

**Uso del hongo *Isaria fumosorosea* para  
controlar adultos del escarabajo de margen  
amarillo, *Microtheca ochroloma* Stål  
(Coleoptera: Chrysomelidae)**

**Cecilia Gámez Herrera**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Honduras**  
Octubre, 2014

ZAMORANO  
CARRERA DE INGENIERÍA EN AMBIENTE Y DESARROLLO

**Uso del hongo *Isaria fumosorosea* para  
controlar adultos del escarabajo de margen  
amarillo, *Microtheca ochroloma* Stål  
(Coleoptera: Chrysomelidae)**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniera en Ambiente y Desarrollo en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por:

**Cecilia Gámez Herrera**

**Zamorano, Honduras**  
Octubre, 2014

**Uso del hongo *Isaria fumosorosea* para controlar  
adultos del escarabajo de margen amarillo,  
*Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera:  
Chrysomelidae)**

Presentado por:

Cecilia Gámez Herrera

Aprobado:

---

Ronald D. Cave, Ph.D.  
Asesor Principal

---

Laura Suazo, Ph.D.  
Directora  
Departamento de Ingeniería en  
Ambiente y Desarrollo

---

Angie Niño Beltrán, M.Sc.  
Asesora

---

Raúl H. Zelaya, Ph.D.  
Decano Académico

---

Oliver Komar, Ph.D.  
Asesor

## Uso del hongo *Isaria fumosorosea* para controlar adultos del escarabajo de margen amarillo, *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae).

Cecilia Gámez Herrera

**Resumen:** El escarabajo de margen amarillo *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae) es una plaga que causa pérdidas económicas en la producción de crucíferas (Brassicales: Brassicaceae). El control biológico utilizando hongos entomopatógeno como *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown y Smith (Hypocreales: Cordycipitaceae), es una alternativa para reducir las poblaciones de esta plaga. Este estudio evaluó el efecto que tiene en la supervivencia y el consumo de los adultos de *M. ochroloma* al ser alimentados con hojas aplicadas con *I. fumosorosea*. Se evaluaron cuatro concentraciones (0.1, 0.5, 1 y 2 g) de la formulación PFR-97 20% WDG cepa Apopka 97, por 100 ml de agua destilada, y un tratamiento control. Se realizaron dos ensayos, con 50 plantas por ensayo y cada planta fue infestada con seis escarabajos adultos. La mortalidad se evaluó diariamente durante 14 días. Al séptimo día se midió el área consumida por los escarabajos. En el primer ensayo las plantas aplicadas con las concentraciones 1 g/100 ml y 2 g/100 ml sufrieron significativamente menos daño que el control. Para el segundo ensayo hubo diferencias significativas entre el control y la concentración 2 g/100 ml. El control tuvo en promedio 3.7% y 2% mayor daño, comparado con el primer y segundo ensayo respectivamente. La mortalidad de los escarabajos entre el experimento y el control no fue diferente significativamente. El tiempo letal de los adultos se estimó entre 15 a 20 días para ambos ensayos.

**Palabras clave:** Brassicaceae, consumo, control biológico, hongo entomopatógeno, mortalidad, plaga.

**Abstract:** The yellowmargined leaf beetle, *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae) is a pest that cause economic losses in the production of crucifers (Brassicales: Brassicaceae). Biological control using the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown and Smith (Hypocreales: Cordycipitaceae) is an alternative to reduce pest populations. This study evaluated the effect on survival and consumption of *M. ochroloma* adults when fed with leaves applied with *I. fumosorosea*. Four concentrations (0.1, 0.5, 1, and 2 g) of the formulation PFR-97 20% WDG Apopka strain 97, per 100 ml of distilled water, and a control were evaluated. Two trials, with 50 plants per assay were performed, and each plant was infested with six adult beetles. The mortality was evaluated daily for 14 days. On the seventh day, plant consumption was measured by the beetles. In the first trial the plants applied with concentrations 1 g/100 ml and 2 g/100 ml suffered significantly less damage than the control. For the second trial there were significant differences between the control and concentration 2 g/100 ml. The control had an average of 3.7% and 2% more damage compare to the first and second trial respectively. Mortality in beetles in the experiment was not significantly different than the control. The lethal time for adults was estimated between 15 to 20 days for both trials.

**Keywords:** Biological control, Brassicaceae, consumption, entomopathogenic fungi, mortality, plague.

## CONTENIDO

|          |                                     |           |
|----------|-------------------------------------|-----------|
|          | Portadilla .....                    | i         |
|          | Página de firmas .....              | ii        |
|          | Resumen .....                       | iii       |
|          | Contenido .....                     | iv        |
|          | Índice de cuadros y figuras.....    | v         |
| <b>1</b> | <b>INTRODUCCIÓN .....</b>           | <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>   | <b>3</b>  |
| <b>3</b> | <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b> | <b>7</b>  |
| <b>4</b> | <b>CONCLUSIONES .....</b>           | <b>13</b> |
| <b>5</b> | <b>RECOMENDACIONES .....</b>        | <b>14</b> |
| <b>6</b> | <b>LITERATURA CITADA .....</b>      | <b>15</b> |

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

|    | Cuadros                                                                                                                                        | Página |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1. | Resultados de los análisis de concentración inicial y deposición de blastosporas de <i>Isaria fumosorosea</i> para el primer y segundo ensayo. | 7      |

|    | Figuras                                                                                                                       | Página |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1. | Maceta con suelo cubierto con discos de papel, primer ensayo. ....                                                            | 4      |
| 2. | Maceta con suelo cubierto con bolsas plásticas, segundo ensayo. ....                                                          | 4      |
| 3. | Maceta con bolsa micro-perforada asegurada con clips para papel y elásticos.....                                              | 5      |
| 4. | Porcentajes de la mortalidad de adultos de <i>M. ochroloma</i> del primer ensayo por tratamiento.....                         | 8      |
| 5. | Porcentajes de la mortalidad de adultos de <i>M. ochroloma</i> del segundo ensayo por tratamiento. ....                       | 8      |
| 6. | Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para los adultos de <i>M. ochroloma</i> del primer ensayo, para cada tratamiento..... | 10     |
| 7. | Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de los adultos de <i>M. ochroloma</i> del segundo ensayo, para cada tratamientos.     | 10     |
| 8. | Porcentaje de área consumida por los adultos de <i>M. ochroloma</i> , para el primer y segundo ensayo. ....                   | 11     |
| 9. | Relación del porcentaje de consumo de acuerdo a número de blastoesporas/mm <sup>2</sup> .....                                 | 12     |

## 1. INTRODUCCIÓN

Los agricultores deben combatir muchas plagas que afectan a las crucíferas. Una de estas plagas es el escarabajo de margen amarillo, *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae) (Webb 2010). Este escarabajo es nativo de Sudamérica (Argentina, Brasil, Chile y Uruguay) (Jolivet 1950), que está causando grandes daños en los Estados Unidos (Webb 2010). El primer reporte que se dio de esta plaga en los Estados Unidos fue en Alabama, y eventualmente se fue distribuyendo a lo largo de la costa del Golfo de México desde Florida hasta Texas. Encontrándose también desde Georgia hasta Carolina del Norte (Woodruff 1974).

Las plantas hospederas de *M. ochroloma* pertenecen a la familia Brassicaceae, de las cuales previas evaluaciones mostraron que el nabo (*Brassica rapa*) es la planta hospedera preferida, seguido por la mostaza (*Brassica juncea*), el rábano (*Raphanus sativus*), el col (*Brassica oleraceae*) y la col china (*Brassica rapa*, grupo pekinensis) (Ameen y Story 1997a; Balusu y Fadamiro 2011). También ha sido reportado como peste de mizuna o mostaza japonesa (*Brassica rapa*, grupo japónica) (Bowers 2003). En Florida este insecto causa gran daño a las crucíferas, debido a que los adultos están activos al finalizar el otoño, durante el invierno y a inicios de la primavera (Webb 2010), época en que se da la mayor producción de crucíferas en esta región. El daño causado en la planta reduce su calidad, disminuyendo la producción y venta de estos productos (Bowers 2003).

En la agricultura convencional, a diferencia de la agricultura orgánica, la manera más fácil y común de controlar este escarabajo es mediante la aplicación de insecticidas sintéticos (Poncio 2010). Insecticidas sintéticos como el carbaríl, efectivo en el control de esta plaga (Overall 2008), son altamente tóxicos para los vertebrados (Badii *et al.* 2006), algas y abejas (Mabruk 2009). La alta toxicidad de estos insecticidas generarían cascadas tróficas, debido a la eliminación de enemigos naturales, permitiendo la proliferación de las plagas, convirtiéndose en una agricultura insostenible (Devine *et al.* 2008). Además, con el tiempo, estos insecticidas inducen a la 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). Si la implementación de métodos de control biológico para regular las poblaciones de *M. ochroloma* funcionan, los agricultores convencionales podrían ser capaces de reducir el riesgo de desarrollar resistencia a los insecticidas sintéticos (Bower 2003).

Montemayor (2010) realizó un estudio en el que evaluó dos enemigos naturales de *M. ochroloma*. Uno de ellos fue *Podisus maculiventris* Say (Hemiptera: Pentatomidae), el cual se investigó porque fue observado en campo comiendo larvas y adultos de *M. ochroloma* que se encontraban sobre algunos cultivos de crucíferas. El otro organismo que

se utilizó como agente controlador fue *Isaria fumosorosea* Wize, la cepa comercial de Apopka 97 registrado como PFR-97 20% WDG (gránulos disecados), el cual fue usado en diferentes concentraciones y aplicado directamente sobre los diferentes estadios de *M. ochroloma* (Montemayor 2010). Sin embargo, *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 (Montemayor 2010).

Entre las ventajas de usar los hongos entomopatógenos como agentes controladores se puede citar 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). Además *I. fumosorosea* 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). El control biológico usando *I. fumosorosea* puede ser una potencial táctica para controlar a *M. ochroloma*.

El objetivo de esta investigación fue evaluar a *I. fumosorosea* como un agente controlador de los adultos de *M. ochroloma* cuando consumen las hojas de bok choy (*Brassica rapa*, grupo chinensis) aplicadas con PFR-97. Para cumplir con este fin, se evaluaron cuatro concentraciones de PFR-97 para determinar la concentración letal media (CL50) y tiempo letal (TL50) contra adultos de *M. ochroloma* y determinar el efecto en el consumo de hojas por la plaga.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal.** Se utilizaron 50 plantas por ensayo de bok choy variedad Win Win. Las plantas fueron sembradas y mantenidas dentro de un invernadero hasta el día en que se inició el experimento. Las plántulas fueron trasplantadas con dos semanas de edad, en macetas plásticas de 1.3 L conteniendo suelo esterilizado y abono Osmocote Flower & Vegetable Smart-Release y fueron fertilizadas semanalmente con Miracle Grow 24N-8P-16K (100 ml/maceta). El experimento se realizó con plantas de 28 días de edad.

**Colonia de insectos.** Los adultos de *M. ochroloma* fueron colectados en la finca orgánica “White Rabbit” ubicada en Vero Beach, Florida. Los adultos se encontraban sobre los cultivos de repollo. Con la ayuda de succionadores bucales conectados a frascos pequeños donde se depositaron y aseguraron con tapas perforadas para permitirles respirar. Los escarabajos colectados se trasladaron al laboratorio de Contención e Investigación de Control Biológico, Indian River Research & Education Center, ubicado en Fort Pierce, Florida, para empezar una colonia. Los adultos se mantuvieron en recipientes plásticos de 30 × 20 × 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 × 13 × 5 cm para esperar la eclosión. Las larvas recién nacidas 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 cámara de ambiente controlado a 25 °C para estimular su desarrollo.

**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.

**Diseño experimental.** El experimento llevado a cabo consistió en dos ensayos. En cada ensayo se evaluaron cuatro concentraciones del hongo (C1 = 0.1 g/100 ml, C2 = 0.5 g/100 ml, C3 = 1 g/100 ml, y C4 = 2 g/100 ml) y el control (solo agua destilada). Cada concentración contó con 10 réplicas por ensayo. El volumen promedio de disolución aplicado por planta fue 25 ml/planta. Se pesaron 0.3, 1.5, 3 y 6 g, para cada una de las concentraciones y se disolvieron en 300 ml de agua destilada. Las disoluciones fueron mezcladas en beakers de 350 ml con agitadores magnéticos durante una hora.

Para determinar la concentración inicial de blastosporas por mililitro, se utilizaron hemocitómetros de Neubauer plásticos desechables (C-Chip DHC-N01). La viabilidad de las blastosporas se determinó esparciendo 100 µl de cada suspensión sobre un medio de PDA en platos Petri dentro de una cámara de flujo de aire desinfectada con alcohol al 70%, para evitar contaminación con otros hongos o bacterias. Los platos se sellaron con Parafilm y fueron mantenidos dentro de una cámara controlada (25 °C) durante siete días para luego contar el número de unidades de colonias formadoras (UCF).

Se cubrió el suelo en las macetas con discos de papel en el primer ensayo (Figura 1). En el segundo ensayo se cubrió con bolsas plásticas (Figura 2) para evitar que los insectos cayeran directo al suelo y dificultase su conteo. Se escogieron cinco plantas al azar por tratamiento. Se colocaron cubreobjetos plásticos en el haz o envés de una hoja por planta para determinar la deposición final de blastosporas. Las aplicaciones de los tratamientos se realizaron con atomizadores. Cada tratamiento se aplicó con un atomizador diferente, rociando el haz y envés de todas las hojas de la planta.



Figura 1. Maceta con suelo cubierto con discos de papel, primer ensayo.



Figura 2. Maceta con suelo cubierto con bolsas plásticas, segundo ensayo.

Después que las plantas fueron aplicadas por los tratamientos y que la solución secó, se removieron los cubreobjetos para contar el número de blastosporas por  $\text{mm}^2$ . El conteo de blastosporas en el laboratorio se realizó aplicando una gota de fucsina ácida al 1% por cubreobjeto para facilitar la visualización. El conteo se realizó en un área de  $2.25 \text{ mm}^2$ , utilizando 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 aproximadamente 1 a 2 semanas de edad, se pusieron dentro de pequeños frascos (seis/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 no sobrevivieran. El día del experimento, después de que la disolución aplicada secó, las plantas se cubrieron con bolsas plásticas micro-perforadas, 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 temperatura  $21 \text{ }^\circ\text{C}$  donde fueron monitoreadas durante una semana.



Figura 3. Maceta con bolsa micro-perforada asegurada con clips para papel y elásticos.

Los escarabajos muertos fueron contados y removidos de las plantas diariamente durante 14 días después de iniciado el experimento. Se esterilizó la superficie de los escarabajos muertos siguiendo el protocolo de Lacey (1994) que consistió en sumergirlos en alcohol al 70% durante 5 a 10 segundos. Se enjuagaron brevemente en agua destilada, para posteriormente ser sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante un minuto. Posteriormente se enjuagaron tres veces en agua esterilizada y se dejó secar en papel filtro, para luego ser transferidos directamente a los platos Petri que contenían agar de agua. Estos platos fueron sellados con Parafilm y colocados en una incubadora a 25 °C, para luego evaluar la micosis.

Al terminar la primera semana del experimento, los escarabajos que continuaron vivos fueron colectados en pequeños frascos de 8 × 3 cm de diámetro y alimentados con pedazos de hojas de bok choy de 3 cm<sup>2</sup>, para evaluar la mortalidad durante siete días más. Después de retirar los insectos se removieron cuatro hojas de cada planta, evitando las más viejas y las más nuevas, para evaluar el consumo. Las hojas fueron fotografiadas y el área consumida fue calculada mediante el programa procesador de imágenes digitales ImageJ.

**Análisis estadístico.** Para determinar la proporción de mortalidad entre los tratamientos se analizó mediante una prueba de Chi-cuadrado. Se utilizó un modelo logístico para generar curvas de tiempo-mortalidad y estimar la mortalidad a distintas concentraciones.

Para determinar el tiempo letal de cada uno de los tratamientos se usó curvas de supervivencia. Son usadas para realizar un seguimiento a través del tiempo, desde el inicio

de un tratamiento hasta un tiempo final, en el que se puede demostrar la ocurrencia de algún suceso, en este caso la mortalidad de los insectos (Arribalzaga 2007). Los datos de consumo fueron evaluados mediante análisis de varianza para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos. Los promedios fueron comparados usando una prueba de Tukey-Kramer HSD (*honest significant difference*). Se utilizó el software JMP10 (SAS Institute Inc. 2008) con un nivel de significancia del 5% para todos los análisis estadísticos.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron porcentajes de germinación del 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 fueron casi el doble comparadas con el primer ensayo (Cuadro1). La diferencia entre las soluciones de ambos ensayos se debió a que en el segundo ensayo se obtuvo un nuevo lote de *I. fumosorosea* ya que en el primer ensayo la mortalidad en los escarabajos fue baja.

Cuadro 1. Resultados de los análisis de concentración inicial y deposición de blastosporas de *Isaria fumosorosea* para el primer y segundo ensayo.

| Tratamiento | Concentración<br>PFR-97 (g/100<br>ml) | Concentración<br>inicial de<br>blastosporas/ml |               | Deposición de<br>blastosporas/mm <sup>2</sup> |               |
|-------------|---------------------------------------|------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------|---------------|
|             |                                       | 1er<br>Ensayo                                  | 2do<br>Ensayo | 1er<br>Ensayo                                 | 2do<br>Ensayo |
|             |                                       | C0                                             | 0.0           | 0                                             | 0             |
| C1          | 0.1                                   | 850000                                         | 4257000       | 144.7                                         | 488.5         |
| C2          | 0.5                                   | 5610000                                        | 14850000      | 176.9                                         | 657.7         |
| C3          | 1.0                                   | 11943000                                       | 36482000      | 398.5                                         | 677.4         |
| C4          | 2.0                                   | 24038000                                       | 77220000      | 654.8                                         | 1525.9        |

**Mortalidad de adultos de *M. ochroloma*.** En el primer ensayo hubo cierta tendencia de aumento de mortalidad a medida que se aumentaba la concentración del tratamiento (Figura 4). No se pudo determinar la concentración letal media (CL50) debido a que la mortalidad del control fue muy alta. De acuerdo al estadístico de Chi<sup>2</sup> para el primer ensayo ( $X^2= 4.334$ ;  $df= 4$ ;  $P= 0.3627$ ) no existió relación entre los tratamientos aplicados y la mortalidad en los adultos de *M. ochroloma*.

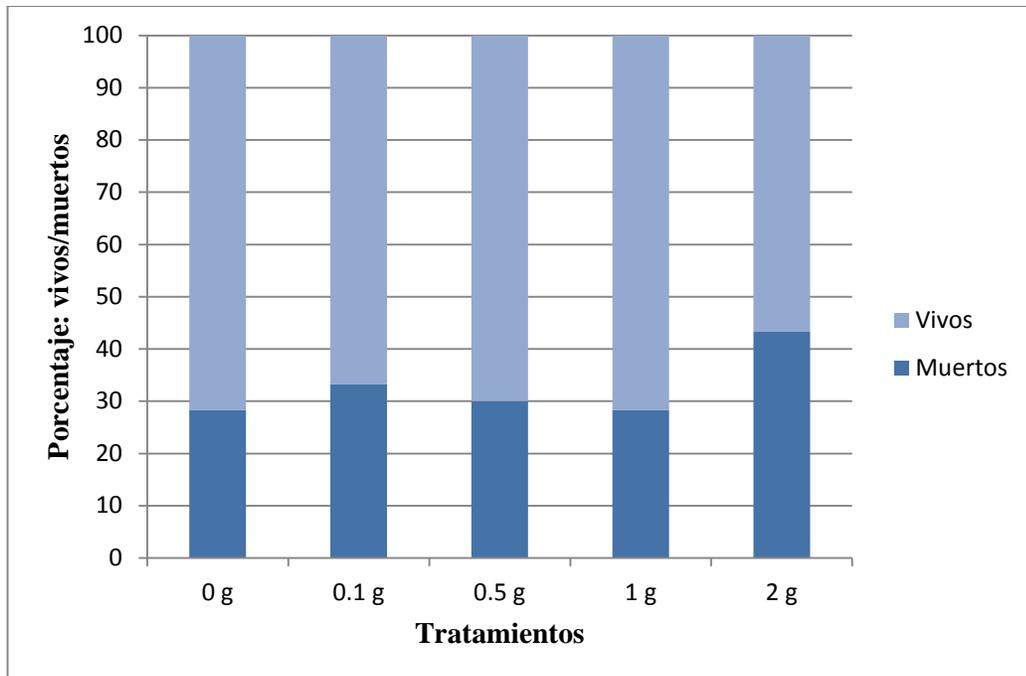


Figura 4. Porcentajes de la mortalidad de adultos de *M. ochroloma* del primer ensayo por tratamiento.

En el segundo ensayo no se evidencia la tendencia de aumento de mortalidad a medida que se aumenta en las concentraciones (Figura 5). Al igual que en el primer ensayo de acuerdo al estadístico  $\chi^2$  ( $X^2 = 7.460$ ;  $df = 4$ ;  $P = 0.1135$ ) no existió relación entre los tratamientos aplicados. La mortalidad en los adultos de *M. ochroloma* estuvo por debajo del 50% para cada tratamiento.

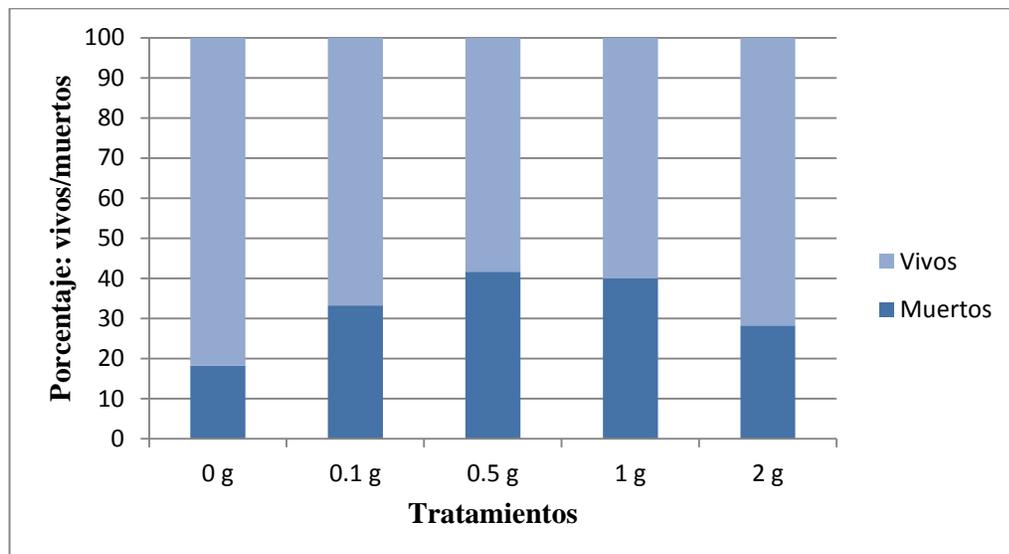


Figura 5. Porcentajes de la mortalidad de adultos de *M. ochroloma* del segundo ensayo por tratamiento.

En el estudio de Balusu y Fadamiro (2013), en el cual una de sus formulaciones fúngicas fue NOFLY (*I. fumosorosea*), no causaron mortalidades significativas sobre los adultos de *M. ochroloma*. Según Balusu y Fadamiro (2013) la baja eficacia de estas formulaciones fúngicas contra los adultos de *M. ochroloma* puede ser atribuido a algunos factores del hospedero, como ser la presencia de químicos en la superficie de la planta. Los cultivos de crucíferas contienen metabolitos secundarios llamados glucosinolatos los cuales se sintetizan y almacenan en las plantas al igual que la mirosinasa, como precursores de los isotiocianatos, los cuales dan el olor típico de las Brassicaceas. Los glucosinolatos en contacto con mirosinasa se hidrolizan a productos biológicamente activos (Bridges *et al.* 2002). Se hidrolizan cuando el tejido vegetal se rompe a consecuencia de un daño mecánico, por ejemplo el daño generado por *M. ochroloma* al momento de alimentarse de la planta (Campas-Baypoli *et al.* 2009). En este momento la mirosinasa es liberada y entra en contacto con los glucosinolatos sintetizando a los isotiocianatos (Bridges *et al.* 2002) que actúan como un sistema de protección contra patógenos que afectan a las plantas y poseen propiedades fungistáticas (Lacey *et al.* 1999, Zimmermann 2008). Las propiedades fungistáticas que poseen los isotiocianatos inhibe la actividad de los hongos, por lo tanto, la presencia de estas sustancias en la superficie de la hoja puede inhibir la actividad insecticida y la supervivencia de *I. fumosorosea* (Inyang *et al.* 1999, Klingen *et al.* 2002) ya que disminuye la capacidad formadora de colonia del hongo (Sudirman *et al.* 2008).

**Supervivencia de adultos de *M. ochroloma*.** Se evaluó el porcentaje de insectos vivos durante 14 días de monitoreo, para cada tratamiento. El tiempo letal de los adultos se estimó entre 15 a 20 días. Se observó que en ambos ensayos los tiempos de mortalidad fueron similares. Para ambos ensayos las cinco curvas siguieron similar tendencia. Para el primer ensayo la curva C0 = control, el último evento de mortalidad registrado fue para el día número doce; para las curvas, C1 = 0.1 g/100 ml, C2 = 0.5 g/100 ml, C3 = 1 g/100 ml, en el día doce. La curva C4 = 2 g/100 ml a partir del día trece hasta que finalizó el estudio no se registraron mortalidades (Figura 6).

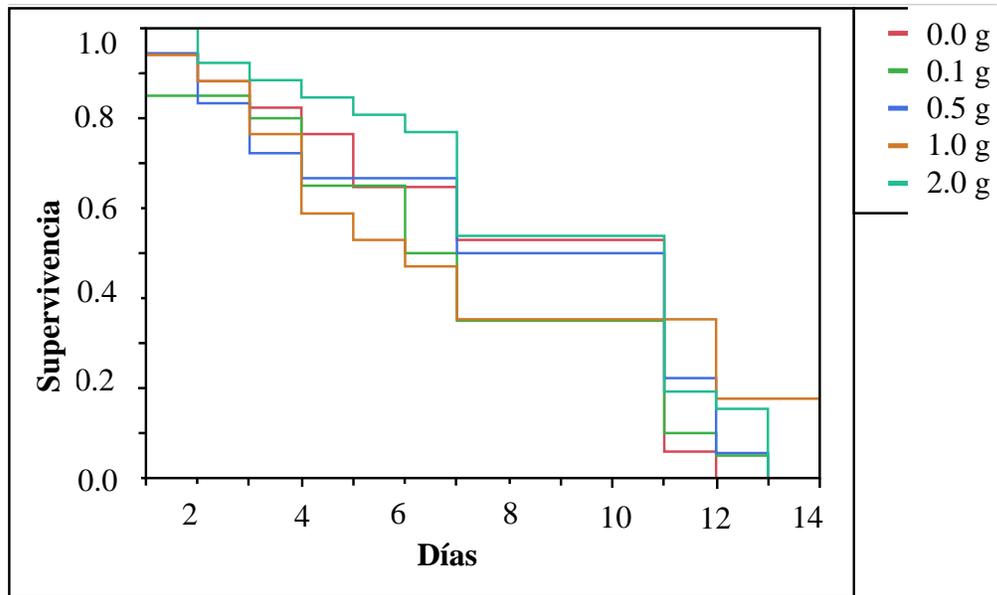


Figura 6. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para los adultos de *M. ochroloma* del primer ensayo, para cada tratamiento.

Para el segundo ensayo la curva C0 = control, C1 = 0.1 g/100 ml y C2 = 0.5 g/100 ml a partir del día doce y trece hasta que finalizó el estudio no se registraron mortalidades. La curva C3 = 1 g/100 ml y C4 = 2 g/100 ml el último evento de mortalidad registrado fue para el día número trece (Figura 7).

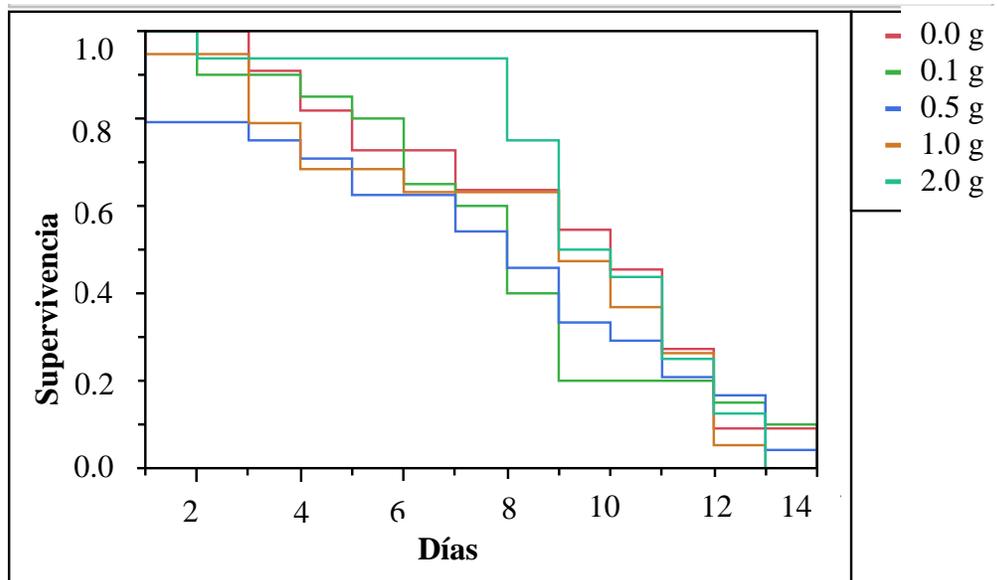


Figura 7. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de los adultos de *M. ochroloma* del segundo ensayo, para cada tratamientos.

Estudios de laboratorio mostraron que la longevidad de los adultos de *M. ochroloma* es en promedio de 68 días alimentados con nabo (*Brassica rapa*) (Ameen y Story 1997b) por lo que la alta mortalidad del control pudo deberse a efectos de estrés en la cría de laboratorio. Según Espadaler (2004) la causa más frecuente del fracaso en cultivos de artrópodos terrestres es el exceso de humedad, sobre todo si los recipientes están cerrados la humedad tiende a ser muy elevada y favorece el crecimiento de hongos. Otro factor podría haber sido la sobrepoblación de larvas por recipientes. En la naturaleza ya existen mecanismos para regular la sobrepoblación, sin embargo en un espacio limitado estos sistemas no funcionan, por lo que la solución práctica es tener pocos individuos por contenedor para evitar el estrés y mortalidad (Espadaler 2004).

**Consumo.** Se monitoreó durante siete días. En el primer ensayo las plantas aplicadas con los tratamientos 1 g/100 ml y 2 g/100 ml sufrieron significativamente menos daño que el control ( $F= 2.99$ ;  $df= 4, 45$ ;  $P= 0.0283$ ). Para el segundo ensayo hubo diferencias significativas entre el control y el tratamiento 2 g/100 ml ( $F= 3.06$ ;  $df= 4, 45$ ;  $P= 0.0257$ ) (Figura 8) (Porcentajes con letras diferentes, son diferentes significativamente). El control tuvo en promedio 3.7% y 2% mayor daño, para el primer y segundo ensayo respectivamente. En la gráfica se puede observar que en el segundo ensayo hubo menor porcentaje de consumo (tanto para el control como para los tratamientos).

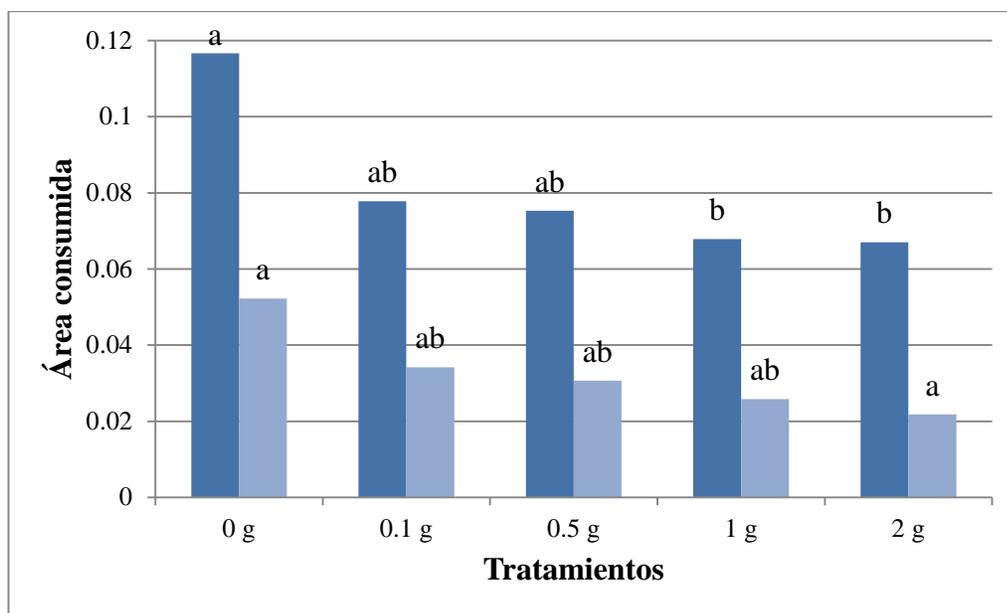


Figura 8. Porcentaje de área consumida por los adultos de *M. ochroloma*, para el primer y segundo ensayo.

La diferencia de consumo entre ambos ensayos pudo deberse a los diferentes porcentajes de germinación del hongo que se obtuvo para cada ensayo y la deposición de esporas obtenidas (Tabla 1). En cuanto al porcentaje de germinación y la penetración a través de la cutícula del insecto son eventos claves para lograr la patogenicidad, es decir que la capacidad patogénica está directamente relacionada con el crecimiento y germinación de

los hongos entomopatógenos (Elósegui y Elizondo 2010). Según Chan-Cupul *et al.* (2010) en los huevos de mosca blanca (*Bemisia tabaci* (Gennadius), Hemiptera: Aleyrodidae), hubo menor actividad del hongo *I. fumosorosea* por la poca cantidad de conidios que entraron en contacto debido a su forma y tamaño, a diferencia de las ninfas. Lo que indica que la deposición de esporas también juega un papel importante en la acción del hongo. En el caso de los controles, existe 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 crucíferas. En el segundo ensayo el suelo fue cubierto por bolsas plásticas, lo que pudo haber incrementado la producción y acumulación de etileno.

En el presente estudio, se observaron posibles efectos subletales como ser la reducción de consumo. Existe una relación negativa entre la deposición de blastosporas y los niveles de consumo ( $F= 7.82$ ;  $df= 1,5$ ;  $P= 0.04$ ), es decir que a medida que aumenta el número de blastosporas/mm<sup>2</sup>, también disminuye el porcentaje de consumo por parte de *M. ochroloma* (Figura 9), al igual que en el estudio de Balusu y Fadamiro (2013). En otro estudio los hongos entomopatógenos disminuyeron el consumo en *Oryctes elegans* Prell (Coleoptera: Scarabaeidae) (Latifian y Rad 2012). *I. fumosorosea* tiene el potencial de reducir la alimentación en *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) (Avery *et al.* 2011) y en *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) (Rogers 2012).

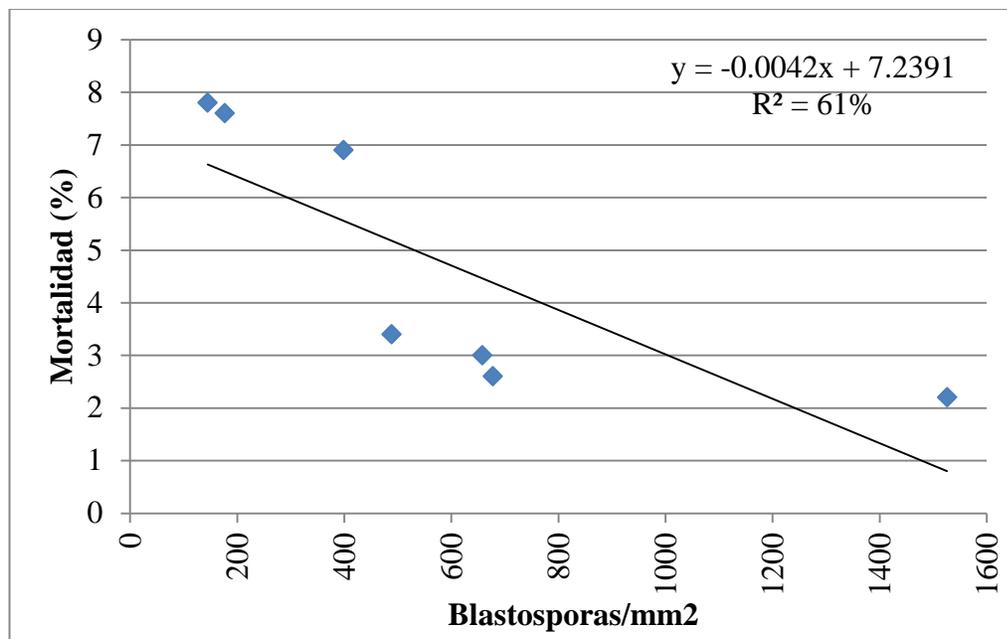


Figura 9. Relación del porcentaje de consumo de acuerdo a número de blastoesporas/mm<sup>2</sup>

#### 4. CONCLUSIONES

- Durante las dos semanas de exposición de los adultos de *M. ochroloma* a las plantas aplicadas con *I. fumosorosea* no se logró alcanzar el 50% de la mortalidad, tampoco se encontró correlación entre los tratamientos y la mortalidad de los adultos de *M. ochroloma*.
- Se observó una reducción en el consumo de hojas. En el primer ensayo las plantas aplicadas con los tratamientos 1 g/100 ml y 2 g/100 ml sufrieron en promedio 3.7% menor daño que el control. Para el segundo ensayo el control tuvo 3.2% mayor daño que el tratamiento 2 g/100 ml.
- No se puede asegurar que el uso *I. fumosorosea*, disminuya el daño realizado por *M. ochroloma* en los cultivos. Antes de recomendar su aplicación a nivel comercial, se requiere de estudios realizados en campo, para determinar su efecto bajo condiciones naturales.

## 5. RECOMENDACIONES

- Controlar factores como la humedad y número de individuos de *M. ochroloma* por recipientes, durante la cría, ya que son la causa más frecuente del fracaso de la cría por estrés y mortalidad de coleópteros terrestres.
- Se recomienda trabajar en laboratorio con hongos o productos entomopatógenos que hayan demostrado resistencia a los glucosinolatos, con el fin de disminuir los factores que afectan negativamente la acción del hongo, para luego ser probados en campo.
- Realizar más evaluaciones de los efectos sub-letales, como ser la disminución de la fecundidad y disminución de los niveles de alimentación, para determinar si *I. fumosorosea* posee acción repelente sobre los adultos de *M. ochroloma*.
- Realizar estudios enfocados en el diseño de un manejo integrado de plagas, basado en control biológico que haya funcionado en los estadíos de huevo, pupa y larva de *M. ochroloma*, como ser el uso de insectos generalistas, hongos entomopatógenos y otras prácticas culturales para controlar las poblaciones de este insecto y disminuir las pérdidas en la producción.

## 6. LITERATURA CITADA

- Ameen, O.A. y H.N. Story. 1997a. Feeding preferences of larval and adult *Microtheca ochroloma* (Coleoptera: Chrysomelidae) for crucifer foliage. *Journal of Agricultural Entomology* 14: 363-368.
- Ameen, O.A. y H.N. Story. 1997b. Fecundity and longevity of the yellowmargined leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on crucifers. *Journal of Agricultural Entomology* 14(2): 157-162.
- Arribalzaga, E.B. 2007. Interpretación de las curvas de supervivencia. *Revista Chilena de Cirugía* 59(1): 75-83.
- 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* 22-44 p. Año 3, No 14-15.
- 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, susceptibility of *Microtheca ochroloma* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Florida Entomologist*. 96(3): 914-921.
- Bridges, M., A.M. Jones, A.M. Bones, C. Hodgson, R. Cole, E. Bartlet, 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. *The Royal Society*. vol. 269(1487): 187-191
- 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, United States. 63 p.

- 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-(metilsulfinil)-butano) en vegetales crucíferos. Instituto Tecnológico de Sonora, Cd. Obregón, Sonora, México. 59(1): 95-100.
- Chan-Cupul, W., E. Ruiz-Sanchez., J. Cristóbal-Alejo., A. Pérez-Gutiérrez., R. Mungía-Rosales y J. Lara-Reyna. 2010. Desarrollo in vitro de cuatro cepas nativas de *Paecilomyces Fumoso roseus* y su patogenicidad en estados inmaduros de mosquita blanca. *Agrociencia*. 44(5): 587-597.
- Devine, G., D. Eza., E. Oigusuku y M.J. Furlong. 2008 Uso de insecticidas: Contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 25(1): 74-100.
- 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.
- Espalder, X. 2004. Técnicas de cría en laboratorio. Departamento de Biología Animal Vegetal y Ecología. p.103-111
- 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'etude des *Microtheca* Stal (Coleoptera: Chrysomelide). *Bulletin*. 26(48): 1-27.
- Klingen, I., A. Hajek y R. Meadow., 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. 1994. *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press, New York, United States. 189 p.
- 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.

- Mabruk. 2009. Hoja de datos de seguridad producto: RUKARB ® 85 WP. P. 1-7.
- Montemayor, C. 2010. Evaluation of a predator and a fungus as biological control agents of the Yellowmargined leaf beetle, *Microtheba ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae). Tesis M. Sc. University of Florida, Gainesville, United States. 96 p.
- Overall, L.M. 2008. Evaluation of organic insecticides to control harlequin bug, *Murgantia histrionica* (Hahn) and yellowmargined leaf beetle, *Microtheba ochroloma*, on leafy greens. Tesis M. Sc. University of Central Oklahoma, Edmond, United States. 71 p.
- Poncio, S., 2010. Bioatividade de insecticidas botânicos sobre *Microtheba ochroloma* Stal (Coleoptera: Chrysomelidae). Tesis M. Sc. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brazil. 81 p.
- Rogers, M.A., 2012. Efficacy of biopesticides for organic management of cucumber beetles. Tesis Ph. D. University of Tennessee, Knoxville. United States. 130 p.
- Sudirman, L. I., Y. Prayogo y S. Ginting. 2008. Effect of leaf letters and solis on viability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. HAYATI Journal of Biosciences. 15(3): 93-98.
- Vázquez, L.L. 2002. Avances del control biológico de *Bemisia tabaci* en la región neotropical. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. 66: 82-95.
- 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, United States. <http://edis.ifas.ufl.edu/ig150>.
- Woodruff, E.R. 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.