rodríguez Navarro, S; De La Torre, M. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. (en línea) Informe técnico Inter ciencia, 31(12), Pág. 856-860. Consultado 25 may 2022. Disponible en: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442006001200006](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006001200006)
- Quesada, E., Ruiz and C. 2006. Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against puparia and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). (en línea) Journal of Economic Entomology vol.99 no. 6, páginas 1955–1966, consultado el 12 de abril de 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jee/99.6.1955>
- Ramírez, A; Pérez, L; Vara, J; González, C; Enríquez, G; Aguilar, E; Dorantes, N. G. 2018. Presencia de hongos entomopatógenos nativos en suelos cultivados con maíz del municipio de Epitacio Huerta, Michoacán. (en línea) Biotecnología y Sustentabilidad México. 3(2), Pág. 9. Consultado 3 sept 2022. Disponible en:

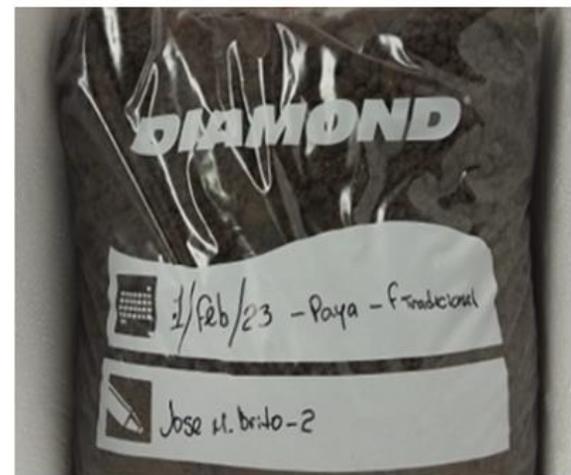
<http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/>

- Reddy, P; Gundappa, P; Chakravarthy, A. 2018. Pests of mango. In: "Pests and Their Management", edited by Omkar. (en línea). Published by Springer Nature Signature. Pág. 415-440. Consultado 27 mar 2022. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-981-10-8687-8\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-10-8687-8_12).
- Realpe, F; Bustillo, A; & López, J. 2008. Optimización de la cría de *Galleria mellonella* L para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café. (en línea). Laboratorio de Entomología Chinchiná, Colombia. Consultado el 10 oct 2022. Disponible en: <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/135>
- Rivera-Méndez, W. 2015. Control microbiológico como experiencia de sostenibilidad local en la agricultura centroamericana. (en línea). Revista Tecnología en Marcha, 29, Pág. 31-40. Consultado 23 abr 2022. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0379-39822016000700031>
- Rodríguez, J; Lecuona, R. E. 2002. Selección de cepas de hongos entomopatógenos nativos para el control de la tucura *Rhammatocerus pictus* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae). (en línea). Revista de Investigaciones Agropecuarias, 31(1), Pág. 67-84. Consultado 14 jun 2022. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3996849>
- Serra, C; García, S., Ferreira, M; Batista, O; Epsky, N; & Heath, R. 2005. Comparación de atrayentes para el trapeo de moscas de las frutas, *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) en frutales en la República Dominicana. (en línea). Memoria Carib. Food Crop Soc. (CFCS), 41(2), 524-532. Consultado 08 mar 2022. Disponible en: <https://www.revistas.una.ac.cr/index.php/geografica/article/download/4002/3843>
- Serra, C; Ferreira, M; García, S; Santana, L; Castillo, M; Nolasco, C; Sivinski, J. 2011. Establishment of the West Indian Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) in the Dominican Republic. (en línea) Florida Entomologist, 94(4), Pag. 809-816. Consultado 02 abr 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.1653/024.094.0412>
- Sookar, P; Bhagwant E; Ouna, A. 2008. Isolation of entomopathogenic fungi from the soil and their pathogenicity to two fruit fly species (Diptera: Tephritidae). (en línea). Journal of Applied Entomology, 132: Pag.778-788. Consultado 03 Abr 2022. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0418.2008.01348.x>
- Vázquez, L. 2017. El control biológico integrado al manejo territorial de plagas de insectos en Cuba. Agroecología. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), La Habana, Cuba. 12(1), Pág. 39-46. Consultado 12 sep. 2022. Disponible en: <https://revistas.um.es/agroecologia/article/view/330331>
- Vega Reaño, C. A. 2021. Control de estados inmaduros de Moscas de las Frutas *Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata* con hongos entomopatógenos en el suelo en Perú. (en línea). Tesis Ms.c. Lima, Perú. Consultado 14 sep. 2022. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4644>
- Watanabe, T. 2010. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. CRC Press, Boca Raton, London New York. Consultado el 12 de febrero 2023. Disponible en: [www.crcpress.com](http://www.crcpress.com) , [www.taylorandfrancis.com](http://www.taylorandfrancis.com) , <https://doi.org/10.1201/EBK1439804193>

Zimmermann, G. 1986. The "*Galleria*" bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. (en línea). Journal of Applied Entomology, 102: Pág. 213-215. Consultado 08 sep 2022. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0418.1986.tb00912.x>

## 10. Anexos

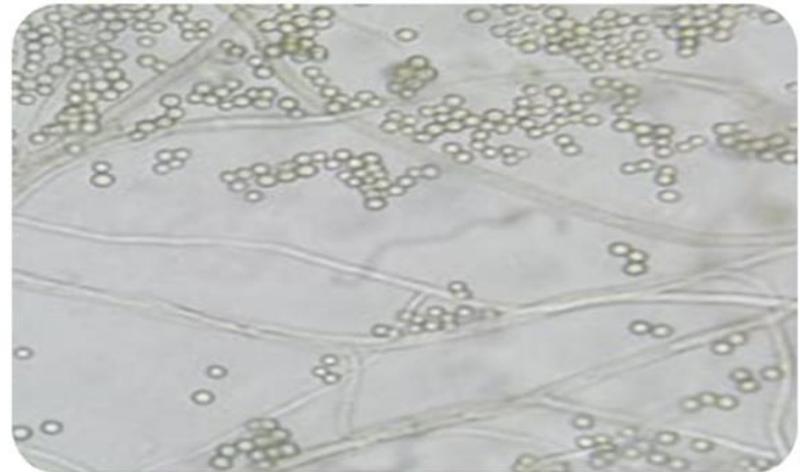
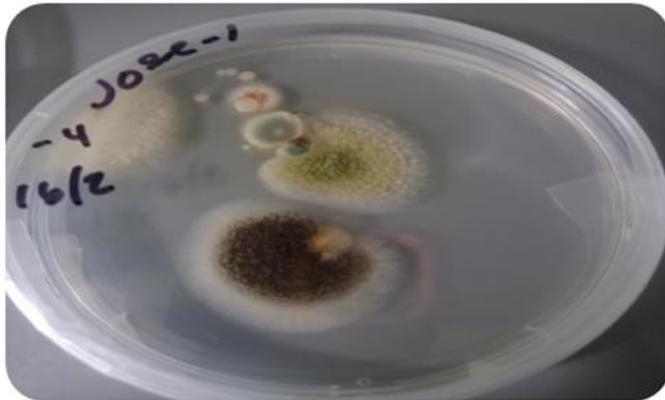
### Anexo1. Muestreos de suelos en lotes del municipio de Baní, Peravia, República Dominicana



**Anexo 2.** Aislamiento Aislamientos directos a partir de suelo



**Anexo 3.** Clasificación básica para agrupación de las colonias en biotipos de acuerdo con sus características morfológicas



**Anexo 4.** Preparación de suspensiones de conidios para ser aplicadas en larvas y adultos de *Anastrepha* sp. para evaluar su capacidad de control



**Anexo 5.** Programa del taller de grupos focales realizado en el municipio de Baní, Peravia, República Dominicana

Temas / Actividades	Responsable	Inicio	Final	Minutos	Observación
<b>I. Apertura</b>					
Registro de participantes	Personal de apoyo	9:00 a. m.	9:10 a. m.	10 min	
Palabras de motivación	Director Regional	9:10 am	09:20	10min	
Palabras de orientación	Ingrid Franco	9:20 a. m.	09:35	15min	
Refrigerio	Todos los participantes	9:35 a. m.	10:00	25min	
<b>II. Introducción</b>					
Autopresentación	Cada participante	10:00 a. m.	10:25 a. m.	25min	Personal de apoyo
Objetivos	Ingrid Franco	10:25 a. m.	10:35	10min	
<b>III. Aplicación de Encuestas</b>					
Generalidades e importancia de <i>Anastrepha</i>	Ingrid Franco / Pa	10:35 a. m.	10:45	10min	Personal de apoyo
Métodos de control utilizados para <i>Anastrepha</i>	Ingrid Franco / Pa	10:45 a. m.	10:55	10min	Personal de apoyo
Control biológico de plagas	Ingrid Franco / Pa	10:55am	11:05	10min	Personal de apoyo
Experiencias con Bioplagicidas	Ingrid Franco / Pa	11:05	11:15 a. m.	10min	Personal de apoyo
<b>IV. Análisis e Interpretación de los resultados</b>					
Análisis de las respuestas	Ingrid Franco / Pa	11:15 a. m.	11:35 a. m.	20min	Personal de apoyo
Comparación con hallazgos de la investigación	Ingrid Franco	11:35 a. m.	11:50	15min	
<b>V. Conclusiones</b>					
	Ingrid Franco	11:50 a. m.	11:55 a. m.	5min	
<b>VI. Clausura</b>					
	Ingrid Franco	11:55 a. m.	12:00 p. m.	5min	

**Anexo 6.** Biotipos de hongos encontrados de los lotes muestreados mediante aislamientos directos de suelo

Biotipos	Inicio	Esporulación	Vista Microscópica							
1				6				13		
				7						
2				8				14		
				9						
3				10				15		
				11						
4				12				16		
				13						
5				14				17		
				15						
				16				18		
				17						

**Anexo 7.** Hongos entomopatógenos encontrados en los lotes muestreados mediante aislamientos de suelos con insecto cebo.

*Paecilomyces*

Aislamiento	Larva infectada	Crecimiento en PDA	Vista microscopio
Jorge-2			
	*		
Rafael-1			
Rafael-2			
Jose-2			
	*		

\* Paecilomyces creciendo en conjunto con metarizium

*Metarizium*

Aislamiento	Larva infectada	Crecimiento en PDA	Vista microscopio
Jorge-2			
Jose-1			
Jose-2			
Rafael-1			
Rafael-2			
Raul-2			

**Anexo 8.** Biotipos de nematodos entomopatógenos encontrados de los lotes muestreados mediante aislamientos directos de suelo

Larva infectada	Solución madre	Vista microscópica
		
		

**Anexo 9.** Interpretación de las respuestas puntuales brindadas por los productores y técnicos que participaron en el taller de grupos focales realizado en el salón de actos de la Regional Agropecuaria Central del Ministerio de Agricultura, Peravia, República Dominicana.

Preguntas	Repuestas productores	Repuestas técnicos
1- ¿Consideran ustedes que la mosca de la fruta representa un problema para sus plantaciones de mango?	-Es una limitante en la producción. -Causa daños en frutos Limita la producción - Con las limitantes de exportación pone en riesgos la economía familiar	-Pérdidas que afectan la economía del productor -Provoca restricciones a mercados nacionales e internacionales -Reduce la calidad de la fruta para fines de exportación
2- ¿Cuáles métodos de control (caseros, químicos, etc.) han utilizado en sus plantaciones de mango para reducir los daños de la mosca de la fruta?	- Se utiliza una mezcla de métodos de control con colocación de trampas de monitoreo, recogida de frutos durante, reducción de malezas y después de la cosecha - Podas de formación y limpieza después de la cosecha	-Control etológico (colocación de trampas de monitoreo) -Control etológico (colocación de trampas para captura masiva de mosca de la fruta) -Control cultural (recogida y enterrado de frutos postcosecha) -Control mecánico mediante podas postcosecha
3- ¿Conocen ustedes a los enemigos naturales que puedan controlar la mosca de la fruta?	Las aves y reptiles pueden ser enemigos naturales por que se comen los frutos dañados	-Se han realizado ensayos con depredadores como <i>Doyctobracon areolatus</i> con buenos resultados, <i>Crisopas</i> y hongos como <i>Beauveria</i>
4- ¿Si han utilizado productos biológicos para controlar la mosca de la fruta, indiquen cuáles han sido utilizados y qué tan efectivos han sido?	-En la actualidad solo se basan en la aplicación de productos químicos como Ceratrap, GF-120, fosfato diamónico -Los productos químicos han dado buenos resultados hasta el momento	El MA solo utiliza productos de origen químico y sintético como Ceratrap, GF-120 y proteínas hidrolizadas (torula) En la actualidad se hacen ensayos con estratos vegetales de uva, maracuyá, papaya y melaza para control del insecto.

<p>5- ¿Resultará más barata y efectiva la utilización de productos caseros o de fabricación artesanal para controlar la mosca fruta que los productos químicos que se compran en el comercio?</p>	<p>Existe desconocimiento sobre qué productos biológicos utilizar, pero es eminente adaptarse a los cambios y buscar alternativas amigables para el medio ambiente</p>	<p>-La utilización de productos caseros saldría más cara -No necesariamente el biológico es más barato, Pero es más efectivo a largo plazo - Es necesario buscar alternativas que mejoren el medio ambiente</p>
---	--	---

