

# Monitoring the Dark Winged Fungus Gnat (*Bradysia impatiens* Johannsen) with Yellow Sticky Traps in Forest Nurseries

## Monitoreo de mosco fungoso negro (*Bradysia impatiens* Johannsen) con trampas amarillas pegajosas en viveros forestales

Pablo Martínez-Gil<sup>1</sup>; David Cibrián-Tovar<sup>1\*</sup>; Antonio Villanueva-Morales<sup>1</sup>;  
Víctor Hugo Marín-Cruz<sup>2</sup>; Evert Villanueva-Sánchez<sup>3</sup>; Herón Huerta-Jiménez<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Chapingo, División de Ciencias Forestales. Carretera México-Texcoco km 38.5. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Universidad para el Bienestar Benito Juárez García (UBBJG), Sede Milpa Alta. Av. 5 de Mayo Oriente s/n, San Bartolomé Xicomulco. C. P. 12250. Milpa Alta, Ciudad de México, México.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma Chapingo-Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal. Carretera México-Texcoco km 38.5. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

<sup>4</sup>Laboratorio de Entomología, Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE). Francisco de Paula de Miranda núm. 177, col. Unidad Lomas Plateros. C. P. 01480. Álvaro Obregón, Ciudad de México, México.

\*Corresponding author: dcibrian48@gmail.com; tel.: +52 595 951 7399.

### Abstract

**Introduction.** The Dark Winged Fungus Gnat, *Bradysia impatiens* Johannsen, is a significant pest in modern forest nurseries in Mexico, as it causes plant mortality. However, studies on adult monitoring are scarce.

**Objectives.** Determine the most suitable trap for monitoring *B. impatiens*, characterize its population levels and identify associated organisms, including its natural enemies.

**Materials and methods.** The attraction effect of *B. impatiens* to two types of yellow sticky traps (circular and flag paper trap) and a colorless trap was evaluated. After selecting the best trap, the capture of *B. impatiens* and associated organisms was compared across four forest nurseries to determine the species' population levels. Capture data were analyzed using generalized linear models with negative binomial regression.

**Results and discussion.** Flag paper trap was the most efficient for capturing adults. Based on weekly captures, three population levels were subjectively rated: low (<30 adults), medium (30-60 adults), and high (>60 adults). *Coenosia attenuata* Stein was found as a natural enemy of the pest; however, the capture percentage was low (1.78 %), so the traps do not pose a threat to their populations. *Kleidotoma* sp., a possible parasitoid of the pest and *C. attenuata*, was also found.

**Conclusions.** An integrated pest management plan for *B. impatiens* is necessary, including flag paper trap and the predator *C. attenuata* as biological control in nurseries. *C. attenuata*, a predator of *B. impatiens*, is recorded for the first time in Tlaxcala.

**Keywords:** *Agave salmiana*;

*Coenosia attenuata*;  
forest pest; flag paper trap; forest nursery.

### Resumen

**Introducción.** El mosco fungoso negro *Bradysia impatiens* Johannsen es una plaga de importancia en los viveros forestales tecnificados de México, debido a que ocasiona mortalidad de la planta; sin embargo, los estudios sobre monitoreo de adultos son escasos.

**Objetivos.** Determinar la trampa más adecuada para el monitoreo de *B. impatiens*, caracterizar sus niveles poblacionales e identificar organismos asociados, entre ellos sus enemigos naturales.

**Materiales y métodos.** Se evaluó el efecto de atracción de *B. impatiens* a dos tipos de trampas pegajosas amarillas (circulares y bandera) y una incolora. Después de la selección de la mejor trampa, se comparó la captura de *B. impatiens* y organismos asociados en cuatro viveros forestales para determinar niveles poblacionales de la especie. Los datos de captura se analizaron con modelos lineales generalizados mediante regresión binomial negativa.

**Resultados y discusión.** La trampa bandera fue la más eficiente para la captura de adultos. Con base en la captura semanal, se calificaron subjetivamente tres niveles poblacionales: baja (<30 adultos), media (30-60 adultos) y alta (>60 adultos). Se encontró a *Coenosia attenuata* Stein como enemigo natural de la plaga; sin embargo, el porcentaje de captura fue bajo (1.78 %), por lo que las trampas no representan amenaza para sus poblaciones. También se encontró a *Kleidotoma* sp., posible parasitoide de la plaga y de *C. attenuata*.

**Conclusiones.** Es necesario un plan de manejo integrado de plagas para *B. impatiens*, que incluya la trampa bandera y el depredador *C. attenuata* como control biológico en viveros. La mosca *C. attenuata*, depredadora de *B. impatiens*, se registra por primera vez en Tlaxcala.

**Palabras clave:** *Agave salmiana*;  
*Coenosia attenuata*;  
plaga forestal; trampa bandera; vivero forestal.

## Introduction

The Dark Winged Fungus Gnat *Bradysia impatiens* Johannsen is the main pest of technologically advanced forest nurseries in Mexico, although it is also significant in greenhouses for vegetables and ornamental plants (Marín-Cruz et al., 2022; Villanueva-Sánchez et al., 2013). In pine nurseries, mortality rates of up to 30 % have been recorded (Marín-Cruz et al., 2015). Among a range of 17 species of host pines, cespitose species have been the most attacked (Marín-Cruz et al., 2022). Adults and larvae of *B. impatiens* are vectors of plant pathogens; some of the fungi transmitted include *Pythium*, *Botrytis*, *Verticillium*, *Thielaviopsis*, *Cylindrocladium*, *Sclerotinia* and several species of *Fusarium*, notably *F. circinatum* Nirenberg & O'Donnell and *F. oxysporum* Schltdl. (García-Díaz et al., 2017; Marín-Cruz et al., 2015; Villanueva-Sánchez et al., 2013).

Monitoring methods in nurseries provide information for decision-making regarding the timely application of pest control treatments. Monitoring is useful for determining the population size of a pest, which, when related to impacts and costs, allows defining the level of damage and economic threshold (Onstad et al., 2021). Santos et al. (2012) indicate that to obtain the economic damage level, it is necessary to have parameters on damage per unit of pest and the yield loss of the crop as a function of the total damage.

In pest monitoring, there are several trapping methods that, to be considered effective, should be specific, low-cost, and easy to establish, manage, and evaluate. Shin et al. (2020) demonstrated that yellow sticky traps are efficient for attracting fungus gnats. These are used in several fields of agriculture due to their potential for pest insect control (Shi et al., 2020), as they attract and capture insects due to their color and special adhesive; sometimes, there are variations in color preference depending on the group being studied (Bravo-Portocarrero et al., 2020; Pacheco-Covarrubias et al., 2016; Stukenberg et al., 2018). To be effective, these traps should maintain their color and adhesive stability under natural conditions over time (Barrera et al., 2006); various models and sizes are used, but they are almost always large and difficult to handle (Moravvej et al., 2022; Yoon et al., 2018).

The objectives of this study were to evaluate two types of yellow sticky traps to select the most efficient one for monitoring *B. impatiens*, to classify population levels according to pest capture, and to identify associated organisms, including natural enemies.

## Introducción

El mosco fungoso negro *Bradysia impatiens* Johannsen es la principal plaga de los viveros forestales tecnificados de México, aunque también es de importancia en invernaderos de hortalizas y plantas ornamentales (Marín-Cruz et al., 2022; Villanueva-Sánchez et al., 2013). En viveros de pinos se ha cuantificado hasta 30 % de mortalidad (Marín-Cruz et al., 2015). De un rango de 17 especies de pinos hospedantes, las especies cespitosas han sido las más atacadas (Marín-Cruz et al., 2022). Adultos y larvas de *B. impatiens* son vectores de patógenos de plantas; algunos de los hongos transmitidos son *Pythium*, *Botrytis*, *Verticillium*, *Thielaviopsis*, *Cylindrocladium*, *Sclerotinia* y varias especies de *Fusarium*, entre las que destacan *F. circinatum* Nirenberg & O'Donnell y *F. oxysporum* Schltdl. (García-Díaz et al., 2017; Marín-Cruz et al., 2015; Villanueva-Sánchez et al., 2013).

Los métodos de monitoreo en viveros aportan información para la toma de decisiones con respecto a la aplicación oportuna de tratamientos de combate contra plagas. El monitoreo es útil para conocer el tamaño poblacional de una plaga, mismo que al relacionarlo con impactos y costos permite definir el nivel de daño y umbral económico (Onstad et al., 2021). Santos et al. (2012) señalan que, para obtener el nivel de daño económico, es necesario contar con parámetros sobre daño por unidad de plaga y la pérdida en rendimiento del cultivo como una función del daño total.

En el monitoreo de plagas existen varios métodos de trampeo que, para considerarse efectivos, deben ser específicos, de costo bajo y fáciles de establecer, manejar y evaluar. Shin et al. (2020) demostraron que las trampas amarillas pegajosas son eficientes para atraer ciáridos. Estas se utilizan en varios ámbitos de la agricultura, debido a su potencial para el control de insectos plaga (Shi et al., 2020), ya que presentan atracción y capacidad de captura debido a su color y pegamento especial para insectos; en ocasiones, hay variaciones en la preferencia del color dependiendo del grupo en estudio (Bravo-Portocarrero et al., 2020; Pacheco-Covarrubias et al., 2016; Stukenberg et al., 2018). Para su efectividad, estas trampas deben tener estabilidad de color y del pegamento en condiciones naturales a través del tiempo (Barrera et al., 2006); se utilizan varios modelos y tamaños, pero casi siempre son grandes de manipulación difícil (Moravvej et al., 2022; Yoon et al., 2018).

Los objetivos de este estudio fueron evaluar dos tipos de trampas amarillas pegajosas con el fin de seleccionar la más eficiente para el monitoreo de

## Materials and Methods

The research was divided into two stages. In the first stage, the attraction effect of two types of yellow traps and one colorless trap was evaluated. After selecting the best trap, the second stage involved comparing the capture of *B. impatiens* in four forest nurseries to determine the population levels of the species.

### First stage: Evaluation of the attractive effect of traps

At the Atlangatepec nursery in Tlaxcala, located at coordinates  $19^{\circ} 32' 27.6''$  N and  $98^{\circ} 10' 48''$  W, with an elevation of 2 510 m, maguey *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck is produced. In 2022, a target of 500 000 plants was achieved. For its production, plastic trays with 54 cavities of 190 mL were used, with a substrate composed of 25 % pine bark, 25 % peat moss, 25 % perlite, and 25 % vermiculite. This nursery originally produced forest plants; however, currently in Mexico, there are very few nurseries producing temperate climate forest plants, mainly due to productive programs such as 'Sembrando Vida' that require plants with different characteristics; additionally, there was a high percentage of conversion from technified nurseries to nurseries with a traditional system.

The nursery has production modules with metal tables measuring 1.47 m wide, 48.1 m long, and 70 cm high. Each table has a capacity of 384 trays, and tezontle is applied to the soil to prevent weed growth. Production is protected with shade netting and greenhouse plastic. The nursery also produces mezcal agave and fruit trees such as guava and pomegranate.

### Types of traps

#### *Yellow circular trap*

They were manually constructed using plastic lids from commercial containers. The lids measure 12.1 cm in diameter with a surface area of  $114 \text{ cm}^2$ . One lid served as the base, was spray-painted with acrylic safety yellow paint, allowed to dry, and covered with another lid, but without the rim. The cover was impregnated with motor oil or commercial insect adhesive, whose base is polybutene and aromin. The traps were secured with staples on a wooden stick. Subsequently, traps with captures were stacked on top of each other for storage and later review (Figure 1).

#### *Transparent circular trap*

The same type of lids used in the circular trap was used for its preparation. As it is colorless, the trap served

*B. impatiens*, clasificar niveles poblacionales de acuerdo con la captura de la plaga, e identificar los organismos asociados, incluyendo enemigos naturales.

## Materiales y métodos

La investigación se dividió en dos etapas. En la primera se evaluó el efecto de atracción de dos tipos de trampas amarillas y una incolora. Después de la selección de la mejor trampa, la segunda etapa consistió en comparar la captura de *B. impatiens* en cuatro viveros forestales para determinar niveles poblacionales de la especie.

### Primera etapa: Evaluación del efecto atrayente de trampas

En el vivero Atlangatepec, Tlaxcala, ubicado en las coordenadas  $19^{\circ} 32' 27.6''$  N y  $98^{\circ} 10' 48''$  O con elevación de 2 510 m, se produce maguey *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck. En 2022 se logró una meta de 500 000 plantas. Para su producción se utilizan charolas de plástico de 54 cavidades de 190 mL con sustrato de 25 % de corteza de pino, 25 % peat moss, 25 % perlita y 25 % vermiculita. Este vivero originalmente producía planta forestal; sin embargo, en la actualidad, en México existen muy pocos viveros en producción de planta forestal de clima templado, debido principalmente a programas productivos como 'Sembrando vida' que requiere planta con otras características; además, hubo un gran porcentaje de conversión de los viveros tecnificados a viveros con un sistema tradicional.

El vivero cuenta con módulos de producción con mesas metálicas de 1.47 m de ancho, 48.1 m de largo y 70 cm de alto. La capacidad es de 384 charolas por mesa y se aplica tezontle al suelo para evitar el crecimiento de maleza. La producción está protegida con malla sombra y plástico de invernadero. En el vivero también se produce agave mezcalero y árboles frutales como guayaba y granada.

### Tipos de trampas

#### *Trampa circular amarilla*

Se construyeron manualmente con tapas de plástico para recipientes comerciales. Las tapas miden 12.1 cm de diámetro con una superficie de  $114 \text{ cm}^2$ . Una tapa sirvió de fondo, se pintó con aerosol amarillo-seguridad acrílico, se secó y se cubrió con otra, pero sin el borde. La cubierta se impregnó con aceite de motor o pegamento comercial para insectos, cuya base es polibuteno y aromina. Las trampas se fijaron con grapas en un palo de madera. Posteriormente, las trampas con capturas se apilaron una sobre otra para su almacenaje y revisión posterior (Figura 1).



**Figure 1. Preparation procedure for circular traps for capturing *Bradysia impatiens* in forest nurseries.**

**Figura 1. Procedimiento de elaboración de trampas circulares para la captura de *Bradysia impatiens* en viveros forestales.**

as a control to assess the role of the yellow color as an attractant for the Dark Winged Fungus Gnat.

#### **Rectangular Trap (Flag paper trap)**

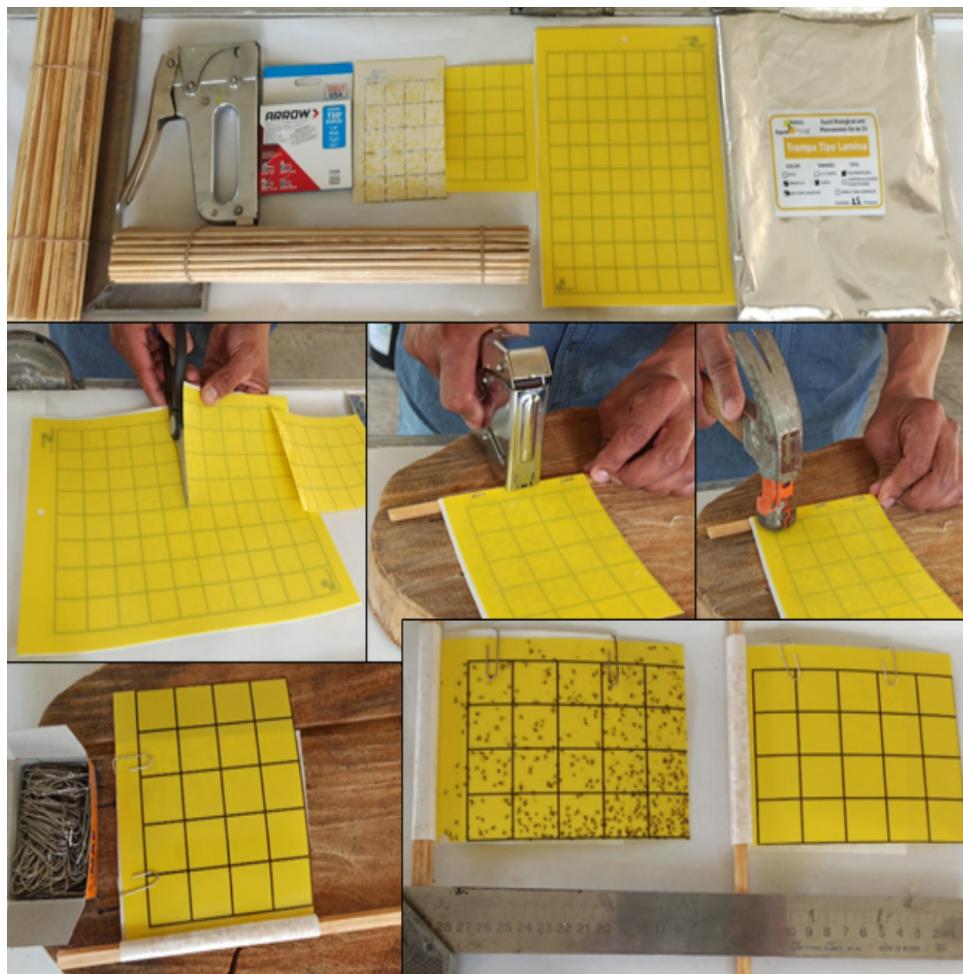
The trap is made of letter-sized polycarbonate (21.59 x 27.94 cm), available in stores selling insecticide products. It has adhesive on the yellow side, is reticulated with lines every 2.4 cm, and is covered with wax paper, allowing for easy peeling off and reattachment. To expedite trap handling, each sheet was cut into four sections, resulting in traps measuring 10.77 x 13.97 cm with an area of 150 cm<sup>2</sup>; each was stapled onto a stick of the required length according to the plant's height. For installation, the support stick was inserted into the seedling tubes, the wax paper was folded, and it was secured with paper clips. The trap has the advantage that the captured insects are protected when the wax paper is returned to its original position and fixed with the same clips. Insect counting was facilitated by the grid pattern (Figure 2).

#### **Trampa circular transparente**

Para su elaboración se utilizó el mismo tipo de tapas que en la trampa circular. Al ser incolora, la trampa se utilizó como testigo en relación con el factor del color amarillo como atrayente de mosco fungoso negro.

#### **Trampa rectangular (bandera)**

La trampa es de policarbonato tamaño carta (21.59 x 27.94 cm), disponible en las tiendas de productos insecticidas. La trampa tiene pegamento en el lado amarillo, es reticulada con líneas cada 2.4 cm y está cubierta con papel encerado, lo que permite despegar y volver a pegar con facilidad. Para propósitos de agilizar la manipulación de la trampa, cada hoja se cortó en cuatro secciones, lo que generó trampas de 10.77 x 13.97 cm con 150 cm<sup>2</sup> de área; cada una se engrapó en un palo de la longitud requerida según la altura de la planta. Para la instalación, el palo de soporte se insertó en los tubetes, se dobló el papel encerado y se fijó con



**Figure 2. Modification of the size and assembly of the rectangular trap to facilitate the counting of captured individuals of *Bradyzia impatiens*.**

**Figura 2. Modificación del tamaño y montaje de la trampa rectangular, para facilitar el conteo de individuos capturados de *Bradyzia impatiens*.**

### Installation of traps

The traps were installed on March 4, 2022, at a maximum height of 10 cm above the apex of the plants; subsequently, they were replaced for three consecutive weeks (March 10, 17, and 24).

The double yellow circular trap was installed with orientations facing south and north (type A and type B, respectively). These orientations were chosen because the main wind gusts come from these directions, which is an important factor in capturing flying arthropods. The transparent circular trap (control) and the yellow rectangular trap (fly paper trap) were placed facing south.

Thirty traps of each type were placed in the maguey beds with a systematic-random design; meaning, the order was chosen randomly, resulting in the placement of flag paper trap, yellow circular, and control. The traps were positioned at a height  $\leq 10$  cm from the

clips de oficina. La trampa tiene la ventaja de que la captura queda protegida al regresar el papel encerado a su posición original y fijarlo con los mismos clips. El conteo de insectos se facilitó por el reticulado (Figura 2).

### Instalación de las trampas

Las trampas se instalaron el 4 de marzo de 2022 a una altura máxima de 10 cm por encima del ápice de las plantas; posteriormente, se cambiaron durante tres semanas consecutivas (10, 17 y 24 de marzo).

La trampa circular amarilla doble se instaló con orientación hacia el sur y norte (tipo A y tipo B, respectivamente). Se eligieron dichas orientaciones porque de ellas provienen las principales rachas de viento, un factor importante en la captura de artrópodos voladores. La trampa circular transparente (testigo) y la trampa amarilla rectangular (trampa bandera) se ubicaron en orientación sur.

highest part of the plants (Figure 3), as *B. impatiens* exhibits a short-flight behavior and hops around the plants and trays (Wilkinson & Daugherty, 1970).

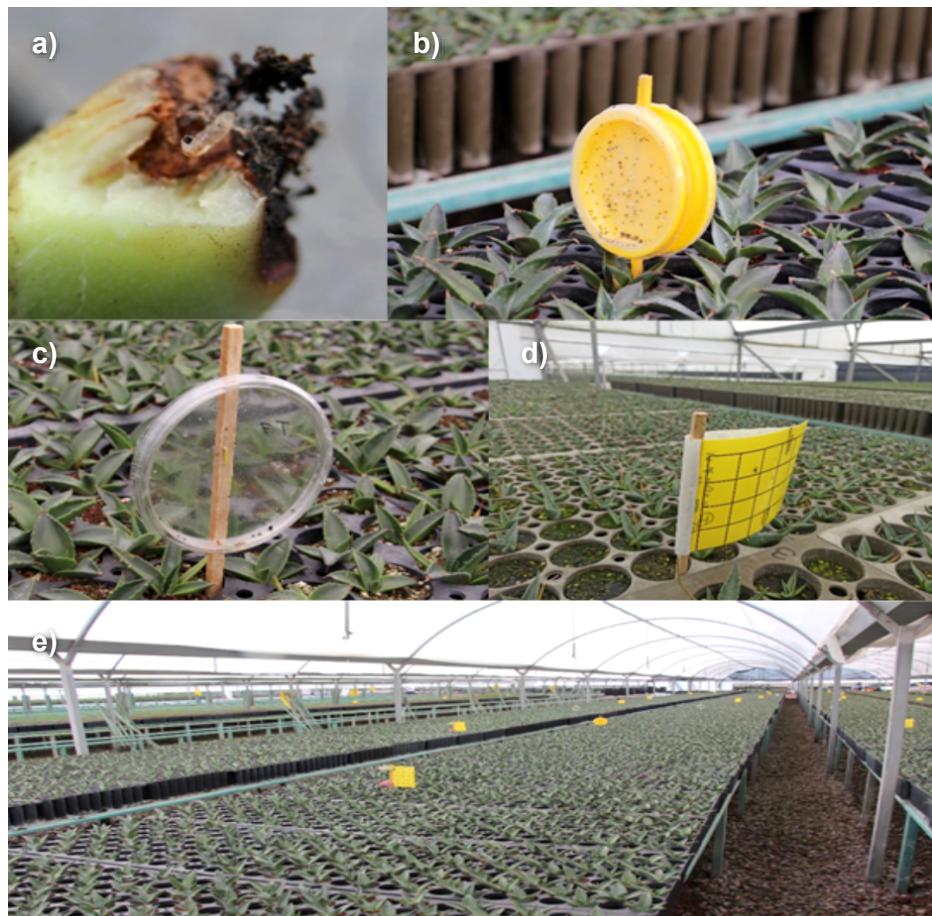
The traps were changed weekly (on three dates) and transported to the Forest Entomology Laboratory of the Division of Forest Sciences at the Universidad Autónoma Chapingo. The number of *B. impatiens* individuals (males and females separately) in each trap was counted using a Leica® stereoscopic microscope and a dissection needle. The species was morphologically identified based on the characteristics described by Villanueva-Sánchez et al. (2013) and Marín-Cruz et al. (2015) before counting. Associated organisms captured were also counted.

#### Detection of natural enemies of *Bradysia impatiens*

In March 2022, flies from the Muscidae family were detected. According to Bautista-Martínez et al. (2017), *Coenosia attenuata* Stein is a predator of *B. impatiens*. Therefore, from June 2 to June 9, 2023, 20 traps were

Se colocaron 30 trampas de cada tipo en las platabandas de maguey con un diseño al azar-sistématico; es decir, se eligió el orden de manera aleatoria, resultando trampa bandera, circular amarilla y testigo. Las trampas se colocaron a una altura  $\leq 10$  cm desde la parte más alta de las plantas (Figura 3), debido a que *B. impatiens* tiene un comportamiento de vuelo corto y salta alrededor de las plantas y charolas (Wilkinson & Daugherty, 1970).

Las trampas se cambiaron cada semana (tres fechas) y se transportaron al Laboratorio de Entomología Forestal de la División de Ciencias Forestales en la Universidad Autónoma Chapingo. El número de individuos de *B. impatiens* (machos y hembras por separado) en cada trampa se contó con ayuda del microscopio estereoscópico Leica® y aguja de disección. La especie se identificó morfológicamente con base en las características señaladas por Villanueva-Sánchez et al. (2013) y Marín-Cruz et al. (2015), antes del conteo. También se contabilizaron los organismos asociados que se capturaron.



**Figure 3. Atlangatepec Nursery, Tlaxcala.** a) Larva of *Bradysia* and damage on *Agave salmiana*, b) Yellow circular trap (north and south orientations), c) Control trap (south orientation), d) Flag paper trap (south orientation), e) Systematic arrangement of traps.  
**Figura 3. Vivero de Atlangatepec, Tlaxcala.** a) Larva de *Bradysia* y daños en *Agave salmiana*, b) Trampa circular amarilla (orientación norte y sur), c) Trampa testigo (orientación sur), d) Trampa bandera (orientación sur), e) Acomodo de trampas de manera sistemática.

installed in the nursery to verify the presence of this predator in Tlaxcala.

### Statistical Analysis

Primarily, the model was adjusted with Poisson regression to the count data, but evidence of overdispersion was found, as the variance was notably greater than the mean of the data. This limits the suitability of the Poisson model, which requires approximately equal mean and variance measures. This was corrected by using negative binomial regression with a link function, an alternative model that does not demand this criterion.

Counts of captured individuals of *B. impatiens* were analyzed by fitting generalized linear models using the R program (R Core Team, 2021). Specifically, negative binomial regression was used to model absolute counts, and negative binomial regression for rates was used to model the number of individuals captured per area ( $\text{cm}^2$ ). The corresponding link function for the negative binomial regression model is as follows:

$$\log(\mu_{ij}) = C + T_j$$

where,

$\mu_{ij}$  = expected average count of the  $i$ -th replication ( $i = 1, \dots, 30$ ) of the  $j$ -th type of trap

$C$  = constant

$T_j$  = effect of the  $j$ -th trap type ( $j = 1, 2, 3, 4$ )

For the negative binomial regression model for rates, the link function is:

$$\log\left(\frac{\mu_{ij}}{A_j}\right) = C^* + T_j^*$$

where,

$A_j$  = area ( $\text{cm}^2$ ) of the  $j$ -th trap type

$C^*$  = constant

$T_j^*$  = effect of the  $j$ -th trap type

The rate was considered as the total capture of *B. impatiens* divided by the area ( $\text{cm}^2$ ) of the traps. With this adjustment, the error due to differences in trap areas is reduced. To obtain the daily capture of *B. impatiens*, the weekly capture per trap was divided by the number of days, and the mean per trap type was calculated. Additionally, Tukey's mean comparison was performed to determine statistical differences between trap types with a confidence level of 95 % ( $P = 0.05$ ).

### Second stage: Comparison of population levels of *Bradysia impatiens*

Based on the results of the first stage, the flag paper trap was selected to determine the population level

### Detección de enemigos naturales de *Bradysia impatiens*

En marzo de 2022 se detectaron moscas de la familia Muscidae; de acuerdo con Bautista-Martínez et al. (2017), *Coenosia attenuata* Stein es depredadora de *B. impatiens*, por lo que del 2 al 9 de junio de 2023 se instalaron 20 trampas en el vivero para constatar la presencia de este depredador en Tlaxcala.

### Análisis estadístico

Primeramente, se ajustó el modelo con la regresión de Poisson a los datos de conteos, pero se encontró evidencia de sobre dispersión, al ser la varianza notablemente mayor que la media de los datos, lo cual limita la apropiabilidad del modelo Poisson que requiere dichas medidas aproximadamente iguales. Esto se corrigió utilizando regresión binomial negativa con función de enlace, un modelo alternativo que no demanda dicho criterio.

Los conteos de individuos capturados de *B. impatiens* se analizaron mediante el ajuste de modelos lineales generalizados con el programa R (R Core Team, 2021). Específicamente, se usó regresión binomial negativa para modelar los conteos absolutos y regresión binomial negativa para tasas para modelar el número de individuos capturados por área ( $\text{cm}^2$ ). La función de enlace correspondiente al modelo de regresión binomial negativa es la siguiente:

$$\log(\mu_{ij}) = C + T_j$$

donde,

$\mu_{ij}$  = conteo medio esperado de la  $i$ -ésima replicación ( $i = 1, \dots, 30$ ) del  $j$ -ésimo tipo de trampa

$C$  = constante

$T_j$  = efecto del  $j$ -ésimo tipo de trampa ( $j = 1, 2, 3, 4$ )

Para el modelo de regresión binomial negativa para tasas, la función de enlace es:

$$\log\left(\frac{\mu_{ij}}{A_j}\right) = C^* + T_j^*$$

donde,

$A_j$  = área ( $\text{cm}^2$ ) del  $j$ -ésimo tipo de trampa

$C^*$  = constante

$T_j^*$  = efecto del  $j$ -ésimo tipo de trampa

La tasa se consideró como la captura total de *B. impatiens* dividida entre el área ( $\text{cm}^2$ ) de las trampas. Con este ajuste se reduce el error por diferencia de áreas en los tipos de trampas. Para obtener la captura diaria de *B. impatiens* se dividió la captura semanal por trampa entre el número de días y se calculó la media por tipo de trampa. Adicionalmente, se realizó la comparación

of *B. impatiens* in two nurseries in Toluca ("Central" and "Invernadero") and two in Michoacán ("Morelos" and "Asociación de Silvicultores"). The traps were installed on March 31, 2022, in Toluca and on April 1, 2022, in Michoacán, resulting in two collection dates: April 21 and May 11 for the nurseries in Estado de México, and April 22 and May 12 for the nurseries in Michoacán. These nurseries produce plants of *Pinus montezumae* Lamb., *P. hartwegii* Lindl., *P. oocarpa* Schiede ex Schltdl., *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham., *P. pseudostrobus* Lindl. and *P. devoniana* Lindl., some of which are cespitose species highly susceptible to *B. impatiens* attack. However, the species was not considered a significant factor, as all those produced in these nurseries are hosts of the pest, as reported by Marín-Cruz et al. (2015, 2022).

In each nursery, 15 traps were installed for each date, totaling 120 traps evaluated in the four nurseries. These traps were transported to the laboratory, and the captures were counted using the methodology outlined in the first stage. Based on the results, population levels were proposed according to the phytosanitary condition of the nurseries.

### Statistical Analysis

A negative binomial regression model was fitted to the count data with the following link function:

$$\log(\mu_{ij}) = \alpha + V_j$$

where,

$\mu_{ij}$  = expected average count in the *i-th* trap (*i* = 1, ..., 30) of the *j-th* nursery

$\alpha$  = constant

$V_j$  = effect of the *j-th* nursery (*j* = 1, 2, 3, 4)

For the statistical analysis, data from both capture dates were used. To define population levels, the weekly capture was calculated by dividing the raw data by the number of weeks the traps were set up, assuming uniform weekly capture. The captures corresponded to three weeks of exposure; that is, six weeks of evaluation to obtain the two capture dates. Additionally, Tukey's test was applied to the means to identify statistical differences between nurseries ( $P = 0.05$ ).

### Associated Insects

For the first stage, insects were identified at the level of order, family, genus, or species based on their morphological characteristics, preservation condition, and complexity in the trap. For the second stage, organisms from other taxonomic classes within Arthropoda were included. Additionally, dipterans were collected using an entomological aspirator and

de medias de Tukey para determinar diferencias estadísticas entre tipos de trampa con una confiabilidad de 95 % ( $P = 0.05$ ).

### Segunda etapa: Comparación de niveles de población de *Bradysia impatiens*

Con base en los resultados de la primera etapa, la trampa bandera se seleccionó para determinar el nivel poblacional de *B. impatiens* en dos viveros de Toluca (central e invernadero) y otros dos en Michoacán (Morelos y Asociación de Silvicultores). Las trampas se instalaron el 31 de marzo de 2022 en Toluca y el 1 de abril de 2022 en Michoacán, obteniendo dos fechas de colecta: el 21 de abril y 11 de mayo para los viveros del Estado de México y el 22 de abril y 12 de mayo para los viveros de Michoacán. Estos viveros producen planta de *Pinus montezumae* Lamb., *P. hartwegii* Lindl., *P. oocarpa* Schiede ex Schltdl., *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham., *P. pseudostrobus* Lindl. y *P. devoniana* Lindl., algunas son especies cespitosas con fuerte atracción del ataque de *B. impatiens*; sin embargo, no se consideró a la especie como un factor importante, ya que todas las producidas en estos viveros son hospedantes de la plaga como lo reportan Marín-Cruz et al. (2015, 2022).

En cada vivero se instalaron 15 trampas por cada fecha, con un total de 120 trampas evaluadas en los cuatro viveros. Estas se trasladaron al laboratorio y las capturas se contaron con la metodología señalada en la primera etapa. Con base en los resultados se propusieron niveles poblacionales conforme a la condición fitosanitaria de los viveros.

### Análisis estadístico

Se ajustó un modelo de regresión binomial negativa a los datos de conteos con la siguiente función de enlace:

$$\log(\mu_{ij}) = \alpha + V_j$$

donde,

$\mu_{ij}$  = conteo medio esperado en la *i-ésima* trampa (*i* = 1, ..., 30) del *j-ésimo* vivero

$\alpha$  = constante

$V_j$  = efecto del *j-ésimo* vivero (*j* = 1, 2, 3, 4)

Para el análisis estadístico se utilizaron los datos de las dos fechas de captura y para definir los niveles poblacionales se calculó la captura semanal dividiendo los datos brutos entre el número de semanas que estuvieron establecidas las trampas, suponiendo que la captura semanal es uniforme. Las capturas correspondieron a tres semanas de exposición; es decir, seis semanas de evaluación para obtener las dos fechas de captura. Adicionalmente, a las medias se les aplicó la prueba de Tukey para identificar diferencias estadísticas entre los viveros ( $P = 0.05$ ).

morphologically identified in the laboratory of the Institute of Epidemiological Diagnosis and Reference (InDRE).

## Results

### First Stage: Comparison of the Attractiveness Effect of Traps

The number of captured individuals of *B. impatiens* (Figure 4) and other dipterans of similar size and coloration were recorded. Statistical analysis focused on *B. impatiens* with a capture percentage of 67.05 % of the total organisms. Of the total pest population, 40.01 % was captured with the flag paper trap, 42.17 % with the yellow circular trap (24.89 % with type B [north orientation] and 22.28% with type A [south orientation]), and 12.80% with the control trap (uncolored circular trap).

According to Table 1, statistical analysis determined differences in capture between the sticky yellow traps

## Insectos asociados

Para la primera etapa, los insectos se identificaron a nivel de orden, familia, género o especie según sus características morfológicas, condición de conservación y complejidad en la trampa. Para la segunda etapa se incluyeron organismos de otras clases taxonómicas dentro de Arthropoda. Además, se colectaron los dípteros con un aspirador entomológico y se identificaron morfológicamente en el laboratorio del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE).

## Resultados

### Primera etapa: Comparación del efecto atrayente de las trampas

Se registró el número de individuos capturados de *B. impatiens* (Figura 4) y de otros dípteros de tamaño y coloración similar. El análisis estadístico se centró en *B. impatiens* con un porcentaje de captura de 67.05 % del

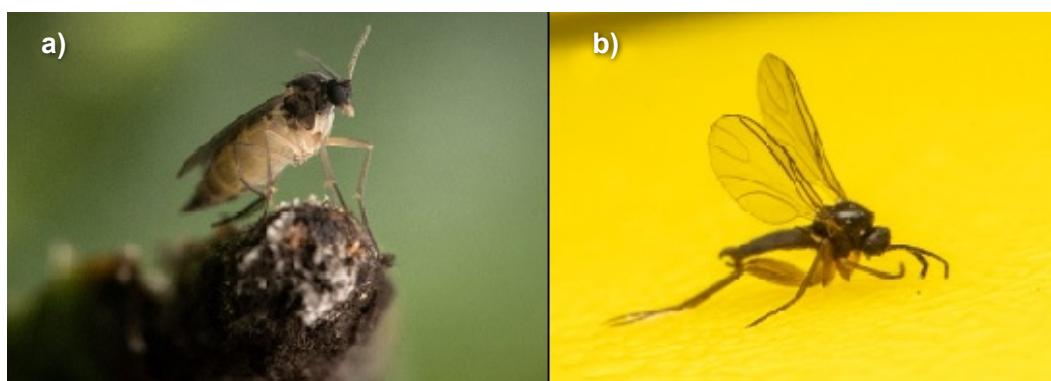


Figura 4. *Bradysia impatiens*. a) Female at the base of *Agave salmiana*, b) Male captured with flag paper trap.

Figura 4. *Bradysia impatiens*. a) Hembra en el cuello de la raíz de *Agave salmiana*, b) Macho capturado en trampa bandera.

Table 1. Comparison of mean captures of *Bradysia impatiens* using different types of sticky traps over a three-week evaluation period.  
Cuadro 1. Comparación de medias de captura de *Bradysia impatiens* por tipo de trampa pegajosa en tres semanas de evaluación.

Type of traps/ Tipo de trampa	Weekly captures per trap / Captura semanal por trampa	Average daily captures per trap / Captura media diaria por trampa	Total capture of <i>B. impatiens</i> / Captura total de <i>B. impatiens</i>	Total number of insects / Total de insectos
Rectangular yellow (flag paper trap)/ Rectangular amarilla (bandera)	160.60 ± 12.11 a	22.94	14 454	21 012
Circular yellow (B) <sup>1</sup> / Circular amarilla (B) <sup>1</sup>	97.11 ± 8.43 b	13.87	8 740	13 016
Circular yellow (A) <sup>1</sup> / Circular amarilla (A) <sup>1</sup>	79.48 ± 6.91 b	11.35	7 153	11 651
Circular transparent (control)/ Circular transparente (testigo)	52.33 ± 5.64 c	7.47	4 710	6 694

<sup>1</sup>North (B) and south (A) orientations. Means ± standard error with different letters indicate a statistically significant difference according to Tukey's test ( $P = 0.05$ ).

<sup>1</sup>Orientaciones norte (B) y sur (A). Medias ± error estándar con letras diferentes implican diferencia estadística significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P = 0.05$ ).

and the control trap; the flag paper trap captured a significantly greater number of insects ( $P = 0.05$ ). On the other hand, the orientation of the traps (north and south) had no effect, as the capture was similar in both orientations ( $P = 0.3046$ ). The total number of *B. impatiens* represents the cumulative capture over the three weeks; similarly, the total represents the cumulative number of captured organisms.

#### **Second Stage: Comparison of *Bradysia impatiens* Population Levels**

Table 2 indicates that the population levels in the nurseries of Estado de México ("Invernadero" and "Central") differ from those in Michoacán ("Morelos" and "Asociación de Silvicultores"). Specifically, the "Central" nursery had the highest number of captured fungus gnats, whereas the nurseries in Michoacán had lower counts with no significant differences between them. The average capture per trap reflects the tool's efficacy and varies according to the nursery; the "Central" nursery had the highest average (209 adults over three weeks of evaluation).

On each collection date, the daily capture of *B. impatiens* (Table 2) was obtained by dividing the three-week capture by the number of days the traps were exposed, and then calculating the average for the two evaluation dates (six weeks in total).

#### **Population Levels of *Bradysia impatiens***

Population levels were identified as low (<30 adults per week), moderate (30 to 60 adults per week), and high (>60 adults per week). These levels were not associated with economic damage but should be further evaluated in a study relating them to plant damage or mortality (Figure 5).

total de organismos. Del total de la plaga, 40.01 % se capturó con la trampa bandera, 42.17 % con la trampa circular amarilla (24.89 % con la B [orientación norte] y 22.28 % con la A [exposición sur]) y 12.80 % con la trampa testigo (circular sin color).

De acuerdo con el Cuadro 1, el análisis estadístico determinó diferencias de captura entre las trampas amarillas pegajosas y la testigo; la trampa bandera capturó una cantidad significativamente mayor de insectos ( $P = 0.05$ ). Por otra parte, la orientación de las trampas (norte y sur) no tuvo efecto, ya que la captura fue similar en norte y sur ( $P = 0.3046$ ). El total de *B. impatiens* fue la captura acumulada en las tres semanas; de igual manera, el total representa el acumulado de organismos capturados.

#### **Segunda etapa: Comparación de niveles de población de *Bradysia impatiens***

El Cuadro 2 señala que los niveles de población en los viveros del Estado de México (Invernadero y Central) son diferentes a los de Michoacán (Morelos y Asociación de Silvicultores); particularmente, el vivero Central tuvo mayor cantidad de mosco fungoso negro capturado, mientras que en los viveros de Michoacán fue menor sin diferencias entre estos. La captura media por trampa refleja la capacidad de la herramienta y varía de acuerdo con el vivero; en el vivero Central se obtuvo la media superior (209 adultos en tres semanas de evaluación).

En cada fecha de colecta, la captura diaria de *B. impatiens* (Cuadro 2) se obtuvo mediante la captura de tres semanas dividida entre el número de días de exposición de las trampas, para después calcular la media de las dos fechas evaluadas (seis semanas en total).

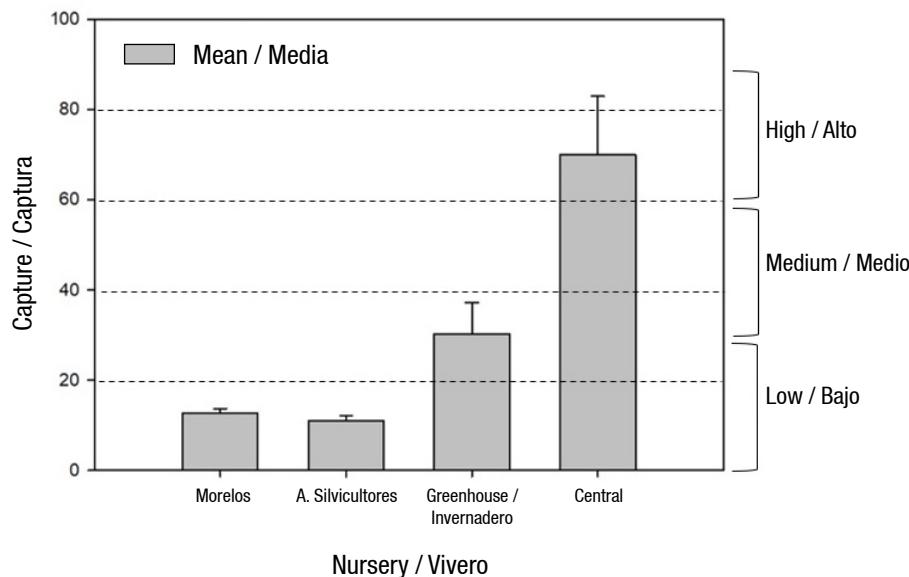
**Table 2. Capture of *Bradysia impatiens* by nursery. Data from 30 traps divided into two collection dates, with 15 traps each for three weeks.**

**Cuadro 2. Captura de *Bradysia impatiens* por vivero. Datos de 30 trampas divididas en dos cambios (fechas de colecta) de 15 trampas cada tres semanas.**

Nursery / Vivero	Capture per trap / Captura por trampa	Average daily captures per trap / Captura media diaria por trampa	Total capture of <i>B. impatiens</i> / Captura total de <i>B. impatiens</i>	Total number of insects / Total de insectos
Central	209.86 ± 38.93 a	10	6 296	11 532
Invernadero	90.90 ± 20.92 b	4	2 727	11 274
Morelos	38.26 ± 2.75 c	2	1 148	2 301
Asociación de Silvicultores	32.96 ± 3.44 c	2	989	2 635

<sup>1</sup>Means ± standard error with different letters indicate a statistically significant difference according to Tukey's test ( $P = 0.05$ ).

<sup>2</sup>Medias ± error estándar con letras distintas muestran diferencia estadísticamente significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P = 0.05$ ).



**Figure 5. Population levels of *Bradysia impatiens* in the nurseries sampled with flag paper trap in Estado de México (Invernadero and Central) and Michoacán (Morelos and Asociación de Silvicultores). The levels low, medium, and high represent the degree of infestation.**

**Figura 5. Niveles poblacionales de *Bradysia impatiens* en los viveros muestreados con la trampa bandera en el Estado de México (Invernadero y Central) y Michoacán (Morelos y Asociación de Silvicultores). Los niveles bajo, medio y alto representan el grado de infestación.**

#### Associated insects

In the first stage, dipterans from several families were captured, such as: Muscidae (Hunter fly *C. attenuata*), Ceratopogonidae (*Dasyhelea* sp.), Chironomidae, Psychodidae, Ephydriidae and Syrphidae. In the second stage, individuals of other insects (Hymenoptera, Hemiptera, Coleoptera, and Arachnids) were captured, some unrelated to the fungus gnat, but in the Central nursery, individuals from the families Muscidae (*C. attenuata*), Psychodidae, and Ceratopogonidae (*Dasyhelea* sp.) were also found.

From the above, *C. attenuata* is the only species with economic importance (Figure 6) as a predator of *B. impatiens*. Moreover, *Kleidotoma* sp. (Hymenoptera: Figitidae) was captured, which is reported as a parasitoid of *B. impatiens* and other dipterans, including *C. attenuata* (Buffington et al., 2020). In the process of detecting natural enemies, it was observed that, out of the total insects (6 327) captured, the flag paper trap captured 1.78 % of *C. attenuata* (113), 11.49 % (727) of *Kleidotoma* sp., and 68.92 % (4 361) of *B. impatiens*.

#### *Coenosia attenuata* (Muscidae)

It is a small, light gray fly. Males are smaller than females. The legs are yellowish in males and grayish in females. The abdomen is uniformly light gray in males

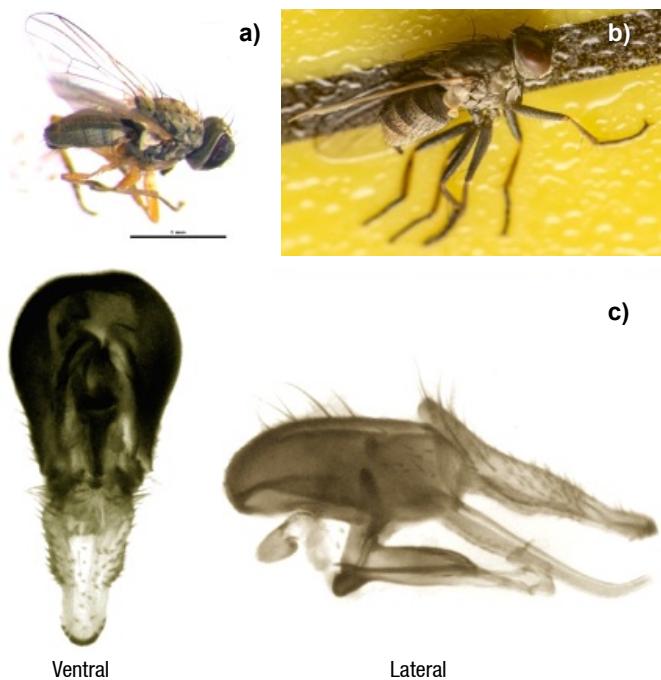
#### Niveles poblacionales de *Bradysia impatiens*

Se identificaron niveles poblacionales bajos (<30 adultos por semana), medios (30 a 60 adultos por semana) y altos (>60 adultos por semana). Estos no se asociaron con daños económicos, pero deben ser ajustados en un estudio posterior que los relacione con daños o mortalidad de planta (Figura 5).

#### Insectos asociados

En la primera etapa se capturaron dípteros de varias familias, tales como: Muscidae (mosca cazadora *C. attenuata*), Ceratopogonidae (*Dasyhelea* sp.), Chironomidae, Psychodidae, Ephydriidae y Syrphidae. En la segunda etapa se capturaron individuos de otros insectos (Himenópteros, Hemípteros, Coleópteros y Arácnidos), algunos sin relación con el mosquito fungoso, pero en el vivero Central se encontraron también individuos de las familias Muscidae (*C. attenuata*), Psychodidae y Ceratopogonidae (*Dasyhelea* sp.).

De los anteriores, *C. attenuata* es la única especie de importancia forestal (Figura 6) como depredador de *B. impatiens*. Adicionalmente, se capturó a *Kleidotoma* sp. (Hymenoptera: Figitidae), la cual es reportada como parasitoide de *B. impatiens* y de otros dípteros, incluyendo a *C. attenuata* (Buffington et al., 2020). En la detección de enemigos naturales se observó que, del



**Figure 6. *Coenosia attenuata*. a) Adult male, b) Female and c) Male genitalia in ventral and lateral view.**

**Figura 6. *Coenosia attenuata*. a) Adulto macho, b) Hembra y c) Genitalia de macho en vista ventral y lateral.**

and has some darker spots in females (Figure 6), and the abdomen has three distinctive transverse black stripes (Kaldor et al., 2022). Bautista-Martínez et al. (2017) reported it for the first time in Mexico, preying on fungus gnats and other pests in Zapopan, Jalisco. The present study is the first report in Tlaxcala and Estado de México, and the second at the national level.

#### Dasyhelea sp. (Ceratopogonidae)

The biting midges of this genus were identified by M.C. Heron Huerta Jiménez, a Diptera taxonomist at InDRE (Figure 7A). The species belongs to a group with diverse morphology and biology, and they have a cosmopolitan distribution; however, they are not of forest importance (Lu et al., 2020).

#### Psychodidae

This family exhibits a great variety of feeding habits, some are saprophytes and mycophagous (Figure 7B). Females are occasionally hematophagous, which causes health problems for humans as they are disease vectors, thus they do not have forest importance (Vivero-Gómez et al., 2013).

#### Chironomidae

They are insects with a wide distribution in bodies of water (Figure 7C), feeding on organic matter and sometimes considered indicators of water contamination (Oviedo-Machado & Reinoso-Flórez, 2018).

total de insectos (6 327), la trampa bandera capturó 1.78 % de *C. attenuata* (113), 11.49 % (727) de *Kleidotoma* sp. y 68.92 % (4 361) de *B. impatiens*.

#### *Coenosia attenuata* (Muscidae)

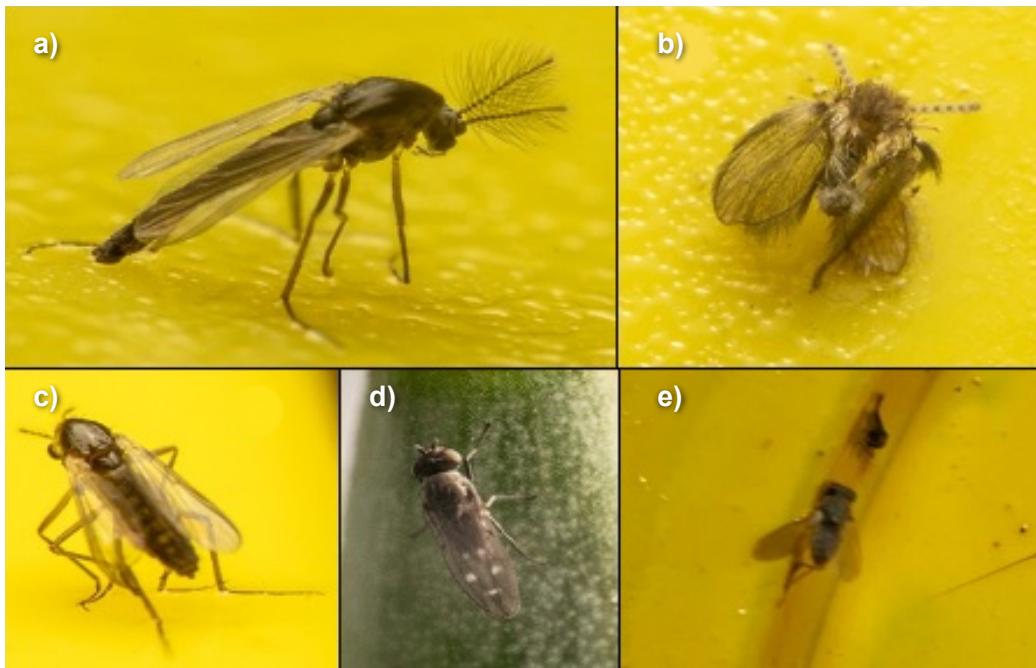
Es una mosca pequeña de color gris claro. Los machos son más pequeños que las hembras. Las patas son amarillentas en los machos y grisáceas en hembras. El abdomen es uniformemente gris claro en los machos y presenta algunas manchas más oscuras en las hembras (Figura 6) y el abdomen tiene tres rayas negras transversales distintivas (Kaldor et al., 2022). Bautista-Martínez et al. (2017) la reportó por primera vez en México depredando moscos fungosos y otras plagas en Zapopan, Jalisco. El presente estudio es el primer reporte en Tlaxcala y Estado de México, y el segundo a nivel nacional.

#### Dasyhelea sp. (Ceratopogonidae)

Los mosquitos picadores de este género se identificaron por el M. C. Heron Huerta Jiménez, taxónomo de Diptera del IndRE (Figura 7A). La especie pertenece a un grupo con morfología y biología diversas, tienen distribución cosmopolita; sin embargo, no son de importancia forestal (Lu et al., 2020).

#### Psychodidae

Esta familia presenta gran variedad de hábitos alimenticios, algunos son saprófitos y micófagos (Figura 7B). Las hembras en ocasiones son hematófagas,



**Figure 7.** Other dipterans captured using yellow sticky traps. a) *Dasyhelea* sp. (Ceratopogonidae), b) Psychodidae, c) Chironomidae, d) Ephydriidae and e) Syrphidae.

**Figura 7.** Otros dípteros capturados en las trampas amarillas pegajosas. a) *Dasyhelea* sp. (Ceratopogonidae), b) Psychodidae, c) Chironomidae, d) Ephydriidae y e) Syrphidae.

### Ephydriidae

They are a diverse and widely distributed family (Figure 7D). Although they are not significant in forestry, some species are considered agricultural pests (Mathis et al., 2016).

### Syrphidae

It is a diverse family found in various habitats (Figure 7E). The subfamily Syrphinae has a large number of species that prey on hemipterans, such as Aphididae, Coccidae, and Aleyrodidae (Arcaya-Sánchez et al., 2017).

### *Kleidotoma* sp.

The females (Figure 8) actively seek dipteran larvae in environments such as animal feces and decomposing organic matter. Therefore, there is a high probability of *Kleidotoma* sp. parasitizing larvae of *B. impatiens* (Fontal & Nieves-Aldrey, 2004); however, the hosts of most species are unknown. While it can play an important role as a parasitoid of the pest, it has also been reported as a parasite of *C. attenuata* (Buffington et al., 2020).

### General capture of flag paper trap

In the “Atlangatepec” nursery, the average capture of *B. impatiens* using flag paper trap was 68.78 % (14 454 adults out of a total capture of 21 012 organisms) over three weeks (30 traps per date, with a total of 90 traps). In the

lo que trae problemas de salud al ser humano al ser transmisores de enfermedades, por lo que no tiene importancia forestal (Vivero-Gómez et al., 2013).

### Chironomidae

Son insectos de distribución amplia en cuerpos de agua (Figura 7C), se alimentan de materia orgánica y en ocasiones son considerados indicadores de contaminación acuática (Oviedo-Machado & Reinoso-Flórez, 2018).

### Ephydriidae

Son una familia diversa y ampliamente distribuida (Figura 7D), no tienen importancia forestal, pero algunas especies son consideradas plagas agrícolas (Mathis et al., 2016).

### Syrphidae

Es una familia diversa con presencia en varios hábitats (Figura 7E). La subfamilia Syrphinae posee gran número de especies depredadoras de hemípteros, tales como Aphididae, Coccidae y Aleyrodidae (Arcaya-Sánchez et al., 2017).

### *Kleidotoma* sp.

Las hembras (Figura 8) buscan activamente larvas de dípteros en ambientes como las heces de animales y



**Figure 8. Male of Kleidotoma sp. (Hymenoptera: Figitidae). Photograph and identification: U. M. Barrera-Ruiz.**  
**Figura 8. Macho de Kleidotoma sp. (Hymenoptera: Figitidae). Fotografía e identificación: U. M. Barrera-Ruiz.**

“Morelos” nursery, the average capture of *B. impatiens* was 49.89 % (1 148 out of 2 301), and in the nursery “Asociación de Silvicultores”, it was 37.53 % (989 out of 2 635). In the “Central” and “Invernadero” nurseries, it was 54.59 % (6 296 out of 11 532) and 24.18 % (2 727 out of 11 274), respectively. These percentages correspond to six accumulated weeks (30 traps per nursery) over the two collection dates.

The flag paper trap captured, on average per day, 14 males and 11 females in Atlangatepec; one male and one female in the Morelos and Asociación de Silvicultores nurseries; seven males and three females in the central nursery; and three males and one female in the Invernadero nursery.

## Discussion

In the transparent traps, there was lower capture than in the yellow ones, indicating the influence of this color as an attractant for adult *B. impatiens*, which is consistent with findings by An et al. (2019), Atakan and Pehlivan (2015), Murtaza et al. (2019), Prema et al. (2018), and Allan et al. (2020).

In the comparison of trap types, one of the factors considered was orientation. In the study area (Atlangatepec, Tlaxcala), the main wind gusts come from the south and north. Therefore, yellow circular traps (A and B) were chosen for placement; however, wind predominantly occurred from south to north, so flag paper and control traps were placed facing south. The results did not show statistical differences between orientations, although numerically, there was higher capture in the north-facing trap. This could be due to the wind possibly repelling the presence of *B. impatiens*, as indicated by Wilkinson and Daugherty (1970) that adults have weak flight. Based on these results, it is

materia orgánica en descomposición, por lo que hay una alta probabilidad de que de que *Kleidotoma* sp. parasite larvas de *B. impatiens* (Fontal & Nieves-Aldrey, 2004); sin embargo, de la mayoría de las especies no se conocen los hospedantes. Aunque puede jugar un papel importante como parasitoide de la plaga, también se ha reportado como parásito de *C. attenuata* (Buffington et al., 2020).

## Captura general de la trampa bandera

En el vivero Atlangatepec, la captura media de *B. impatiens* en la trampa bandera fue de 68.78 % (14 454 adultos de una captura de 21 012 organismos totales) en las tres semanas (30 trampas por fecha, con un acumulado de 90 trampas). En el vivero Morelos, la captura media de *B. impatiens* fue 49.89 % (1 148 de 2 301) y en el vivero de la Asociación de Silvicultores fue 37.53 % (989 de 2 635); en los viveros Central e Invernadero fue de 54.59 % (6 296 de 11 532) y 24.18 % (2 727 de 11 274), respectivamente; los porcentajes corresponden a seis semanas acumuladas (30 trampas por vivero) en las dos fechas de colecta.

La trampa bandera capturó, en promedio diario, 14 machos y 11 hembras en Atlangatepec; un macho y una hembra en los viveros Morelos y Asociación de Silvicultores; siete machos y tres hembras en el vivero Central; y tres machos y una hembra en el vivero Invernadero.

## Discusión

En las trampas transparentes hubo menor captura que en las amarillas, situación que evidenció la influencia de este color como atrayente de los adultos de *B. impatiens*, lo cual concuerda con lo mencionado por An et al. (2019), Atakan y Pehlivan (2015), Murtaza et al. (2019), Prema et al. (2018) y Allan et al. (2020).

recommended to place traps in orientations where there is not excessive wind for species monitoring.

The study used relatively small circular ( $114 \text{ cm}^2$ ) and rectangular ( $150 \text{ cm}^2$ ) traps. Despite their size, when there were higher insect captures, counting became challenging, so samples were taken from the surfaces. For the circular trap, pie-shaped sections were sampled, and for the rectangular ones, rows from the grid were taken. Generally, in other studies, monitoring traps are large and difficult to evaluate, and in some cases, they are similar in size to those tested in this study. Sun et al. (2017) suggest using artificial vision algorithms, which allow for automatic counting and classification of insects to optimize time. However, this technology requires extensive training, so manual counting remains the most common method for evaluating yellow sticky traps.

The population levels classified as low, medium, and high were chosen arbitrarily based on the phytosanitary condition of the nurseries, so they are reference values that can be adjusted with the quantification of damage by *B. impatiens* and the costs of control measures. These levels could be used as a basis for making decisions about the population size of the pest. With this estimation, it is suggested to initiate preventive activities when the population level reaches the medium level, such as: management of ambient humidity and substrate; removal of the circular moss cover generated on the substrate surface, commonly called ‘cookie’, as it is a conducive space for larvae to proliferate; and the application of control methods as indicated by the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC, 2024).

The spread of *B. impatiens* in the country may be facilitated by the transport of infested plants (Marín-Cruz et al., 2022), which in turn leads to the movement of *C. attenuata*. This species has now been found in Estado de México and Tlaxcala. According to Zou et al. (2021), *C. attenuata* can consume 12 to 24 adults of *B. impatiens* per day. However, *Kleidotoma* sp. has the potential to parasitize many dipteran species and may even be reducing the population of the predatory fly *C. attenuata*, thus reducing its predatory effectiveness (Buffington et al., 2020).

The flies *Dasyhelea* sp. and those from the families Chironomidae and Ephydriidae were captured using yellow sticky traps. The resemblance of these flies in size, color, and shape to *B. impatiens* can confuse nursery workers when counting captures, highlighting the need for training nursery staff in the identification of adults. Moreover, flies from the families Psychodidae and Syrphidae can also confuse evaluators and lead to incorrect decisions (Arcaya-Sánchez et al., 2017; Vivero-Gómez et al., 2013).

En la comparación de tipo de trampas, uno de los factores que se consideró fue la orientación, debido a que, en la zona de estudio (Atlangatepec, Tlaxcala), las principales rachas de viento provienen del sur y norte, por ello se eligieron para la disposición de la trampa circular amarilla (A y B); sin embargo, el viento se presentó con mayor frecuencia e intensidad de sur a norte, por lo que se decidió colocar las trampas bandera y testigo hacia la orientación sur. Los resultados no mostraron diferencias estadísticas entre las orientaciones, aunque, numéricamente, hubo mayor captura en la trampa norte. Esto debido posiblemente a que el viento tuvo la función de repeler la presencia de *B. impatiens*, pues como señala Wilkinson y Daugherty (1970), el vuelo de los adultos es débil. Con base en estos resultados, se recomienda la colocación de las trampas en orientaciones donde no haya viento excesivo para el monitoreo de la especie.

En el estudio se utilizaron trampas de tamaños relativamente pequeños en forma circular ( $114 \text{ cm}^2$ ) y rectangular ( $150 \text{ cm}^2$ ). A pesar de ello, cuando se tuvieron capturas mayores de insectos, el conteo resultó complicado, por lo que se tomaron muestras de las superficies; en el caso de la trampa circular, secciones en forma de pastel, y en el caso de las rectangulares, hileras del reticulado. Generalmente, en otros estudios, las trampas para monitoreo son grandes y de evaluación difícil, y en algunos casos son similares a los tamaños probados en este estudio. Sun et al. (2017) sugieren el uso de algoritmos de visión artificial, los cuales permiten contar y clasificar a los insectos de manera automática para optimizar el tiempo; sin embargo, esta tecnología necesita mucha capacitación, por lo que el conteo manual sigue siendo la forma más utilizada para evaluar las trampas amarillas pegajosas.

Los niveles poblacionales clasificados como bajo, medio y alto se eligieron de manera arbitraria con base en la condición fitosanitaria de los viveros, por lo que son valores de referencia que pueden ser ajustados con la cuantificación de daños por *B. impatiens* y con los costos de combate. Dichos niveles podrían ser usados como base para tomar decisiones sobre el tamaño poblacional de la plaga. Con esta estimación se sugiere el inicio de actividades preventivas cuando el nivel poblacional alcanza el nivel medio, tales como: manejo de la humedad ambiental y del sustrato; eliminación de la cubierta circular de musgo generada en la superficie del sustrato, llamada comúnmente ‘galleta’, ya que es un espacio propicio para que las larvas proliferen; y la aplicación de métodos de combate conforme lo indica el Comité de Acción contra la Resistencia a los Insecticidas (IRAC, 2024).

Es posible que el desplazamiento de *B. impatiens* en el país se facilite con el transporte de planta infestada (Marín-Cruz et al., 2022) que, a su vez, trae consigo

## Conclusions

The flag paper trap can be useful for monitoring the dark-winged fungus gnat *Bradysia impatiens* in forest nurseries, as it captures more adults than circular traps. Population levels need to be precisely determined in future studies to establish the economic threshold of the pest based on control costs and damage quantification. The predatory fly *C. attenuata*, which preys on *B. impatiens*, has a low capture rate (1.78 %), indicating that the traps are not a threat to their populations. The capture of associated organisms is significant compared to *B. impatiens*, and due to their similar appearance and size, they can be easily confused. An integrated pest management plan for *B. impatiens* is necessary, incorporating the flag paper trap and the predator *C. attenuata* as biological control. Additionally, *Kleidotoma* sp. should be studied to identify its potential as a parasitoid of both the pest and *C. attenuata*.

## Acknowledgments

We extend our gratitude to project A-S-67865 of Fund 003 from CONAHCYT (formerly the Fondo Sectorial CONAFOR-CONACYT) "Monitoring, damage assessment, preventive management, and control of the dryer and root rot caused by *Fusarium* spp. and the fungus gnats *Bradysia* and *Lycoriella*" for providing the funding for this research.

*End of English version*

## References / Referencias

- Allan, S. A., George, J., Stelinski, L. L., & Lapointe, S. L. (2020). Attributes of yellow traps affecting attraction of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Insects*, 11(7), 452. <https://doi.org/10.3390/insects11070452>
- An, L., Yang, X., Lunau, K., Fan, F., Li, M., & Wei, G. (2019). High innate preference of black substrate in the chive gnat, *Bradysia odoriphaga* (Diptera: Sciaridae). *PLoS ONE*, 14(5), e0210379. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210379>
- Arcaya-Sánchez, E. A., Mengual, X., & Rojo, S. (2017). Especies de Syrphidae (Insecta: Diptera) del Parque Universitario de la UCLA, Estado Lara, Venezuela. *Investigación Agraria*, 19(2), 112–119. <https://doi.org/10.18004/investig.agrar.2017.diciembre.112-119>
- Atakan, E., & Pehlivan, S. (2015). Attractiveness of various colored sticky traps to some pollinating insects in apple. *Turkish Journal of Zoology*, 39(3), 474 – 481. <https://doi.org/10.3906/zoo-1403-62>
- Barrera, J. F., Montoya, P., & Rojas, J. (2006). Bases para la aplicación de sistemas de trampas y atrayentes en manejo integrado de plagas. In J. F. Barrera, & P. Montoya (Eds.), *Trampas y*

el movimiento de *C. attenuata*, especie que ahora se encontró en el Estado de México y Tlaxcala. Zou et al. (2021) reportan que *C. attenuata* es capaz de ingerir desde 12 a 24 adultos de *B. impatiens* por día. Por otro lado, *Kleidotoma* sp. tiene el potencial de parasitar a muchas especies de dípteros, incluso puede estar mermando la población de la mosca cazadora *C. attenuata*, reduciendo su capacidad depredadora (Buffington et al., 2020).

La mosca *Dasyhelea* sp. y las de Chironomidae y Ephydriidae se capturaron en las trampas amarillas pegajosas. El parecido de estas moscas en tamaño, color y forma con *B. impatiens* puede confundir al viverista al momento de contar la captura, por lo que es necesaria la capacitación del personal de los viveros en la identificación de los adultos; incluso, las de Psychodidae y Syrphidae pueden confundir al evaluador y conducirlo a decisiones equivocadas (Arcaya-Sánchez et al., 2017; Vivero-Gómez et al., 2013).

## Conclusiones

La trampa bandera puede ser útil para el monitoreo del mosco fungoso negro *Bradysia impatiens* en viveros forestales, ya que captura mayor cantidad de adultos que las trampas circulares. Los niveles poblacionales deben ser precisados en estudios posteriores para determinar el umbral económico de la plaga con base en los costos de combate y cuantificación de daños. La mosca *C. attenuata*, depredadora de *B. impatiens*, tiene porcentaje bajo de captura (1.78 %), por lo que las trampas no representan amenaza para sus poblaciones. La captura de organismos asociados es considerable con respecto a *B. impatiens* y, debido a su apariencia y tamaño similares, pueden confundirse fácilmente. Es necesario un plan de manejo integrado de plagas para *B. impatiens*, que incluya la trampa bandera y el depredador *C. attenuata* como control biológico; además, se debe estudiar a *Kleidotoma* sp. para identificar su potencial como parasitoide de la plaga y de *C. attenuata*.

## Agradecimientos

Al proyecto A-S-67865 del Fondo 003 del CONAHCYT (anteriormente Fondo Sectorial CONAFOR-CONACYT) "Monitoreo, evaluación de daños, manejo preventivo y control de la secadora y pudrición de raíz causados por *Fusarium* spp. y las moscas fungosas *Bradysia* y *Lycoriella*" por el financiamiento para la investigación.

*Fin de la versión en español*

- atrayentes en detección, monitoreo y control de plagas de importancia económica (pp. 1–16). Sociedad Mexicana de Entomología-Colegio de la Frontera Sur. [https://www.researchgate.net/publication/237736490\\_Bases\\_para\\_la\\_aplicacion\\_de\\_sistemas\\_de\\_trampas\\_y\\_atrayentes\\_en\\_manejo\\_integrado\\_de\\_plagas](https://www.researchgate.net/publication/237736490_Bases_para_la_aplicacion_de_sistemas_de_trampas_y_atrayentes_en_manejo_integrado_de_plagas)
- Bautista-Martínez, N., Illescas-Riquelme, C. P., & García-Ávila, C. J. (2017). First report of “Hunter-Fly” *Coenosia attenuata* (Diptera: Muscidae) in Mexico. *Florida Entomologist*, 100(1), 174–175. <https://doi.org/10.1653/024.100.0126>
- Bravo-Portocarrero, R., Zela, K., & Lima-Medina, I. (2020). Eficiencia de trampas pegantes de colores en la captura de insectos de hortalizas de hoja. *Scientia Agropecuaria*, 11(1), 61–66. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.01.07>
- Buffington, M. L., Forshage, M., Liljeblad, J., Tang, C., & van Noort, S. (2020). World Cynipoidea (Hymenoptera): A key to higher-level groups. *Insect Systematics and Diversity*, 4(4), 1–69. <https://doi.org/10.1093/isd/ixaa003>
- Fontal, F., & Nieves-Aldrey, J. L. (2004). Estudio comparado de diversidad de Eucoilinos paleárticos (El Ventorrillo, España) y neotropicales (P. N. Coiba, Panamá) (Hymenoptera, Cynipoidea, Figitidae, Eucoilinae). *Boletín de la S. E. A.*, (35), 51–101. <https://core.ac.uk/download/pdf/36068323.pdf>
- García-Díaz, S. E., Aldrete, A., Alvarado-Rosales, D., Cibrián-Tovar, D., Méndez-Montiel, J. T., Valdovinos-Ponce, G., & Equíhuam-Martínez, A. (2017). Efecto de *Fusarium circinatum* en la germinación y crecimiento de plántulas de *Pinus greggii* en tres sustratos. *Agrociencia*, 51(8), 895–908. <https://www.agrociencia-colpos.org/index.php/agrociencia/article/view/1334/1334>
- Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). (2024). Clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas incluyendo nematicidas. <https://irac-online.org/documents/folleto-modo-de-accion-insecticidas-y-acaricidas?ext=pdf>
- Kaldor, A. D., McHugh, J. V., Schmidt, J. M., Luo, X., Gariepy, T. D., & Blaauw, B. R. (2022). First documented wild population of the “Hunter Fly”, *Coenosia attenuata* Stein (Diptera: Muscidae) in North America. *Insects*, 13(11), 970. <https://doi.org/10.3390/insects13110970>
- Lu, X., Duan, C., Ning, Y., Jiang, X. H., & Hou, X. H. (2020). Morphology of the immature stages of *Dasyhelea silvatica* Wang, Zhang & Yu with redescriptions of adults (Diptera, Ceratopogonidae). *Zookeys*, 961, 119–127. <https://doi.org/10.3897/zookeys.961.53882>
- Marín-Cruz, V. H., Cibrián-Tovar, D., García-Díaz, S. E., Pérez-Vera, O. A., Huerta-Jiménez, H., & Magdaleno-Hernández, E. (2022). Identificación y distribución del mosquito fungoso negro, *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912 (Diptera: Sciaridae) en viveros de clima templado. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 13(73), 175–196. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v13i73.1261>
- Marín-Cruz, V. H., Cibrián-Tovar, D., Méndez-Montiel, J. T., Pérez-Vera, O. A., Cadena-Meneses, J. A., Huerta, H., Rodríguez-Yam, G., & Cruz-Rodríguez, J. A. (2015). Biología de *Lycoriella ingenua* y *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Madera y Bosques*, 21(1), 113–128. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-04712015000100009&lng=es&tlang=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712015000100009&lng=es&tlang=es)
- Mathis, W. N., Júnior, F. D. A. R., & Couri, M. S. (2016). Family Ephydriidae. *Zootaxa*, 4122(1), 752–770. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4122.1.64>
- Moravvej, G., Heidari-Latibari, M., & Ghafouri-Moghaddam, M. (2022). New record of black fungus gnat (Diptera: Sciaroidea, Sciaridae) from Iran, with a first record for the fauna of the Middle East. *Journal of Insect Biodiversity and Systematics*, 8(2), 207–218. <https://doi.org/10.52547/jibs.8.2.207>
- Murtaza, G., Ramzan, M., Ghani, M. U., Munawar, N., Majeed, M., Pervez, A., & Umar, K. (2019). Effectiveness of different traps for monitoring sucking and chewing insect pests of crops. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 12(6), 15–21. <https://doi.org/10.21608/eajbsa.2019.58298>
- Onstad, D. W., Bueno, A., & Favetti, B. M. (2019). Economic thresholds and sampling in integrated pest management. In D. W. Onstad & P. R. Crain (Eds.), *The economics of integrated pest management of insects* (pp. 122–139). CABI. <https://dokumen.pub/the-economics-of-integrated-pest-management-of-insects-9781786393678-1786393670.html>
- Oviedo-Machado, N., & Reinoso-Flórez, G. (2018). Aspectos ecológicos de larvas de Chironomidae (Diptera) del río Opia (Tolima, Colombia). *Revista Colombiana de Entomología*, 44(1), 101–109. <https://doi.org/10.25100/socolen.v44i1.6546>
- Pacheco-Covarrubias, J. J., Soto-Nolasco, J., & Valenzuela-Valenzuela, J. M. (2016). Densidad poblacional de mosca blanca *Bemisia* spp. (Hemiptera: Aleyroididae) en el Valle de Guaymas-Empalme, Sonora, México/ Population density of Whitefly in the Guaymas-Empalme Valley, Sonora, Mexico. *Biología*, 18(3), 9–13. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v18i3.329>
- Prema, M. S., Ganapathy, N., Renukadevi, P., Mohankumar, S., & Kennedy, J. S. (2018). Coloured sticky traps to monitor thrips population in cotton. *Red*, 625, 740nm. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(2), 948–952. [www.entomoljournal.com](http://www.entomoljournal.com)
- R Core Team (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Santos, A. O., Herney-Varón, D. E., Gaigl, A., & Floriano, A. (2012). Nivel de daño económico para *Neohydatothrips signifer* (Thysanoptera: Thripidae) en maracuyá en el Huila, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 38(1), 23–29. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-04882012000100004&lng=en&tlang=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882012000100004&lng=en&tlang=es)
- Shi, L., He, H., Yang, G., Huang, H., Vasseur, L., & You, M. (2020). Are yellow sticky cards and light traps effective on tea green leafhoppers and their predators in Chinese tea plantations? *Insects*, 12(1), 14. <https://doi.org/10.3390/insects12010014>
- Shin, Y. K., Kim, S. B., & Kim, D.-S. (2020). Attraction characteristics of insect pests and natural enemies according to the vertical position of yellow sticky traps in a strawberry farm with high-raised bed cultivation. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23(4), 1062–1066. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.08.016>
- Stukenberg, N., Ahrens, N., & Poehling, H. M. (2018). Visual orientation of the black fungus gnat, *Bradysia difformis*, explored using LEDs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 166(2), 113–123. <https://doi.org/10.1111/eea.12652>
- Sun, Y., Cheng, H., Cheng, Q., Zhou, H., Li, M., Fan, Y., Shan, G., Damerow, L., Lammers, P., & Jones, S. (2017). A smart-vision

- algorithm for counting whiteflies and thrips on sticky traps using two-dimensional Fourier transform spectrum. *Biosystems Engineering*, 153, 82–88. <https://doi.org/10.1016/J.BIOSYSTEMSENG.2016.11.001>
- Villanueva-Sánchez, E., Ibáñez-Bernal, S., Lomelí-Flores, J. R., & Valdez-Carrasco, J. (2013). Identificación y caracterización de la mosca negra *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae) en el cultivo de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) en el centro de México. *Acta Zoológica Mexicana*, 29(2), 363–375. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0065-17372013000200008&lng=es&tlang=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372013000200008&lng=es&tlang=es)
- Vivero-Gómez, R. J., Ortega-Gómez, E., Aparicio-Argumedo, Y., Torres-Gutiérrez, C., Muskus-López, C., & Bejarano-Martínez, E. E. (2013). Flebotominos adultos e inmaduros (Diptera: Psychodidae): registros para el Caribe colombiano. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 53(2), 157–164. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-46482013000200005&lng=es&tlang=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482013000200005&lng=es&tlang=es)
- Wilkinson, J. D., & Daugherty, D. M. (1970). The biology and immature stages of *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Annals of the Entomological Society of America*, 63(3), 656–660. <https://doi.org/10.1093/aesa/63.3.656>
- Yoon, J. B., Kim, H. H., Kim, D. H., Yang, C. Y., & Seo, M. H. (2018). Optimal height of installing sticky traps for monitoring fungus gnats. *Journal of Mushrooms*, 16(1), 57–60. <http://doi.org/10.14480/JM.2018.16.1.57>
- Zou, D., Coudron, T. A., Zhang, L., Xu, W., Xu, J., Wang, M., Xiao, X., & Wu, H. (2021). Effect of prey species and prey densities on the performance of adult *Coenosia attenuata*. *Insects*, 12(8), 669. <https://doi.org/10.3390/insects12080669>