

Patogenicidad *in vitro* de *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch en *Musca domestica* (L.) como posible estrategia de control biológico en áreas ganaderas

Luis J. Cova¹, José V. Scorza D.¹, Danny E. García^{2*}, Luis M. Cañizález³, Clemencia del C. Guedez³, Miguel Maffey⁴ y María G. Medina²

¹Instituto de Investigaciones Experimentales “José Witremundo Torrealba” Universidad de los Andes, Trujillo, Trujillo. Venezuela.

²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Estación Experimental del estado Trujillo. Pampanito, Trujillo. Venezuela.

*Correo electrónico: dagamar8@hotmail.com

³Laboratorio de Fitopatología “Dr. Carlos Díaz Polanco”, Núcleo Universitario “Rafael Rangel” (NURR), Trujillo, Trujillo. Venezuela.

⁴Laboratorio de Postcosecha, NURR, Trujillo, Trujillo. Venezuela.

RESUMEN

Se realizó un experimento con el objetivo de evaluar en condiciones de laboratorio la patogenicidad de *Beauveria brongniartii* (cepa LF-05) en *Musca domestica*. Las conidias de *B. brongniartii* se obtuvieron a partir de una cepa introducida desde Perú. El hongo fue propagado en medio de cultivo agar-papa-dextrosa y luego en arroz semicrudo esterilizado. Las moscas F1 se obtuvieron a partir de especímenes silvestres, los cuales fueron capturados en una granja avícola (Betijoque, Venezuela). Ciento sesenta moscas adultas de 3 días de edad, distribuidas en 8 lotes con 17 hasta 40 moscas por frasco fueron anestesiadas con éter, para posteriormente aplicar suspensiones de *B. brongniartii* diluida en agua a partir una suspensión madre de 108 conidias/mL, resultando seis tratamientos, en función de la concentración: sin aplicación del hongo; $1,2 \times 10^3$; $1,2 \times 10^4$; $1,2 \times 10^5$; $1,2 \times 10^6$ y $1,2 \times 10^7$ conidias/mL. Se utilizaron además frascos controles con 100 moscas sanas que se sometieron únicamente a la anestesia con éter. El recuento de las moscas caídas, tanto en los frascos experimentales como en los controles, se hizo hasta el día 24. Mediante la metodología Probit® se determinó que los TL_{50} y TL_{95} se obtuvieron 11,08 y 13,25 días antes que en el control, respectivamente. Los resultados permiten concluir que esporas de *B. brongniartii* a $1,2 \times 10^7$ conidias/mL, produjeron 95% de mortalidad en *M. domestica* en 9,27 días. Se especula su uso en nebulizaciones con similar concentración del preparado para el control de la mosca en unidades de producción avícola, porcina y vacuna.

Palabras clave: *Beauveria brongniartii*, *Musca domestica*, control biológico, acción patogénica, hongos entomopatógenos

In vitro pathogenicity of *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch against *Musca domestica* (L.) as a possible strategy for biological control in livestock areas

ABSTRACT

An experiment was carried out in order to study, in laboratory condition, the pathogenicity of *Beauveria brongniartii* (strain LF-05) against *Musca domestica*. The conidia of *B. brongniartii* were obtained from Perú. The fungus was propagated in potato-dextrose-agar culture medium, and later in semi-crude sterilized rice. F₁ flies were obtained from wild specimens which were captured with mesh in a poultry breeding farm (Betijoque, Trujillo state, Venezuela). In the laboratory, one hundred and sixty adult flies from 3 days of age, divided into

8 lots with 17 to 40 per bottle flies were anesthetized with ether, and then applied *B. brongniartii* suspensions diluted in water from 10^8 conidia/mL, resulting in six treatments: control, 1.2×10^3 , 1.2×10^4 , 1.2×10^5 , 1.2×10^6 , and 1.2×10^7 conidia/mL. Healthy controls with 100 flies were used with only ether as anesthesia. The counting of fallen flies, both in the experimental and bottles at checkpoints, it was up to 24 days. Using the Probit® methodology, it was found that the LT_{50} and LT_{95} were 11.08 and 13.25 days earlier than control group, respectively. Results showed that spores of *B. brongniartii* (strain LF-05), at 1.2×10^7 conidia/mL, resulted in 95% mortality of *M. domestica* in 9.27 days. The use of nebulizations with similar concentration of spores to fly control in local production units of poultry and cattle were speculated.

Keywords: *Beauveria brongniartii*, *Musca domestica*, biological control, pathogenic action, entomopathogenic fungi

INTRODUCCIÓN

Los hongos entomopatógenos constituyen actualmente una alternativa para el control de insectos transmisores de enfermedades, frente al uso indiscriminado de insecticidas (Pucheta *et al.*, 2006). El interés por la investigación en América de los hongos entomopatógenos ha sido enfatizado por Alves (1986). En este sentido, se han reportado más de 750 especies de casi 100 géneros que pueden infectar insectos (Kachaturians, 1996). Sin embargo, pocos han sido estudiados en profundidad. Entre los más investigados se encuentran *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Langenedium giganteum*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* y *Isaria fumosorosea*, los cuales han sido utilizados comercialmente (Wraight, 1998).

Al respecto, los hongos entomopatógenos inician el proceso de infección en los insectos cuando las esporas entran en contacto con la superficie del integumento (Jones, 1994) y no necesariamente estos deben ser ingeridos para que se realice el control (Caruthers y Hural, 1990). El contacto puede ocurrir a través de los espiráculos, partes bucales y membranas inter-tegmentales (Kersaw y Talbot, 1998). El tiempo para la colonización puede variar de 3 a 11 días dependiendo del patógeno, del insecto y de las condiciones ambientales (Alves, 1986); la reproducción del patógeno ocurre entre las 48 y 60 horas. Al consumir los nutrientes el hongo inicia un crecimiento micelar invadiendo todos los órganos del hospedero, finalmente las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie iniciando la formación de esporas cuando la humedad relativa es adecuada (Gillespie y Claydon, 1989). A pesar que el insecto activa su sistema inmune a través de procesos como la melanización, fagocitosis,

nodulación y encapsulamiento (St. Legar y Robert, 1997), los hongos desarrollan mecanismos que le permiten evitar las defensas, tales como cambios en la pared celular y producción de sustancias inmunomodulatorias o toxinas fúngicas (Khachatourians, 1991; 1996).

Por otra parte, el estiércol proveniente de los sistemas de producción animal es un medio excepcional para el cultivo de larvas de insectos, en especial de *Musca domestica* (Moon *et al.*, 2001). La abundancia de moscas en ciertos lugares se debe a la acumulación de larvas en las granjas y su posterior traslado comercial a las zonas agrícolas (Avancini y Silveira, 2000). Esta problemática es generalizada y ya Asher (1961) en Israel lo había destacado advirtiendo la inutilidad del uso de insecticidas sintéticos para el control de las moscas en granjas.

Existe abundante información sobre el papel de la mosca doméstica como transportadora de agentes patógenos que incluyen virus, bacterias, protozoos y huevos de helmintos de importancia sanitaria (Greenberg, 1973). Más recientemente se ha demostrado que ese transporte no es simplemente por contaminación mecánica, sino también es interno por excreción, como ocurre con *Escherichia coli* (Kobayashi *et al.*, 1999; Sasaki *et al.*, 2000). En este sentido, se ha confirmado el creciente desarrollo de resistencia de *M. domestica* contra muchos insecticidas de uso común (Nazni *et al.*, 1998). Simultáneamente, el aumento de la producción animal, con excesiva producción de estiércol, ha conducido al incremento poblacional de moscas domésticas (Axtell y Arends, 1990) y al riesgo de su mayor distribución a distancia, por el consumo de este desecho orgánico como abono en localidades hortícolas (Peter y Zacharda, 1997). La resistencia de *M. domestica* a casi todos los grandes

grupos de insecticidas afecta la salud pública, lo cual ha sido bien documentado por Georghiou y Mellon (1983). Ensayos en las Filipinas (Nazni *et al.*, 1998) revelaron una elevada resistencia en la generación F₁ de moscas colectadas en una granja avícola contra cinco insecticidas de uso común, que incluyó un clorado, un fosforado, un carbamato y un piretroide, confirmando resultados que son generales para las moscas sinantrópicas.

Aunque el control biológico, en el caso de moscas, es a menudo descrito y rara vez practicado presenta gran significado en el caso de las granjas criadoras de pollos, ya que no puede aplicarse masivamente pesticidas o utilizarse recursos como el ozono que demanda tecnología muy cara (Masten *et al.*, 2002). Por otro lado, el uso extensivo de estos plaguicidas sintéticos no es recomendable en la explotación con animales, donde las intervenciones de control deberían hacerse con medios biológicos, los cuales son más específicos y sin riesgos para los productores y consumidores (Cova y Scorza, 2006; Scorza y Cova, 2006).

Por tales motivos, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad entomopatógena de *B. brongniartii* (cepa LF-05) en *M. domestica* determinando los tiempos letales (TL₅₀ y TL₉₅) a diferentes dosis, mediante la inoculación individual por contacto con conidias en moscas inmovilizadas con éter etílico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y condiciones del ensayo

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Parasitología, perteneciente al Instituto de Investigaciones Experimentales “José Witremundo Torrealba” del Núcleo Universitario “Rafael Rangel”, de la Universidad de los Andes, Trujillo, Venezuela (800 msnm). La temperatura en el área es relativamente constante (25,2°C) con humedad relativa entre 60 y 78%.

Obtención de *B. brongniartii* (cepa LF-05)

Las conidias de *B. brongniartii* se obtuvieron a partir de introducciones del hongo desde el Cuzco, Perú (1.600 msnm, 13° 08' 50" S y 72° 17' 10" O). Posteriormente el hongo fue propagado en medio de cultivo en agar-papa-dextrosa y luego en arroz

semicrudo esterilizado. Para la propagación en masa, se utilizaron fragmentos de agar con desarrollo fúngico, suspendidos en agua desionizada con 1:10 000 de Tween-80 e inoculándolo en arroz descascarado, previamente humedecido al 30% (p/v) y esterilizado dentro de bolsas de polietileno a 115°C durante 15 minutos. El arroz inoculado se incubó a temperatura ambiente (25°C) en penumbra (1-3 Lux) durante dos semanas. Se tamizó el desarrollo fúngico a través de organdí y se cosecharon las esporas para recogerlas en envases secos de aluminio esterilizado. Los ensayos de germinación de las esporas se realizaron mediante la técnica de Milner *et al.* (1991), éstos revelaron más de 90% de viabilidad.

Obtención de moscas F₁ a partir de moscas silvestres

Para la obtención de moscas F₁ a partir de especímenes silvestres se empleó el dispositivo utilizado por Scorza y Cova (2006), capturando con una malla (tamaño de poro, 1 mm) los insectos en una granja de cría avícola (Sara Linda, Betijoque, estado Trujillo). El equipo fue constituido por pares de frascos de 4,8 L de 27 x 15 x 0,95 cm de longitud, diámetro y boca, respectivamente, conectados mediante un tubo de PVC de 40 x 7,6 cm de longitud y diámetro externo, ajustado fuertemente dentro de las bocas de los frascos, mediante un suplemento de bandas elásticas. En la cara superior del tubo de PVC se hicieron 60 aberturas de 20 mm de diámetro, como ventanas de ventilación, dispuestas en hileras y cubiertas por nailon adherido con pegante. Dentro de uno de los frascos se introdujeron las moscas silvestres junto con dos envases plásticos, uno con azúcar refinada y otro con leche en polvo. En el otro frasco, como medio para la postura de las moscas, se añadieron 250 g de gallinaza humedecida extraída del lecho de una granja de cría de pollos, precalentada a 60°C durante una hora para eliminar huevos, larvas o pupas contaminantes ajenas, para posteriormente reinocular el medio con un extracto filtrado de gallinaza (Glaser, 1924). Se colocaron los sistemas a temperatura ambiente (25°C) en un lugar sombreado y protegido de la acción directa de la luz. Se cubrieron las aberturas del tubo de PVC con tiras de tela gruesa humedecidas por capilaridad, con el otro extremo sumergido en un frasco con agua. Tan pronto aparecieron larvas de moscas de primero o segundo estadio de desarrollo en la gallinaza de cultivo, se extrajeron las moscas

progenitoras, para obtener la generación F₁ entre ocho y doce días más tarde.

Procedimiento de anestesia con éter para *M. domestica*

Se utilizó la metodología descrita por Scorza y Cova (2006) con el uso de éter etílico como anestésico, único modo para aplicar individualmente las concentraciones de conidias sobre las coxas y piezas bucales de las moscas. La dosificación del éter para las moscas fue variable (0,4-0,5 mL/mosca). Se expusieron lotes de diecisiete hasta cuarenta individuos en frascos de 4,8 L a los vapores de éter.

Se anestesiaron 160 moscas adultas de 3 días de edad, distribuidas en 8 lotes con 17 hasta 40 moscas por frasco. El período promedio máximo de aplicación fue 4,04 min y el promedio de la duración de la anestesia fue de 12,08 min con mínimo de 6 y máximo de 23 min.

Evaluación de la patogenicidad de la cepa LF-05

Micelios y conidias de *B. brongniartii* de 21 días de cultivos fueron separados por tamizado en función del tamaño y las conidias se suspendieron en agua deionizada con Tween-80 (0,01%) y agitadas suavemente durante un minuto para separarlas. A partir de una suspensión de 10⁸ conidias/mL contadas con un hemocitómetro Neubauer en 4 x 16 cuadrantes equivalentes a 0,1 mm³, se ajustó el recuento por centrifugación a 3.000 rpm y resuspensión. A partir de esta suspensión madre con 10⁸ conidias/mL se hicieron diluciones seriadas en agua con Tween-80 para preparar suspensiones de 10⁷ hasta 10³ conidiosporas/mL en volúmenes de 10 mL y refrigerarlas (5°C) hasta su uso, menos de doce horas más tarde.

Moscas anestesiadas en lotes de 25 fueron inoculadas con 0,5 µL de cada suspensión evaluada. El inóculo fue depositado entre la trompa y las coxas anteriores, bajo aumento de 5X. Con cada suspensión de conidias se contaminaron 100 moscas que fueron confinadas en cuatro frascos de 4,8 L con círculos de papel Whatman No.1 de 14 cm de diámetro humedecido y sendos envases plásticos con azúcar refinada y leche en polvo. Se prepararon así frascos, de cuatro en cuatro, para 100 moscas contaminadas con las respectivas concentraciones de conidias (1,2 x 10³; 1,2 x 10⁴; 1,2 x 10⁵; 1,2 x 10⁶ y 1,2 x 10⁷ conidias/mL) y además, frascos controles con 100 moscas

sanas que se sometieron únicamente a la anestesia con éter. Los frascos se colocaron en penumbra (1-3 Lux) y diariamente se contaron las moscas caídas y aparentemente muertas por su inmovilidad a la agitación del frasco. No se separaron los cadáveres para evitar el estrés en las sobrevivientes. El recuento de las moscas caídas, tanto en los frascos experimentales como en los controles, se hizo hasta el día 24, considerando que en las condiciones experimentales una mosca puede vivir hasta 30 días. Se prestó especial atención, en las moscas caídas, a la aparición en los cadáveres de micelio blancuzco o rosado pálido.

Análisis de resultados

Para el análisis de los resultados se corrigió la mortalidad con respecto al control, utilizando la fórmula propuesta por Abbott (1925), mortalidad corregida (%) = [(X-Y)/X] x 100, donde X son las moscas vivas del control e Y son moscas vivas en el tratamiento. Posteriormente se aplicó la metodología Probit® del paquete estadístico Minitab (2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se muestra la mortalidad acumulada en función de los insectos caídos, hasta los 24 días, en seis lotes de 100 moscas contaminadas con 0, 6 x 10⁻¹, 6, 6 x 10, 6 x 10² y 6 x 10³ conidias de *B. brongniartii* por mosca, respectivamente. Al respecto, se observa la dependencia entre la mortalidad de *M. domestica*, en función de las concentraciones del hongo. Considerando los datos transformados entre el día 6 y el 23 se observaron las mayores variaciones numéricas, las cuales fueron posteriormente utilizadas para el cálculo de los TL₅₀ y TL₉₅.

En el Cuadro 2 se presentan los tiempos letales (TL₅₀ y TL₉₅), mediante el análisis Probit® para *M. domestica*, producidas por distintas concentraciones de conidias de *B. brongniartii*. Los TL₅₀ y TL₉₅ a concentración de 1,2 x 10³ conidiosporas/mL de *B. brongniartii* no exhibieron diferencias numéricas sustanciales con el control. A dosis de 1,2 x 10⁴ y 1,2 x 10⁵ esporas/mL las moscas tratadas mostraron TL₅₀ cinco y seis días más tempranos y TL₉₅ con seis y siete días antes que las obtenidas con las concentraciones de 1,2 x 10³ conidias/mL y el control, respectivamente. Para la dosis de 1,2 x 10⁷ conidiosporas/mL, el TL₅₀ se obtuvo 11,08 días antes y el TL₉₅ 13,25 días antes que en el control, respectivamente.

Cuadro 1. Mortalidad corregida de *M. domestica* producida por diferentes concentraciones de conidias de *B. brongniartii*.

Tiempo día	Concentración de conidias					Control
	1,2 x 10 ⁷	1,2 x 10 ⁶	1,2 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁴	1,2 x 10 ³	
	----- conidia/mL -----					
1	-	-	-	-	-	1
2	-	-	-	-	-	1
3	-	0	-	-	0	1
4	0	1	-	-	0	1
5	1	0	-	-	-	3
6	67	0	-	-	0	3
7	77	34	0	-	0	3
8	83	49	4	2	1	3
9	94	61	4	6	2	4
10	99	81	29	14	8	5
11	100	96	46	21	13	11
12		98	65	34	14	20
13		99	83	51	24	20
14		97	92	68	18	28
15		99	94	78	21	33
16		100	98	93	35	46
17			100	91	37	54
18				90	48	69
19				85	70	80
20				93	88	84
21				100	90	90
22					100	95
23						98
24						100

Cuadro 2. Tiempos letales (TL₅₀ y TL₉₅) y error estándar (EE) en función de la mortalidad de *M. domestica* producida por distintas concentraciones de conidias de *B. brongniartii*.

Concentración conidia/mL	TL ₅₀ d	EE	Límite de confianza		TL ₉₅ d	EE	Límite de confianza	
			Inferior ----- d -----	Superior ----- d -----			Inferior ----- d -----	Superior ----- d -----
Control	16,15	0,15	15,84	16,46	22,52	0,35	21,89	23,28
1,2 x 10 ³	17,05	0,18	16,70	17,43	24,06	0,49	23,20	25,13
1,2 x 10 ⁴	12,89	0,13	12,63	13,14	16,87	0,31	16,33	17,57
1,2 x 10 ⁵	11,15	0,15	10,83	11,43	14,79	0,24	14,37	15,34
1,2 x 10 ⁶	8,06	0,14	7,76	8,32	11,41	0,23	11,02	11,93
1,2 x 10 ⁷	5,07	0,39	4,04	5,68	9,27	0,34	8,74	10,16

Ensayos realizados por Barson *et al.* (1994) en condiciones de laboratorio utilizando seis especies de hongos entomopatógenos contra larvas y moscas domésticas adultas mostraron lo infectivo del uso de *B. brongniartii*, comparada con otros tales como *M. anisopliae* y *T. cilindrosporium*. Sin embargo, ensayos realizados sobre la variabilidad de *B. brongniartii* (Hadapad *et al.*, 2006), mediante un análisis de clasificación automática basado en una matriz de distancias genéticas mediante análisis de marcadores amplificadores de fragmentos polimórficos (AFLP), encontraron que la virulencia de *B. brongniartii* está estrechamente relacionada con su variabilidad genética. En este sentido, en investigaciones realizadas por Konstantopoulou y Mazomenos (2005) empleando *B. brongniartii* y *B. bassiana* contra adultos de la mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*) a concentraciones de 10^8 esporas/mL en seis días estos hongos causaron el 97,4 y 85,6% de mortalidad, respectivamente.

La efectividad de seis especies de hongos entomopatógenos para el control de larvas y moscas domésticas adultas fueron ensayadas en el laboratorio por Barson *et al.* (1994), encontrándose que los más virulentos fueron *Metarhizium anisopliae* y *Tolypocladium cylindrosporium*, y los menos *B. bassiana* y *B. brongniartii*. Sin embargo, Hadapad *et al.* (2006) encontraron que la virulencia de estos últimos está relacionada con su variabilidad genética, la cual se describió con estudios realizados en aislados de *Beauveria* sp. de diferentes zonas geográficas y de diferentes hospederos, basado en AFLP. Ayala *et al.* (2002) investigaron la virulencia de *B. brongniartii* a escala de laboratorio contra *Triatoma infestans*, mostrando alta patogenicidad, causando mortalidad del 100% en ocho días a una concentración de $1,6 \times 10^9$ esporas/mL. Por su parte, Fernández y Colmenares (1997) evaluaron a nivel de campo la patogenicidad de *B. brongniartii* (Bbr. Cab) aislada en Cabimbú, estado Trujillo, Venezuela y *B. brongniartii* (Bbr. Perú) proveniente del Cusco, Perú, sobre el gusano blanco de la papa (*Premnotrypes borax*), en parcelas de *Solanum tuberosum* (var. Granola), encontrando tubérculos dañados a la cosecha de 16 y 25%, respectivamente contra 40% del control tradicional del insecticida, lo que demuestra la variabilidad patogénica.

A pesar de que la cepa de *B. brongniartii* utilizada por Barson *et al.* (1994) sobre *M. domestica* mostró

mortalidad de 2 y 8% en 6 y 9 días, respectivamente para una concentración de 10^4 esporas/mL, en esta investigación se obtuvo un TL_{50} y TL_{95} a la misma concentración en 13 y 17 días, respectivamente. A concentraciones más altas de 10^7 esporas/mL se obtuvieron TL_{50} y TL_{95} de cinco y nueve días. Estos resultados ponen de manifiesto la elevada patogenicidad de la cepa evaluada. Por otra lado, Scorza y Cova (2006) en un experimento similar, pero con una cepa de *B. bassiana* colectada en el estado Mérida, Venezuela, a concentraciones de 10^7 esporas/mL obtuvieron TL_{50} y TL_{95} de 5 y 6 días, respectivamente. Dada esta problemática y los efectos que puedan tener los diferentes ambientes y la variabilidad genética sobre la patogenicidad de los hongos entomopatógenos de un mismo género, no se descarta la posibilidad de su uso integrado a nivel de granjas, avícola, porcinas y de ganado vacuno, donde la combinación de hongos y estrategias viables en cuanto a dosis, frecuencias y formas de aplicación garanticen una persistencia patogénica del hongo en el tiempo (Cova y Scorza, 2006).

En el caso de *B. bassiana* el hongo ha sido evaluado contra larvas de *M. domestica* en concentraciones de 10^7 esporas, durante catorce días, reduciendo en 84% la emergencia de imagos, contra 54% en lotes no tratados, lo cual induciría a pensar en lo inútil de su uso en larvas, dada la mortalidad del control (Barson *et al.*, 1994). Sin embargo, la exposición de moscas adultas acumuladas dentro de unidades de crecimiento de pollos a la nebulización con *B. bassiana* podría no solamente producir una disminución drástica de adultos en cuatro semanas (Cova y Scorza, 2006), sino tal vez inducir una acción sostenida durante un cierto tiempo, similar a la acción epizootica detectada en colonias de comején (*Coptotermes formosanus*) en otras partes del mundo (Sun *et al.*, 2003).

Aún cuando los porcentajes de mortalidad para moscas adultas registrados por los investigadores británicos (Barson *et al.*, 1994) con una cepa de *B. bassiana* y otra de *Metarhizium anisopliae* fueron muy elevados (con ambos a 10^5 conidias/mL indujo 100% mortalidad a los seis días), los resultados obtenidos en la presente investigación también son aceptables. En este sentido, la cepa de *B. brongniartii* utilizada en este estudio (LF-05) parece ser menos patógena que la de *B. bassiana* cultivada en el Instituto Internacional de Micología de Londres (IMI 061345), ya que a 10^5 conidias/mL, el hongo tarda diez días

para inducir mortalidad de 100% en moscas adultas. Estos resultados sugieren la necesidad de hacer repetidamente exposiciones con dosis mayores de 10^5 conidias/mL para alcanzar la máxima letalidad en menor tiempo. Como quiera que el estiércol extraído de las granjas y utilizado en las áreas agrícolas tarda más de una semana para ser usado es posible que con tres nebulizaciones con el hongo biocontrolador en los sitios de su producción sea posible no solamente reducir la población de moscas *in situ*, sino eliminar la eventual eclosión de moscas a distancia en los lugares abonados.

CONCLUSIONES

Esporas de *B. brongniartii* (cepa LF-05) a dosis de $1,2 \times 10^7$ esporas/mL indujo, a nivel de laboratorio, 95% de mortalidad en *M. domestica* en el menor tiempo (nueve días). Se recomienda el uso de nebulizaciones para el control de la mosca en unidades de producción avícola, porcina y de vacunos, fundamentalmente.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CDCHT por el financiamiento de esta investigación (NURR-C-329-03-09-A).

LITERATURA CITADA

- Abbott W.S. 1925. A method computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18: 265-267.
- Alves S.B., R.M. Pereira, J.L. Stimac y S.A. Vieira. 1986. Delayed germination of *Beauveria bassiana* conidia after prolonged storage at low, above-freezing temperature. *Biocont. Sci. Technol.*, 6: 575-581.
- Asher K.R. 1961. Houseflies in Israel. III Some observations at breeding sites in rural areas, and considerations about the influence of Israeli mamusa handling methods of houseflies breeding. *Zchr. Angew. Entomol.*, 48: 115-162.
- Avancini R. y G. Silveira. 2000. Age structure and abundance in populations of muscoid flies from a poultry facility in Southeast Brazil. *Mem. Inst. O. Cruz*, 95: 259-264.
- Axtel R.C. y Arends J.J. 1990. Ecology and management of arthropod pest on poultry. *Ann. Rev. Entomol.* 35: 101-126.
- Ayala Y, E. Portal y C. Carrasco. 2002. Virulencia y efectividad de *Beauveria brongniartii* en el control de la chirimacha en Ayacucho. Evaluación en campo. Memorias 44^{ta} Convención de Entomología. Universidad Agraria La Molina, Lima, Perú. Disponible en http://www.lamolina.edu.pe/convencionentomologia/control_biologico.htm.
- Barson G., N. Reen y F. Bywater. 1994. Laboratory evaluation of six species of entomopathogenic fungi for the control of the house fly (*Musca domestica* L.) a pest of intensive animal units. *J. Invert. Pathol.*, 64: 107-113.
- Carruthers I.R. y K. Hural. 1990. Fungi as natural occurring entomopathogens. *En Baker R.R., P.E. Dunn y A.R. Liss (Eds.) New Directions in Biological Control: Alternatives for Suppressing Agricultural Pests and Diseases.* Academic Press. New York, EUA. pp. 115-138.
- Cova L.J. y J.V. Scorza. 2006. Control temporal de moscas caseras (*Musca domestica*) en galpones avícolas mediante nebulizaciones con conidias de *Beauveria bassiana*. *Bol. Malariología Salud Amb.*, 46(2): 137-142.
- Fernández S.A. y X. Colmenares. 1997. Evaluación de *Beauveria* spp. para el control de *Premnotrypes vorax* Hustache (Coleoptera: Curculionidae) en el cultivo de la papa. *Agronomía Trop.* 47(3): 249-257.
- Georghiou G.R. y R. Mellon. 1983. Pesticide resistance in time and space. *En Georghiou G.P. y T. Saito (Eds.) Pest Resistance to Pesticides.* Plenum Press, New York. EUA. pp. 1-46.
- Gillespie A.T. y N. Claydon N. 1989. The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. *Pesticide Sci.*, 27: 203-215.
- Glaser R.W. 1924. The relation of microorganisms to the development and longevity of flies. *Am. J. Trop. Med.*, 4(1-6): 85-105.

- Greenberg B. 1973. Flies and disease. Vol II. Biology and disease transmission. Princeton University Press, Princeton, EUA.
- Hadapad A., A. Reineke y C. Zebitz. 2006. Genetic variability among *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Pech isolates from various geographical and host origins based on AFLP analysis. Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent., 15: 71-76.
- Jones R.L. 1994. Role of field studies in assessing environmental behavior of herbicides. Proc. Brighton crop protection conference. Weeds. Vol. 3. Brighton, RU. pp. 1275-1282.
- Kershaw M.J. y N.J. Talbot. 1998. Hydrophobins and repellents: proteins with fundamental roles in fungal morphogenesis. Fungal Genet. Biol., 23: 18-33.
- Khachatourians G.G. 1991. Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. En Arora D.K., L. Ajello y K.G. Mukerji (Eds.) Handbook of Applied Mycology Vol. 2: Humans, Animals and Insects. Dakker. New York, EUA. pp. 613-661.
- Khachatourians G.G. 1996. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. En Howard D.H. y J.D. Miller (Eds.) The Mycota. VI. Human and Animal Relationship. Springer. Berlin, Alemania. pp 331-364.
- Kobayashi M., T. Sasaki, N. Saito, K. Tamura, K. Suzuki, H. Watanabe y N. Agui. 1999. House flies: Not simple mechanical vectors of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 61: 625-629.
- Konstantopoulou M.A. y B.E. Mazomenos. 2005. Evaluation of *Beauveria bassiana* and *B. brongniartii* strains and four wild-type fungal species against adults of *Bactrocera oleae* and *Ceratitis capitata*. Biocontrol, 50(2): 293-305.
- Masten S., A. Kim-Yang, E.D. Walker, H. Roman y N. Yokoyama. 2002. Toxicity of ozonated animal manure to the house fly, *Musca domestica*. J. Environ. Qual., 30: 1624-1650.
- Milner R.J., R. Huppertz y B. Swaris B. 1991. A new method for assessment of germination of *Metarhizium* conidia. J. Invert. Pathol., 57: 121-123.
- Minitab. 2003. Minitab Statistical Software. Rel. 14. Minitab Inc. State College, EUA.
- Moon R.D., J. Hinton, S. O' Rourke y D. Schmidt. 2001. Nutritional value of fresh and composted poultry manure for house fly (Diptera: Muscidae) larvae. J. Econ. Entomol., 94: 1308-1317.
- Nazni W., M. Ursula, H. Lee y L. Sadiyah. 1998. Susceptibility of *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) from various breeding sites to community used insecticides. J. Vect. Ecol., 23: 54-60.
- Peter V. y F. Zacharda. 1997. Collection, storage and transport of poultry wastes. En Animal Wastes. Applied Science Publications, Londres. pp. 3-45.
- Pucheta M., A. Flores, S. Rodríguez y M. de la Torre. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. Interciencia, 31(12): 856-860.
- Sasaki T., M. Kobayashi y N. Agui. 2000. Epidemiological potential of excretion and regurgitation by *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in the dissemination of *Escherichia coli*. J. Med. Entomol., 37: 945-949.
- Scorza J.V y L.J. Cova. 2006. Acción patógena de una cepa venezolana de *Beauveria bassiana* para *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Bol. Malariología Salud Amb., 46(2): 143-154.
- St. Leger R.J. y D.W. Roberts. 1997. Engineering improved mycoinsecticides. Trends Biotechnol., 15: 83-87.
- Sun J., J.R. Fuxa y G. Henderson. 2003. Virulence and *in vitro* characteristics of pathogenic fungi isolated from soil by baiting with *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). J. Entom. Sci., 38(3): 342-358.
- Wraight S., R. Carruthers, C. Bradley, S. Jaronsky, L. Lacey, P. Wood y W.S. Galaini. 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. Biol. Control, 17: 203-217.