

Efecto del Hongo *Isaria fumosorosea* Wize Sobre la Herbivoría por los Adultos del Escarabajo de Margen Amarillo, *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae)

Cecilia Gámez Herrera¹, Angie A. Niño², Pasco B. Avery³ y Ronald D. Cave⁴

Resumen. El escarabajo de margen amarillo, *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae) es una plaga que causa pérdidas económicas en la producción de crucíferas (Brassicaceae) en Argentina y el sureste de los Estados Unidos. El control biológico utilizando el hongo entomopatógeno *Isaria fumosorosea* Wize (Hypocreales: Cordycipitaceae) es una alternativa para reducir las poblaciones de esta plaga. Este estudio evaluó el efecto que tiene este hongo en la cantidad de herbivoría por los adultos del escarabajo al ser alimentados con hojas aplicadas con *I. fumosorosea*. Se evaluaron cuatro concentraciones (0.1, 0.5, 1.0 y 2.0 g) de la formulación PFR-97 20% WDG cepa Apopka 97 por 100 ml de agua destilada y se usó como tratamiento control únicamente agua destilada. Se realizaron dos ensayos, cada ensayo con 10 plantas de bok choy por tratamiento, cada planta con seis escarabajos. A los 7 días se midió el área foliar consumida por los escarabajos. En el primer ensayo, las plantas aplicadas con 1.0 y 2.0 g/100 ml sufrieron significativamente menos daño que el control. Para el segundo ensayo hubo diferencia significativa entre el control y la concentración 2.0 g/100 ml. El control tuvo 3.7 y 2.0% más daño comparado con los demás tratamientos en el primer y segundo ensayo, respectivamente.

Palabras clave: Brassicaceae, control biológico, hongo entomopatógeno, plaga.

Effect of the Fungus *Isaria fumosorosea* Wize on Herbivory by Adult Yellowmargined Leaf Beetles, *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae)

Abstract. The yellowmargined leaf beetle, *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae), is a pest that causes economic losses in the production of crucifers (Brassicaceae) in Argentina and the southeastern USA. Biological control using the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* Wize (Hypocreales: Cordycipitaceae) is an option for suppressing pest populations. This study evaluated the effect of this fungus on herbivory by adult beetles when they were fed leaves treated with *I. fumosorosea*. Four concentrations (0.1, 0.5, 1.0, and 2.0 g) of the formulation PFR-97 20% WDG Apopka strain 97 per 100 ml of distilled water and a distilled water only control were evaluated. Two trials each with 10 bok choy plants per treatment were performed, and each plant was infested with six adult beetles. On the seventh day, leaf area consumed by the beetles was measured. In the first trial, plants applied with 1.0 and 2.0 g/100 ml suffered significantly less damage than the control. In the second trial, there was a significant difference between the control and concentration of 2.0 g/100 ml. The control had 3.7 and 2.0% more damage compared to the other treatments in the first and second trials, respectively.

Keywords: Biological control, Brassicaceae, entomopathogenic fungus, pest.

Introduction

El escarabajo de margen amarillo, *Microtheca*

ochroloma Stål (Coleoptera: Chrysomelidae), es nativo de Sudamérica (Argentina, Brasil, Chile y Uruguay) (Jolivet 1950), pero está causando grandes daños en

¹ Calle Campero entre calles German Busch y Bolívar, SN, Rurrenabaque, Beni, Bolivia. Correo electrónico cgam.h@hotmail.com

² Indian River Research and Education Center, Fort Pierce, Florida, Estados Unidos. Correo electrónico anino@ufl.edu

³ Indian River Research and Education Center, Fort Pierce, Florida, Estados Unidos. Correo electrónico pbavery@ufl.edu

⁴ Indian River Research and Education Center, Fort Pierce, Florida, Estados Unidos. Correo electrónico rdcave@ufl.edu

los Estados Unidos (Webb 2010). El primer reporte de esta plaga en los Estados Unidos fue en Alabama y gradualmente se ha ido extendiendo a lo largo de la costa del Golfo de México desde Florida hasta Texas, Georgia y Carolina del Norte (Woodruff 1974).

Las plantas hospederas de *M. ochroloma* pertenecen a la familia Brassicaceae, de las cuales el nabo (*Brassica rapa* L.) es la planta hospedera preferida, seguido por la mostaza (*Brassica juncea* L.), el rábano (*Raphanus sativus* L.), la col (*Brassica oleraceae* L.) y la col china (*B. rapa*, grupo pekinensis) (Ameen y Story 1997; Balusu y Fadamiro 2011). También ha sido reportado como plaga de mizuna o mostaza japonesa (*B. rapa*, grupo japónica) (Bowers 2003). En Florida, los adultos están activos al finalizar el otoño, durante el invierno y a inicios de la primavera (Webb 2010), época en que hay la mayor producción de brásicas en el estado. La herbivoría en las hojas de los cultivos reduce la calidad de las plantas, lo que disminuye la producción comercial (Bowers 2003).

En la agricultura convencional, a diferencia de la agricultura orgánica, la manera más fácil y común de controlar este escarabajo es aplicando insecticidas sintéticos (Poncio 2010). Los insecticidas sintéticos como el carbaril, efectivo en el control de esta plaga (Overall 2008), son muy tóxicos para los vertebrados (Badii *et al.* 2006), algas y abejas (Pérez 2008). La alta toxicidad favorece la eliminación de enemigos naturales (chinchas hediondas, chinchas asesinas y crisopas) y proliferación de las plagas, generando a largo plazo una agricultura insostenible (Devine *et al.* 2008). Con el tiempo, estos insecticidas también pueden provocar la aparición de resistencia química (Balusu y Fadamiro 2013). El desarrollo de resistencia química a los insecticidas sintéticos y la necesidad de mejorar el cuidado del ambiente eventualmente demandarán acciones de control basadas en la comprensión de la ecología de los insectos plagas (Vázquez 2002). Con la implementación de métodos de control biológico para regular las poblaciones de *M. ochroloma*, los agricultores convencionales podrían ser capaces de reducir el riesgo de desarrollar resistencia a los insecticidas sintéticos (Bowers 2003).

Las ventajas de usar los hongos entomopatógenos como agentes controladores es que son accesibles económicamente, no son tóxicos, pueden ser producidos en grandes cantidades, son fáciles de aplicar y están presentes en el ambiente (Latifian y Rad 2012). *Isaria fumosorosea* Wize tiene distribución mundial, lo que facilita su adaptación y efectividad

como controlador de varios insectos, especialmente moscas blancas (*Bemisia tabaci* Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) y algunos coleópteros (Lacey *et al.* 1999).

Montemayor *et al.* (2016) evaluaron *I. fumosorosea*, cepa comercial de Apopka 97 registrada como PFR-97 20% WDG (gránulos disecados), en varias concentraciones aplicadas directamente sobre las cuatro etapas de desarrollo de *M. ochroloma*. *I. fumosorosea* no ocasionó una mortalidad significativa en los adultos, posiblemente por la presencia de su cutícula dura que actúa como una barrera que evita la germinación de las blastosporas.

El objetivo de este estudio fue evaluar el hongo *I. fumosorosea* como un agente controlador de los adultos de *M. ochroloma* cuando estos consumen las hojas de bok choy (*B. rapa*, grupo chinensis) tratadas con el hongo. Se evaluaron cuatro concentraciones de PFR-97 para determinar el efecto del hongo en la cantidad de herbivoría de hojas por *M. ochroloma*.

Materiales y Métodos

Material vegetal. Para cada ensayo se utilizaron 50 plantas de bok choy variedad WinWin. Las plantas fueron sembradas y mantenidas dentro de un invernadero hasta el día en que se inició el experimento. Dos semanas después de la siembra, las plántulas fueron trasplantadas a macetas plásticas de 1.3 L con suelo esterilizado y abono Osmocote Flower & Vegetable Smart-Release. Las plantas se fertilizaron cada semana con Miracle Grow 24N-8P-16K (100 ml/maceta). El experimento se realizó con plantas de 28 días. Cada tratamiento tenía 10 plantas (10 réplicas) por ensayo.

Colonia de insectos. Los adultos de *M. ochroloma* fueron colectados en la finca orgánica "White Rabbit" ubicada en Vero Beach, Florida. Los escarabajos fueron colectados sobre los cultivos de col y se trasladaron al Laboratorio de Contención e Investigación de Control Biológico, Indian River Research & Education Center, Fort Pierce, Florida, para empezar una colonia. Los adultos se mantuvieron en recipientes plásticos de 30 x 20 x 8 cm para producción de huevos y fueron alimentados con hojas de bok choy. Los huevos se colectaron cada dos días y fueron colocados en recipientes plásticos de 13 x 13 x 5 cm hasta su eclosión. Las larvas se colectaron diariamente y se mantuvieron en recipientes plásticos cilíndricos de 15 cm de alto por 10 cm de diámetro y

se alimentaron con hojas de bok choy. Toda la colonia fue mantenida en una incubadora a 25°C.

Hongo. Se utilizó la formulación PFR-97 20% WDG cepa Apopka 97 al 20% (80% de ingredientes inertes) de *I. fumosorosea* en la forma de gránulos disecados comercializada por Certis USA (Columbia, MD).

Diseño experimental. El experimento consistió en dos

ensayos. En el segundo ensayo se obtuvo un nuevo lote de *I. fumosorosea* ya que en el primer ensayo la mortalidad de los escarabajos fue baja, la cual es evidencia, pero no prueba, que la calidad del lote usado no fue de alta calidad. Además, los conteos de concentración y deposición en el primer ensayo (Tabla 1) fueron más bajos que los esperados.

Tabla 1. La concentración inicial de cada suspensión (dos conteos) y promedio (\pm SE) de la deposición de blastosporas de *Isaria fumosorosea* para los dos ensayos.

Concentración (g/100 ml)	Concentración ($\times 10^4$) inicial de blastosporas/ml		Deposición de blastosporas/mm ²	
	1er ensayo	2do ensayo	1er ensayo	2do ensayo
0.0	0	0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
0.1	83.9 - 86.1	413.4 - 438.0	144.7 \pm 1.6	488.5 \pm 1.6
0.5	543.0 - 561.0	1,468.0 - 1,502.0	176.9 \pm 1.0	657.7 \pm 1.1
1.0	1,187.6 - 1,201.0	3,598.1 - 3,698.3	398.5 \pm 1.8	677.4 \pm 1.2
2.0	2,256.0 - 2,551.6	7,919.0 - 7,525.0	54.8 \pm 2.6	1,525.9 \pm 0.7

En cada ensayo se evaluaron cuatro concentraciones del hongo (0.1, 0.5, 1.0 y 2.0 g/100 ml) y el control (solo agua destilada). Se pesaron 0.3, 1.5, 3.0 y 6.0 g para cada concentración, respectivamente, y se mezclaron en 300 ml de agua destilada. Las soluciones fueron mezcladas en vasos de precipitado (graduado) de 350 ml con agitadores magnéticos durante una hora.

La concentración inicial de blastosporas se determinó con un hemocitómetro de Neubauer plástico desechable (C-Chip DHC-N01), hubo dos conteos por suspensión. La viabilidad de las blastosporas se determinó esparciendo 100 μ l de cada suspensión sobre un medio de PDA en platos Petri dentro de una cámara de flujo de aire; la cámara se desinfectó con alcohol al 70% para evitar contaminación con otros hongos o bacterias. Los platos se sellaron con Parafilm® (Bemis, Oshkosh, WI) y fueron mantenidos dentro de una incubadora a 25°C durante 7 días para luego contar las unidades formadoras de colonias.

Se escogieron cinco plantas al azar por tratamiento. Se colocaron cubreobjetos plásticos en el haz o envés en una hoja por planta para medir la deposición final de blastosporas (Figura 1). Se aplicaron los tratamientos con atomizadores (Figura 2)

diferentes, se roció el haz y envés de todas las hojas hasta que se mojó la planta completamente. El volumen promedio de solución aplicado por planta fue 25 ml. Después de que los tratamientos fueron aplicados a las plantas y de que la solución se secó, los cubreobjetos fueron removidos para contar el número de blastosporas por milímetro cuadrado. Se contaron las blastosporas aplicando una gota de fucsina ácida al 1% por cubreobjeto para facilitar la visualización. Se contaron en un área de 2.25 mm², con el campo visual 400X (0.45 mm de diámetro).

Un día antes de iniciar el experimento, 300 adultos de *M. ochroloma*, hembras y machos de 1-2 semanas de edad, fueron colocados dentro de pequeños frascos (seis adultos/frasco) sin comida y con bolas de algodón humedecidas con agua. Se separaron 50 insectos más en otro contenedor, en caso de que algunos insectos en los frascos no sobrevivieran. Después que la solución aplicada se secó, las plantas se cubrieron con bolsas plásticas microperforadas, se introdujeron seis insectos por planta y las bolsas se aseguraron para evitar que los insectos escaparan (Figura 3). Las plantas se mantuvieron en el laboratorio a una temperatura aproximada de 21°C durante una semana.



Figuras 1-3. 1) Plantas en macetas con el suelo cubierto por papel, note los cubreobjetos en las hojas. 2) Rociando con atomizador el haz y envés de las hojas. 3) Plantas en bolsas aseguradas para evitar el escape de los insectos.

Al terminar la semana del experimento, se quitaron cuatro hojas de cada planta, evitando las más viejas y las más nuevas, para medir la herbivoría. Las hojas fueron fotografiadas y el área consumida fue calculada con el programa procesador de imágenes digitales Image J (rsb.info.nih.gov/ij/download.html). El número de escarabajos muertos por planta fue registrado diariamente por 14 días. Los escarabajos muertos no fueron reemplazados con escarabajos vivos.

Análisis estadístico. Los datos fueron evaluados mediante análisis de varianza para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Los promedios fueron comparados usando una prueba de Tukey-Kramer HSD. Se utilizó el software JMP10 (SAS Institute Inc. 2008) con un nivel de significancia del 5% para todos los análisis estadísticos.

Resultados y Discusión

Los porcentajes de germinación de blastosporas fueron 85 y 90% para el primer y segundo ensayo, respectivamente. El número inicial de blastosporas en la solución y el número de blastosporas por deposición en el segundo ensayo fue casi el doble comparadas con el primer ensayo (Tabla 1). Las diferencias entre los ensayos se atribuyen a una diferencia entre niveles de calidad de los dos lotes del producto.

El porcentaje de mortalidad de adultos de *M. ochroloma* fue menor de 50% en cada tratamiento y no existió relación entre los tratamientos aplicados y la mortalidad en los adultos de *M. ochroloma* para el primer ($X^2 = 4.334$; $df = 4$; $P = 0.3627$) y segundo ($X^2 = 7.460$; $df = 4$; $P = 0.1135$) ensayo. Por lo tanto, la mortalidad de los escarabajos no tuvo un efecto sobre las diferencias de herbivoría entre tratamientos. La mortalidad entre todos los tratamientos fue 32.7% en el primer ensayo y 30.0% en el segundo ensayo.

Las altas concentraciones de *I. fumosorosea* tuvieron un efecto en la herbivoría por *M. ochroloma* (Figura 4). En el primer ensayo, las plantas aplicadas con 1.0 y 2.0 g/100 ml sufrieron significativamente menos daño que el control ($F = 2.99$; $df = 4, 45$; $P = 0.0283$). En el segundo ensayo hubo diferencia significativa solamente entre el control y el tratamiento de 2.0 g/100 ml ($F = 3.06$; $df = 4, 45$; $P = 0.0257$). El control tuvo en promedio 3.7 y 2.0% más daño en el primer y segundo ensayo, respectivamente.

En el segundo ensayo hubo menor herbivoría que en el primer ensayo, para el control y para los

tratamientos. La diferencia pudo deberse a la mayor germinación del hongo y la deposición de esporas que se obtuvieron (Tabla 1). Según Elósegui y Elizondo (2010), la germinación y la penetración de la cutícula del insecto son eventos claves para lograr la patogenicidad, es decir que la capacidad patogénica está relacionada directamente con la germinación y crecimiento del hongo. En estudios bajo condiciones de laboratorio, los insectos, a medida que se iban enfermando a causa de los hongos entomopatógenos, fueron disminuyendo su actividad y el consumo de alimentos (France *et al.* 1999, Malpartida *et al.* 2013).

Hubo una relación negativa entre la deposición de blastosporas y la herbivoría en el segundo ensayo ($F = 9.98$; $df = 1$; $P = 0.05$) (Figura 5B), al igual que en el estudio de Balusu y Fadamiro (2013), lo que indica que *I. fumosorosea* tiene el potencial de reducir la alimentación en *M. ochroloma* de la misma forma que en *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) (Avery *et al.* 2011) y *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (Rogers 2012). En el primer ensayo ($F = 0.99$; $df = 1$; $P = 0.39$) (Figura 5A), la aplicación de 2.0 g/100 ml disminuyó el valor de R^2 . Existe la posibilidad que, al momento de aplicar los 2.0 g/100 ml en el primer ensayo, el atomizador se haya obstruido lo que pudo haber afectado la cantidad de esporas y su distribución en la planta.

Otro factor al que se pueden atribuir las diferencias entre el primer y segundo ensayo es la variación natural. La variación es un fenómeno natural al repetir un bioensayo, la respuesta de un grupo de insectos en un determinado tiempo nunca será exactamente la misma a la de otro grupo evaluado al mismo o en diferente momento. Las variaciones naturales tienden a complicar la detección de ciertas características como la resistencia, calidad y efectos de productos aplicados en insectos (Robertson *et al.* 1995).

En el control del segundo ensayo, existió la posibilidad de que la disminución de consumo se haya debido a la pérdida de calidad de las plantas. La pérdida de calidad puede ser atribuida a la característica de producción de etileno que poseen las brásicas. En el segundo ensayo, el suelo fue cubierto por bolsas plásticas, lo que pudo haber incrementado la producción y acumulación de etileno. Sin embargo, no se midió la producción de etileno de las plantas.

Finalmente, la especie de planta puede influir en el efecto del hongo sobre la herbivoría. Las brásicas producen glucosinolatos que son metabolitos

secundarios precursores de los isotiocianatos que dan el olor típico de ellas (Bridges *et al.* 2002, Villatoro 2011). Los glucosinolatos se sintetizan y almacenan en las plantas al igual que la enzima mirosinasa, la cual hidroliza los glucosinolatos convirtiéndolos en productos biológicamente activos cuando el tejido vegetal se rompe por un daño mecánico, por ejemplo, el daño por *M. ochroloma* al alimentarse de la planta (Bridges *et al.* 2002, Campas-Baypoli *et al.* 2009). Cuando larvas y adultos muerden la hoja, la mirosinasa es liberada y entra en contacto con los glucosinolatos para iniciar la síntesis de los isotiocianatos (Bridges *et al.* 2002), que poseen propiedades fungistáticas y actúan como un sistema de protección contra patógenos que afectan a las plantas (Lacey *et al.* 1999, Zimmermann 2008). Estas sustancias pueden reducir la sobrevivencia de blastosporas de *I. fumosorosea* (Inyang *et al.* 1999, Klingen *et al.* 2002). Por lo tanto, solamente las concentraciones altas de *I. fumosorosea* dejarán suficiente blastosporas sobrevivientes para ser ingeridas por los adultos de *M. ochroloma* y disminuir la herbivoría. Además, cuando los escarabajos

consumen las hojas que han sido aplicadas con *I. fumosorosea*, las blastosporas residuales ganan acceso por la cavidad bucal *per os* lo cual puede mejorar la eficacia de los entomopatógenos para entrar al hemocele siendo más rápida que a través de la penetración de la cutícula, lo cual resultará en una reducción del consumo (Kaya y Vega 2012). Este efecto de alimentación reducida y posterior comportamiento, han sido observados con otros escarabajos luego de alimentarse de las hojas, de la planta hospedera, aplicadas con hongos entomopatógenos. Por ejemplo, Fargues *et al.* (1994) observaron que el consumo, por el escarabajo de la papa (*Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)), de hojas de papa aplicadas con *B. bassiana* fue significativamente menor comparado con hojas no tratadas con el hongo. Además, el consumo, por el falso gorgojo de cacahuate (*Callosobruchus maculatus* F (Coleoptera: Chrysomelidae)), de hojas tratadas con *B. bassiana* CPD 3 fue significativamente menor en los 2 días consecutivos al tratamiento, y esta tendencia continuó hasta el día 7, cuando todos los escarabajos murieron (Ekesi 2001).

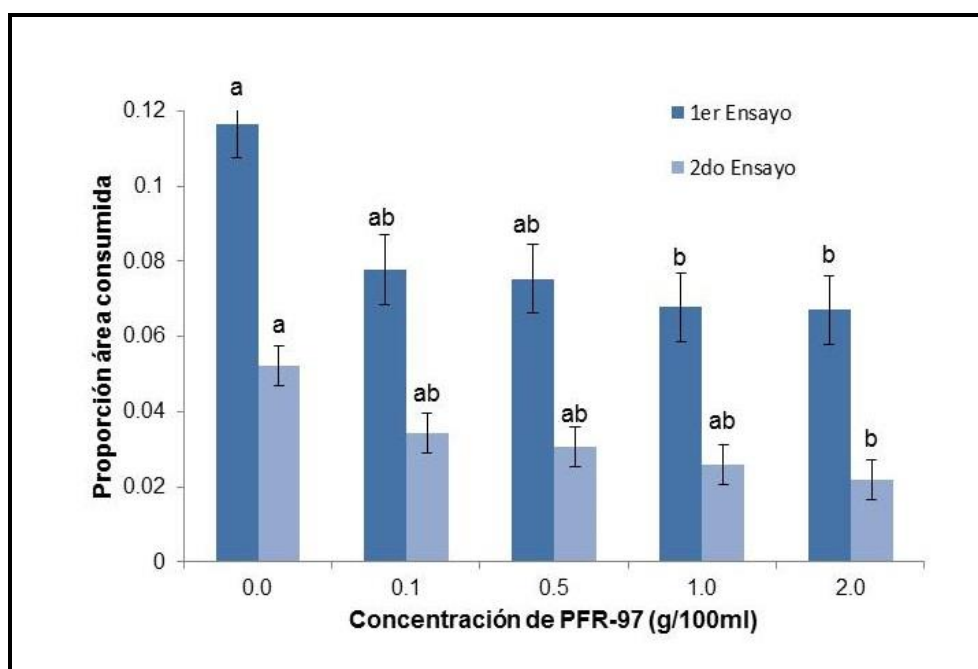


Figura 4. Proporción del área consumida por los adultos de *Microtheca ochroloma* en dos ensayos con aplicaciones en bok choy (*Brassica rapa*, grupo chinensis) de cuatro concentraciones de la formulación PFR97® 20% WDG (*Isaria fumosorosea*). Las letras sobre las barras indican diferencias entre los tratamientos mediante la prueba de Tukey-Kramer HSD. Tratamientos con las mismas letras no son significativamente diferentes.

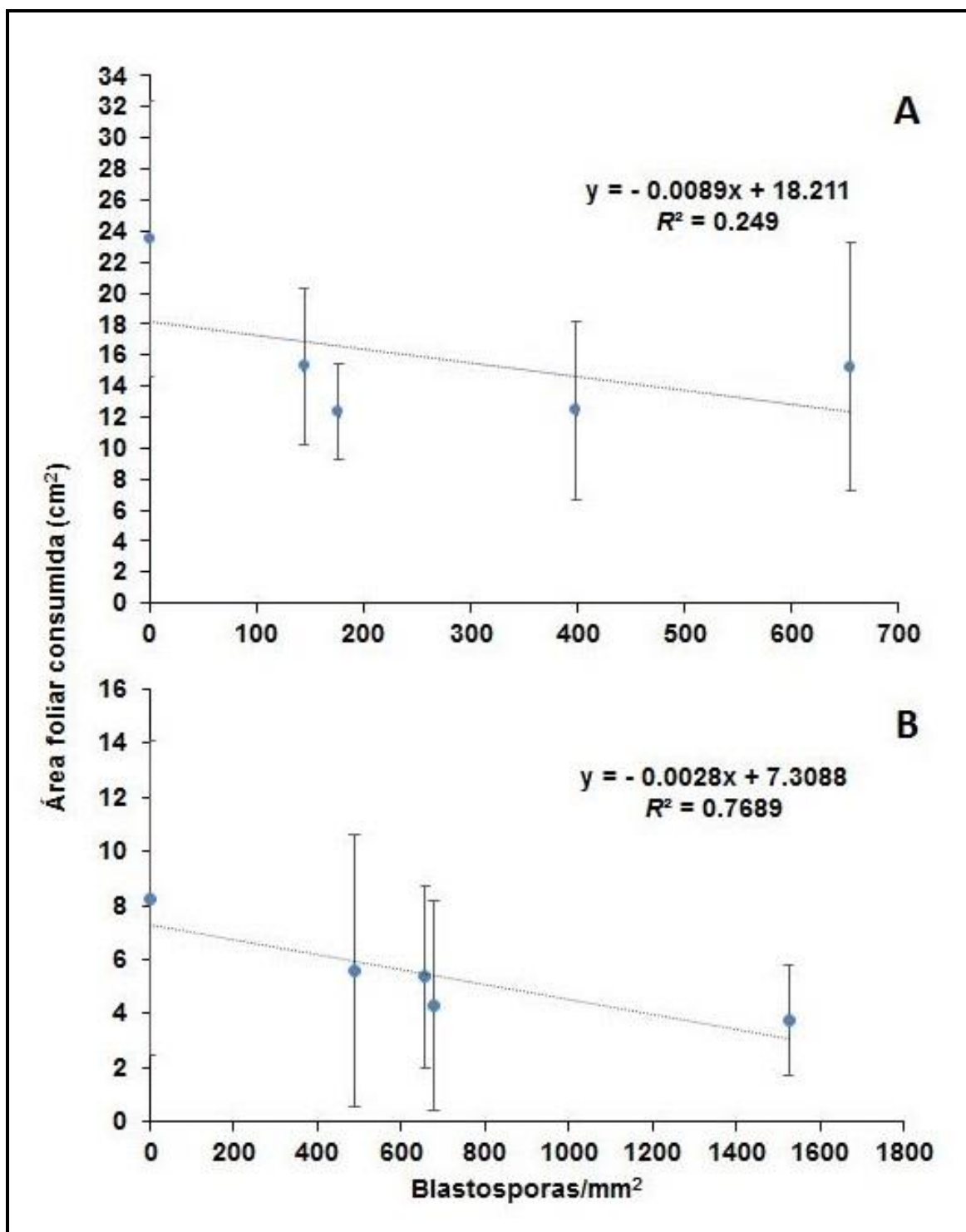


Figura 5. Relación del área foliar consumida de acuerdo al número de blastosporas por milímetro cuadrado en el primer (A) y segundo ensayo (B).

Otra razón de una tasa baja de consumo de los adultos infectados en este estudio, podría estar relacionada con una sinergia entre la colonización del hongo y la producción de toxinas por *I. fumosorosea* (Assaf *et al.* 2005). Una disminución en el consumo pudo ser mayor si los escarabajos evitaron alimentarse de las hojas cubiertas con esporas del hongo. Otros autores han indicado que las blastosporas y conidias de hongos entomopatógenos producen metabolitos bioactivos y enzimas degradadoras de cutícula que pueden causar una alimentación evasiva y reducida en insectos (Avery *et al.* 2011; Meyling y Pell 2006; Quesada-Moraga *et al.* 2006; Ali *et al.* 2010; Baverstock *et al.* 2010). Ali *et al.* (2010) demostraron que los filtrados de cultivos que tenían enzimas degradadoras de cutícula de *I. fumosorosea* podrían ser usados potencialmente para reducir el consumo de *P. xylostella*. Considerando que las blastosporas de *I. fumosorosea* son producidas de manera similar a los filtrados de los cultivos, los metabolitos bioactivos y enzimas degradantes de cutícula producidas por *I. fumosorosea* pudieron contribuir con la reducción en el consumo observado con los adultos de *M. ochroloma*.

Conclusiones

Se observó una reducción en la herbivoría por *M. ochroloma* en hojas de bok choy aplicadas con blastosporas de *I. fumosorosea*. En el primer ensayo las plantas aplicadas con las concentraciones de 1.0 y 2.0 g/100 ml sufrieron en promedio 3.7% menos daño que el control. Para el segundo ensayo el control tuvo 3.2% más daño que el tratamiento de 2.0 g/100 ml.

Agradecimientos. Este proyecto fue financiado por fondos del programa Organic Agriculture Research and Extension Initiative del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos y del Florida Department of Agriculture and Consumer Services.

Literatura Citada

Ali, S., Z. Huang y S. Ren. 2010. Production of cuticle degrading enzymes by *Isaria fumosorosea* and their evaluation as a biocontrol agent against diamondback moth. *Journal of Pest Science* 83(4): 361-370.

Ameen, O.A. y H.N. Story. 1997. Feeding preferences of larval and adult *Microtheca ochroloma* (Coleoptera: Chrysomelidae) for crucifer foliage. *Journal of Agricultural Entomology* 14: 363-368.

Assaf, A., C. Cerda-Garcia-Rojas y M. de la Torre. 2005. Isolation of dipicolinic acid as an insecticidal toxin from *Paecilomyces fumosoroseus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 68(4): 542-547.

Avery, P.B., V.W. Wekesa., W.B. Hunter., D.G. Hall., C.L. McKenzie., L.S. Osborne y M.E. Rogers. 2011. Effects of the fungus *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) on reduced feeding and mortality of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Biocontrol Science and Technology* 21(9): 1065-1078.

Badii, M.H., V. Garza y J. Landeros. 2006. Efecto de los plaguicidas en la fauna silvestre. *Cultura Científica y Tecnológica* 14-15: 22-44.

Balusu, R. y H.Y. Fadamiro. 2011. Host finding and acceptance preference of the yellowmargined leaf beetle, *Microtheca ochroloma* (Coleoptera: Chrysomelidae) on cruciferous crops. *Environmental Entomology* 40(6): 1471-1477.

Balusu, R. y H.Y. Fadamiro. 2013. Susceptibility of *Microtheca ochroloma* (Coleoptera: Chrysomelidae) to botanical and microbial insecticide formulations. *Florida Entomologist* 96(3): 914-921.

Baverstock, J., H.E. Roy y J.K. Pell. 2010. Entomopathogenic fungi and insect behavior: from unsuspecting hosts to targeted vectors. *BioControl* 55(1): 89-102.

Bowers, K. 2003. Effects of within-field location of host plants and intercropping on the distribution of *Microtheca ochroloma* (Stål) in mizuna. Tesis M.Sc. University of Florida, Gainesville, FL, EEUU. 63 p.

Bridges, M., A.M. Jones, A.M. Bones, C. Hodgson, R. Cole, E. Bartlett, R. Wallsgrove, V.K. Karapapa, N. Watts y J.T. Rossiter. 2002. Spatial organization of the glucosinolate-myrosinase system in brassica specialist aphids is similar to that of the host plant. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 269(1487): 187-191.

Campas-Baypoli, O.N., C.B. Solano., D.M. Martínez., F. Camacho., A.G. Villa., J.R. Rodríguez y J. López. 2009. Contenido de sulforafano (1-isotiocianato 4-(metilsulfonil)-butano) en vegetales crucíferos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 59(1): 95-100.

Devine, G., D. Eza., E. Ogasuku y M.J. Furlong. 2008. Uso de insecticidas: Contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 25(1): 74-100.

Ekesi, S. 2001. Pathogenicity and antifeedant activity of entomopathogenic hyphomycetes to the cowpea leaf beetle, *Ootheca mutabilis* Shalberg. *International Journal of Tropical Insect Science* 21(1): 55-60.

Elósegui, O. y A.I. Elizondo. 2010. Evaluación microbiológica in vitro de mezclas de especies de hongos entomopatógenos ingredientes activos de bioplaguicidas cubanos. *Fitosanidad* 14(2): 103-109.

- Fargues, J., J.C. Delmas y R.A. Lebrun, R.A. 1994. Leaf consumption by larvae of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) infected with the entomopathogen, *Beauveria bassiana*. Journal of Economic Entomology 87(1): 67-71.
- France, A., M. Gerding, A. Sandoval, S. Espinosa y E. Vivanco. 1999. Patología de insectos. Serie Quilamapu: 97-122.
- Inyang, E.N., T.M. Butt., A. Beckett y S. Archer. 1999. The effect of crucifer epicuticular waxes and leaf extracts on the germination and virulence of *Metarhizium anisopliae* conidia. Mycological Research 103(4): 419-426.
- Jolivet, P. 1950. Contribution a l'étude des *Microtheca* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae). Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique 26(48): 1-27.
- Kaya, H.K. y F.E. Vega. 2012. Scope and basic principles of insect pathology. p. 1-12. En: Insect Pathology, 2nd ed.; Kaya, H.K.; Vega, F.E. (eds.); Academic Press: Waltham, MA, USA.
- Klingen, I., A. Hajek., R. Meadow y J.A.A. Renwick. 2002. Effect of brassicaceous plants on the survival and infectivity of insect pathogenic fungi. BioControl 47: 411-425.
- Lacey, L.A., A.A. Kirk., L. Millar, G. Mercadier y C. Vidal. 1999. Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay system allowing prolonged survival of control insects. Biocontrol Science and Technology 9(1): 9-18.
- Latifian, M. y B. Rad. 2012. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillmin, *Beauveria brongniartii* Saccardo and *Metarhizium anisopliae* Metsch. to adult *Oryctes elegans* Prell and effects on feeding and fecundity. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 4(14): 1026-1032.
- Pérez, J.F. 2008. Desarrollo de nuevas metodologías para análisis ambiental, alimentario y clínico mediante FIA, HPLC y CE con diversos tipos de detección espectroscópica. Tesis Ph.D. Universidad de Granada, Granada, España. 315 p.
- Quesada-Moraga, E., J.A. Carrasco-Díaz y C. Santiago-Álvarez. 2006. Insecticidal and antifeedant activities of proteins secreted by entomopathogenic fungi against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae). Journal of Applied Entomology 130(8): 442-452.
- Malpartida, J., M. Narrea y W. Dale. 2013. Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. Ecología Aplicada 12(2): 75-81.
- Meyling, N.V. y J.K. Pell. 2006. Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. Ecological Entomology 31(2): 162-171.
- Montemayor, C., P.B. Avery y R.D. Cave. 2016. Infection and mortality of *Microtheca ochroloma* (Coleoptera: Chrysomelidae) by *Isaria fumosorosea* under laboratory conditions. Biocontrol Science & Technology 26(5): 605-616.
- Overall, L.M. 2008. Evaluation of organic insecticides to control harlequin bug, *Murgantia histrionica* (Hahn) and yellowmargined leaf beetle, *Microtheca ochroloma*, on leafy greens. Tesis M.Sc. University of Central Oklahoma, Edmond, OK, USA. 71 p.
- Poncio, S. 2010. Bioatividade de insecticidas botânicos sobre *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae). Tesis M.Sc. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil. 81 p.
- Robertson, J.L., H.K. Preisler, S.S. Ng, L.A. Hickle y W.D. Gelernter. 1995. Natural variation: A complicating factor in bioassays with chemical and microbial pesticides. Journal of Economic Entomology 88(1): 1-10.
- Rogers, M.A. 2012. Efficacy of biopesticides for organic management of cucumber beetles. Tesis Ph.D. University of Tennessee, Knoxville, TN, USA. 130 p.
- Vázquez, L.L. 2002. Avances del control biológico de *Bemisia tabaci* en la región neotropical. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 66: 82-95.
- Villatoro, M.M. 2011. Caracterización nutricional y agronómica, análisis de la actividad biológica y selección de crucíferas para uso alimentario. Tesis Ph.D. Universidad de Córdoba, Córdoba, España. 218 p.
- Webb, S.E. 2010. Insect management for crucifers (cole crops) (broccoli, cabbage, cauliflower, collards, kale, mustard, radishes, turnips). Electronic Data Information Source (EDIS) ENY-464. University of Florida, Gainesville, FL, USA. <http://edis.ifas.ufl.edu/ig150>.
- Woodruff, R.E. 1974. South American leaf beetle pest of crucifers in Florida (Coleoptera: Chrysomelidae). Entomology Circular 148: 1-2.
- Zimmermann, G. 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. Biocontrol Science and Technology 18(9): 865-901.

Recibido para publicación el 20 de octubre de 2015.

Aceptado para publicación el 31 de julio de 2016.