

Tolerancia al frío de
***Microtheca ochroloma* Stål**
(Coleoptera: Chrysomelidae)

Dafne Isaac Serrano Pérez

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2010

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Tolerancia al frío de *Microtheca ochroloma* Stål
(Coleoptera: Chrysomelidae)**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por

Dafne Isaac Serrano Pérez

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2010

Tolerancia al frío de *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae)

Presentado por:

Dafne Isaac Serrano Pérez

Aprobado:

Alfredo Rueda, Ph.D.
Asesor Principal

Abel Gernat, Ph.D.
Director Carrera de Ciencia y
Producción Agropecuaria

Ronald D. Cave, Ph.D.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

Rodrigo Díaz, Ph.D.
Asesor

Cecil Montemayor, M.Sc.
Asesora

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador de Fitotecnia

RESUMEN

Serrano, D. I. 2010. Tolerancia al frío de *Microtheca ochroloma* Stål (Coleoptera: Chrysomelidae). Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 21 p.

El crisomélido *Microtheca ochroloma* Stål o “yellow-margined leaf beetle” es un insecto nativo de las zonas subtropicales de Sudamérica. Este insecto fue introducido accidentalmente al estado de Louisiana, Estados Unidos. *Microtheca ochroloma* es considerada una de las plagas más importantes de cultivos en la familia Brassicaceae en los estados de Florida, Alabama y Louisiana. Los hospederos preferidos son nabo (*Brassica rapa* L.) y mostaza (*Brassica juncea* L.). En el presente estudio se evaluó la tolerancia de *M. ochroloma* al frío para pronosticar la posible expansión del insecto al norte de los Estados Unidos. Huevos, larvas de primer estadio, larvas de cuarto estadio, pupas y adultos fueron expuestos a tres temperaturas, 5, 0 y -5° C por seis tiempos de exposición 4, 8, 16, 20, 24 y 30 días. *Microtheca ochroloma* es altamente resistente al frío, pero la sobrevivencia de los estadios disminuye a medida que la temperatura baja. El huevo resultó ser el estado más resistente a -5 °C comparados con los demás estadios. El tiempo letal a -5° C para matar el 50% (TL₅₀) y el 90% (TL₉₀) de la población en el estado de huevo fue de 6 y 23 días, respectivamente. El siguiente estadio más resistente al frío a 0° C fue el adulto. Los TL₅₀ y TL₉₀ de adulto a 0° C fueron 19 y 26 días, respectivamente. Los TL₅₀ de pupa a 5 y 0° C fueron 21 y 10 días, respectivamente. El estadio más susceptible al frío fue la larva de primer estadio. Mediante líneas isotérmicas, se pronosticó el establecimiento potencial del insecto en Estados Unidos. *Microtheca ochroloma* puede establecerse al norte en el estado de Carolina del Norte y los estados centrales de Illinois y Tennessee.

Palabras clave: Brassicaceae, insecto plaga, mortalidad, temperatura

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
3. RESULTADOS.....	10
4. DISCUSION.....	16
5. CONCLUSIONES.....	18
6. RECOMENDACIONES.....	19
7. LITERATURA CITADA.....	20

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro	Página
1. Tiempo requerido para alcanzar el 50% y 90% de mortalidad (TL ₅₀ y TL ₉₀) a 5, 0 y -5° C de <i>Microtheca ochroloma</i>	15

Figura	Página
1. Sobrevivencia de huevos de <i>Microtheca ochroloma</i> con seis tiempos de exposición y tres temperaturas.....	11
2. Sobrevivencia de pupas de <i>Microtheca ochroloma</i> con seis tiempos de exposición y tres temperaturas.....	11
3. Sobrevivencia de adultos de <i>Microtheca ochroloma</i> con seis tiempos de exposición y tres temperaturas.....	12
4. Sobrevivencia del primer instar de <i>Microtheca ochroloma</i> con seis tiempos de exposición y tres temperaturas.....	12
5. Sobrevivencia del cuarto instar de <i>Microtheca ochroloma</i> con seis tiempos de exposición y tres temperaturas.....	13
6. Líneas isotérmicas mostrando el tiempo letal donde muere el 50 y 90% de la población de huevos de <i>Microtheca ochroloma</i> a 0° C.....	14

1. INTRODUCCIÓN

El crisomélido *Microtheca ochroloma* Stål, comúnmente llamado “yellow-margined leaf beetle”, es un insecto nativo de las zonas subtropicales de Sudamérica. Este insecto fue introducido accidentalmente a Estados Unidos, cuando solo un espécimen fue encontrado en el estado de Louisiana en uvas provenientes de Argentina en 1945 (Oliver y Chapin 1983). Su primer reporte como plaga en Estados Unidos fue en el estado de Alabama en 1947 en los cultivos de mostaza (*Brassica alba* L.), nabo (*Brassica rapa* L.) y col (*Brassica oleracea* L.) (Chamberlin y Tippins 1948). En 1972, *M. ochroloma* fue reportado por primera vez en Florida en cultivos de berro (*Nasturtium officinale* R. BR.) (Woodruff 1974). *Microtheca ochroloma* es considerada una de las plagas más importantes de cultivos en la familia Brassicaceae (crucíferas). Bosq (1938) reportó la destrucción de 500 ha de nabo por este insecto en Argentina. El principal compuesto químico presente en crucíferas son los glucosinolatos de mostaza (Hicks 1974), posiblemente por esto es atraído la *M. ochroloma*. Chamberlin y Tippins (1948) demostraron que los hospederos preferidos por *M. ochroloma* son el nabo y la mostaza, comparado con otras especies.

Los adultos de *M. ochroloma* son de color negro con una banda amarilla en el extremo de los élitros y miden aproximadamente 5 mm de largo (Woodruff 1974). Las hembras dejan huevos de color anaranjado en la base de las plantas, en el suelo, en lugares estrechos y en hojas secas (Bowers 2003). Las larvas son de color gris oscuro, se alimentan del follaje y empupan en el follaje seco o en el suelo. Antes de empupar, las larvas construyen una red a su alrededor, que es adherida a la hoja de la planta. La pupa se desarrolla dentro de la red. El ciclo de vida de huevo a adulto es de 22 días a 27°C y 50% humedad relativa (HR) (Oliver y Chapin 1983).

En el año 2001, agricultores reportaron infestaciones de *M. ochroloma* en campos de nabo y mostaza en los condados de Jefferson, León y Charlotte en Florida (Bowers 2003). Las larvas y los adultos de *M. ochroloma* se alimentan agresivamente del follaje y el tubérculo, causando pérdidas en el cultivo de nabo. Debido a las infestaciones severas de esta plaga, los agricultores han visto la necesidad de modificar las prácticas de manejo de sus cultivos, las cuales comprenden reducir o eliminar completamente los cultivos más vulnerables a *M. ochroloma* (Bowers 2003).

Mientras el control de esta plaga en cultivos convencionales se realiza con insecticidas sintéticos, los agricultores orgánicos cuentan con menos herramientas para su control. Las estrategias de control incluyen uso de control biológico y rotación de cultivos. Estudios en campos de mizuna (*Brassica rapa nipposinica* L.) revelaron que las poblaciones de *M. ochroloma* varían de acuerdo con la ubicación de las plantas. Las plantas localizadas en el

interior del campo de cultivo presentaban mayor número de individuos comparado con aquellas localizadas al borde del cultivo (Bowers 2003).

Bowers (2003) reportó tres razones por la cual *M. ochroloma* es una plaga en Florida durante la primavera: a) la época de siembra de crucíferas coincide con la etapa de crecimiento del insecto (octubre – mayo); b) las probabilidades de heladas ($<0^{\circ}$ C) durante esta temporada son muy bajas para afectar negativamente a *M. ochroloma* o al cultivo; y c) no se ha reportado la existencia de depredadores o parásitos para el control biológico de *M. ochroloma*.

Las poblaciones de *M. ochroloma* incrementan durante el invierno y primavera (diciembre a mayo) y disminuyen durante el verano (junio a octubre) en Florida. Este incremento de las poblaciones en el invierno puede ser relacionado, en parte, a la mayor disponibilidad del nabo y a la tolerancia a temperaturas frías. En el caso de insectos exóticos subtropicales, la adaptación a bajas temperaturas puede facilitar su establecimiento en zonas templadas. En este estudio se determinó el estado de *M. ochroloma* más resistente al frío y el tiempo requerido a bajas temperaturas para causar mortalidad en las poblaciones de *M. ochroloma*. Esta información fue utilizada para pronosticar las zonas en Estados Unidos de donde se pueda establecer *M. ochroloma*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El mantenimiento de las colonias y los experimentos fueron realizados en el Indian River Research and Education Center de la Universidad de Florida en Fort Pierce.

2.1 MANTENIMIENTO DE PLANTAS

Semillas de nabo [variedad Seven Top (Greens)] fueron sembradas bajo condiciones de invernadero. Plántulas fueron trasplantadas a un medio de cultivo (Fafard[®] germination mix, Agawam, Massachusetts, EEUU) y mantenidas en macetas de 20 cm de diámetro. Las plantas fueron fertilizadas con fertilizante líquido Miracle Grow[®] (15N-30P-15K) e irrigadas cuando era necesario.

2.2 MANTENIMIENTO DE INSECTOS

Adultos de *M. ochroloma* fueron colectados en enero de 2010 de una granja orgánica localizada en el condado de Indian River, Florida (27°38'31" N, 80°23'28" O). Esta granja mantiene varios vegetales para consumo humano y el manejo de plagas es totalmente orgánico. Los adultos fueron mantenidos en cajas de cría (27 × 15 × 8 cm, Ziploc[®]) con hojas de nabo. Las hojas fueron remplazadas cada tres días, y los huevos fueron colectados en el mismo tiempo. Cuando se cosechaban los huevos se hacía limpieza a las cajas de cría, y se colocaban nuevos papeles envueltos (Kimwipes[®]) para la cosecha de los mismos. Las colonias fueron mantenidas en cámaras de incubación (Percival Scientific, Inc. Perry, Iowa, EEUU) a 25° C, 60% HR y 10:14 horas de luz: sombra. Los huevos usados para los experimentos fueron recolectados usando un pincel.

2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los estados de *M. ochroloma* utilizados fueron huevos, larvas (1^{er} estadio y 4^{to} estadio), pupas y adultos. Estos estados fueron colocados en platos Petri de 2.5 cm de diámetro, con una hoja de nabo de 1 × 1 cm y un papel filtro humedecido en la base. Los platos Petri fueron sellados con Parafilm[®]. Los estados de *M. ochroloma* fueron expuestos a 5, 0 y -5° C con períodos de exposición de 4, 8, 16, 20, 24 y 30 días a cada temperatura, a total oscuridad y 60% HR. Los insectos fueron aclimatados gradualmente desde 20° C hasta 5° C por intervalos de 5° C por día). Una vez concluido el período de exposición, los insectos fueron colocados a 24° C por 24 horas para evaluar su sobrevivencia. Se confirmó la sobrevivencia de adultos y larvas observando el movimiento las patas o

antenas, los huevos mediante eclosión luego de 10 días y las pupas mediante emergencia de adultos luego de 7 días.

El experimento consistió de 90 tratamientos (tres temperaturas, cinco estados de *M. ochroloma* y seis períodos de exposición). Cada tratamiento fue replicado cinco veces y cada replica contenía 10 individuos.

2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El tiempo letal requerido para que muera el 50% (TL₅₀) y el 90% (TL₉₀) de los insectos fue estimado con la función PROC PROBIT (SAS Institute 1999). Para detectar diferencias entre estadios y temperaturas se compararon los tiempos letales (TL) con sus intervalos de confianza; al cruzarse sus intervalos de confianza no existe diferencia estadística.

3. RESULTADOS

Microtheca ochroloma fue altamente resistente al frío. La sobrevivencia de los estadios disminuyó a medida que la temperatura bajó (Cuadro 1). Sólo se encontró mortalidad a 5° C en el TL₅₀ en larvas de primer estadio y en pupas, con 6.5 y 20.6 días, respectivamente. El TL₉₀ para los estados de larva de primer estadio y la pupa fue de 18.9 y >30 días, respectivamente. Los huevos, adultos y larvas de cuarto estadio sobrevivieron a 5° C (Cuadro 1).

El TL₅₀ para para adultos a 0° C fue 19.4 días, seguido por huevos, larvas de cuarto estadio y pupas, con 13.2, 9.9 y 10.1 días, respectivamente. Sin embargo, mediante separación de medias los datos anteriores mostraron ser estadísticamente iguales. El estado más susceptible a TL₅₀ fue la larva de primer estadio, con 4.9 días (Cuadro 1).

El TL₉₀ para 0° C siguió un patrón parecido al TL₅₀ mostrando que el huevo y la pupa son los estados más resistentes; al ser mayores de 30 días el modelo no mostró mortalidad (Cuadro 1). No existió diferencia estadística entre adultos y larvas de cuarto estadio. El estadio más susceptible fue la larva de primer estadio.

El huevo fue el estado más resistente a -5° C, con un TL₅₀ de 6.4 días. El siguiente estado más resistente fue el adulto, con un TL₅₀ de 3.2 días. La pupa tuvo un TL₅₀ de 2.4 días. No existió diferencia estadística para los estados más susceptibles, *i. e.*, la larva de primer estadio y la larva de cuarto estadio con TL₅₀ de 0.5 y 0.9 días, respectivamente (Cuadro 1).

Los valores de TL₉₀ a -5° C indican que el huevo fue el estado más resistente, seguido de la pupa. No existieron diferencias estadísticas entre adulto, larva de primer estadio y larva de cuarto estadio.

Mediante regresiones logísticas, se predice el tiempo requerido para que muera el 50 y 90% de la población a diferentes temperaturas (Figuras 1-5). La sobrevivencia de los huevos decreció con el incremento del periodo de exposición (Figura 1).

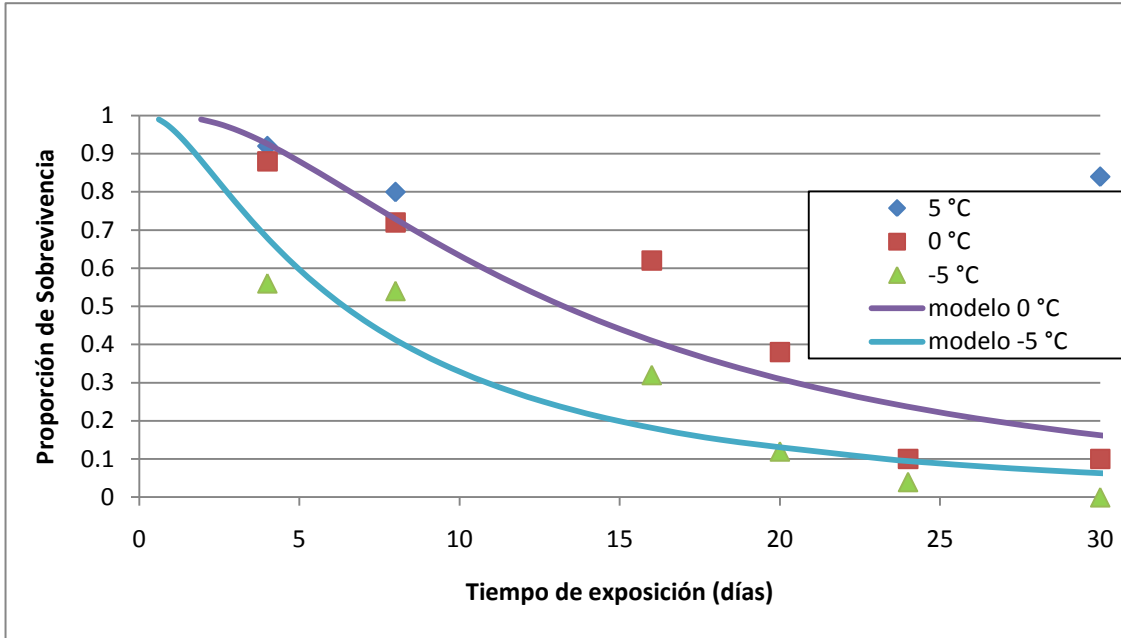


Figura 1. Supervivencia de huevos de *Microtheca ochroloma* con seis tiempos de exposición y tres temperaturas. Las líneas muestran el valor de regresión logística. Los puntos son los valores observados.

Las pupas al igual que los huevos muestran tendencias parecidas a 5, 0 y -5 °C. El modelo predijo un alto nivel de supervivencia a 0 y 5 °C. A -5 °C la pendiente de la curva es mayor y muestra una mortalidad de 100% a los 20 días (Figura 2).

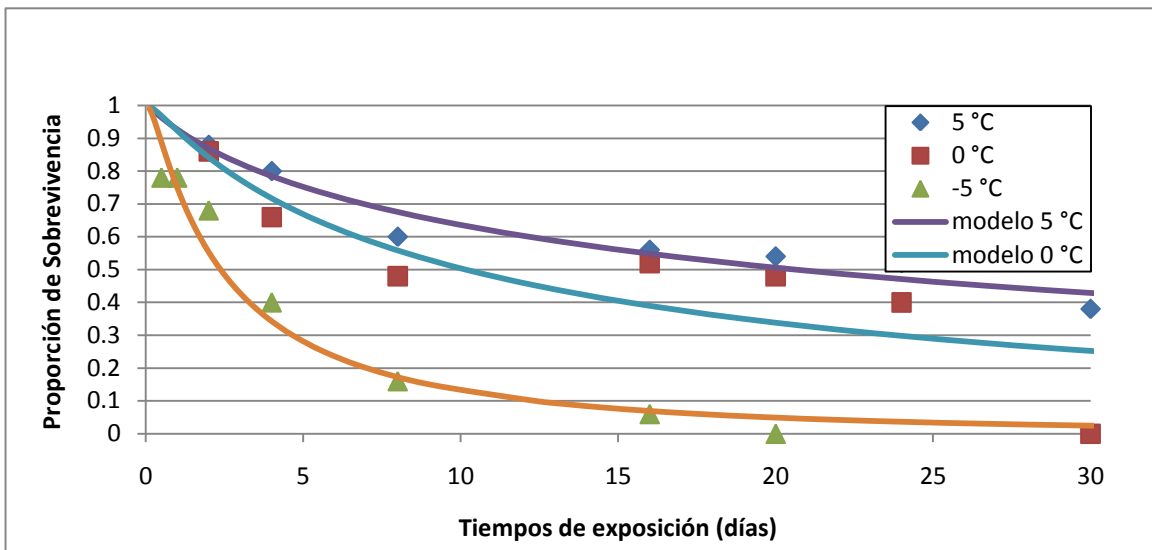


Figura 2. Supervivencia de pupas de *Microtheca ochroloma* con seis tiempos de exposición y tres temperaturas. Las líneas muestran el valor de regresión logística. Los puntos son los valores observados.

La sobrevivencia de los estados móviles, como las larvas de primer y cuarto estadio, y los adultos, fue similar en los diferentes modelos. En general se observa una mortalidad más drástica en periodos cortos de exposición a -5°C comparado con 5°C (Figura 3-5).

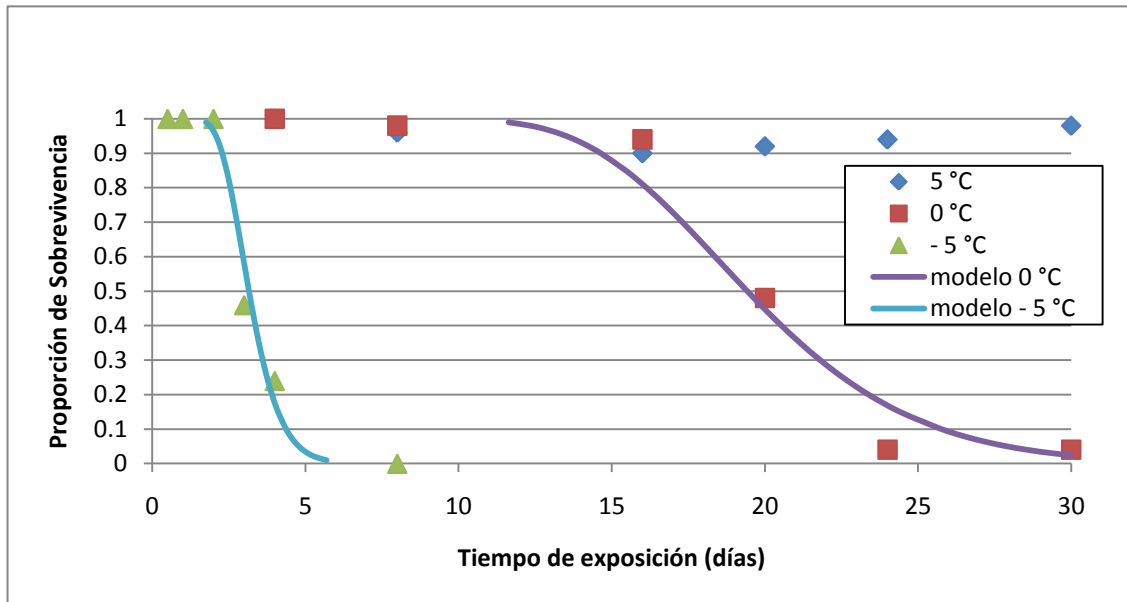


Figura 3. Sobrevivencia de adultos de *Microtheca ochroloma* con seis tiempos de exposición y tres temperaturas. Las líneas muestran el valor de regresión logística. Los puntos son los valores observados.

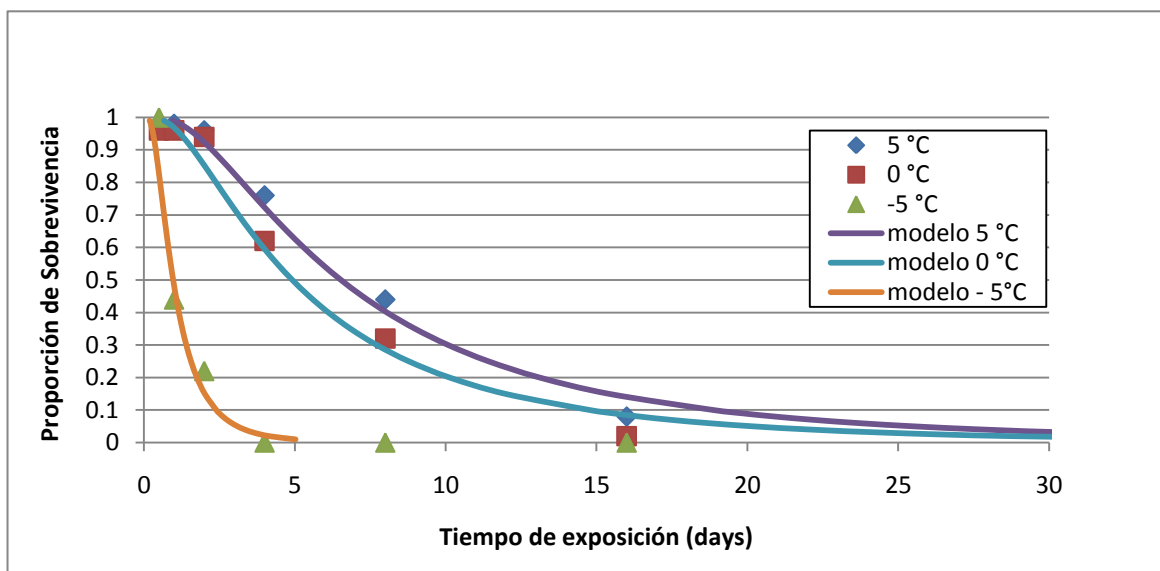


Figura 4. Sobrevivencia de larvas de primer estadio de *Microtheca ochroloma* con seis tiempos de exposición y tres temperaturas. Las líneas muestran el valor de regresión logística. Los puntos son los valores observados.

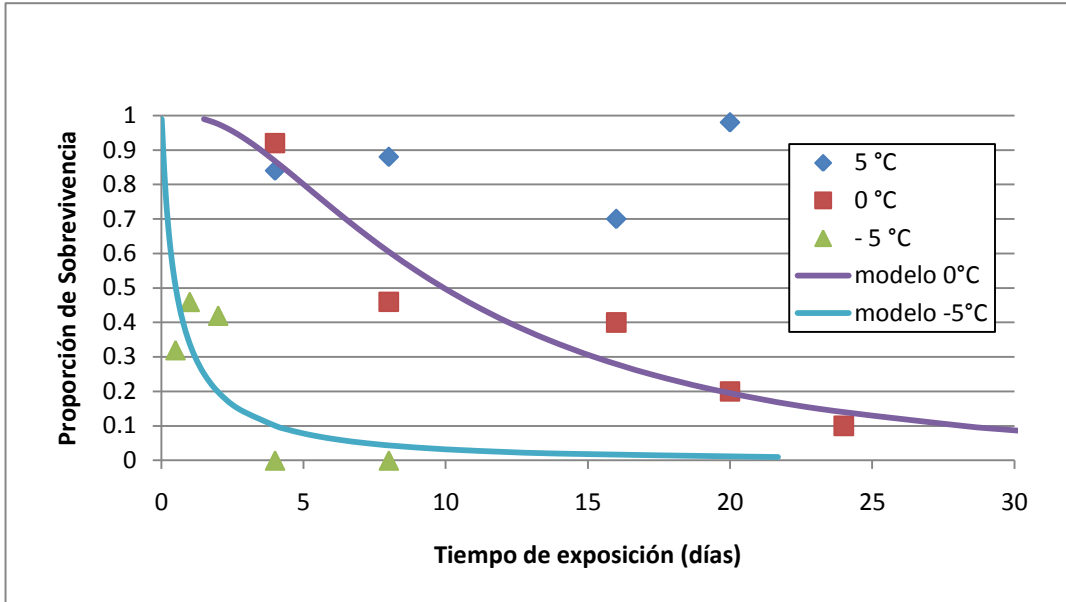


Figura 5. Supervivencia de larvas de cuarto estadio de *Microtheca ochroloma* con seis tiempos de exposición y tres temperaturas. Las líneas muestran el valor de regresión logística. Los puntos son los valores observados

Los valores de TL_{50} y TL_{90} de huevo a $0^{\circ}C$ fueron utilizados para crear líneas isotérmicas con 13.2 y 38.2 días, respectivamente. Este insecto puede establecerse al norte del estado de Carolina del Norte y en los estados centrales de Tennessee e Illinois (Figura 6). Esto coincide con los lugares donde el insecto ha sido reportado y ha causado daños a cultivos de crucíferas. Mediante este gráfico se puede proponer áreas de cultivos para brassicas, el frío cortaría el ciclo de vida de *M. ochroloma* y no podrá establecerse. (Figura 6).

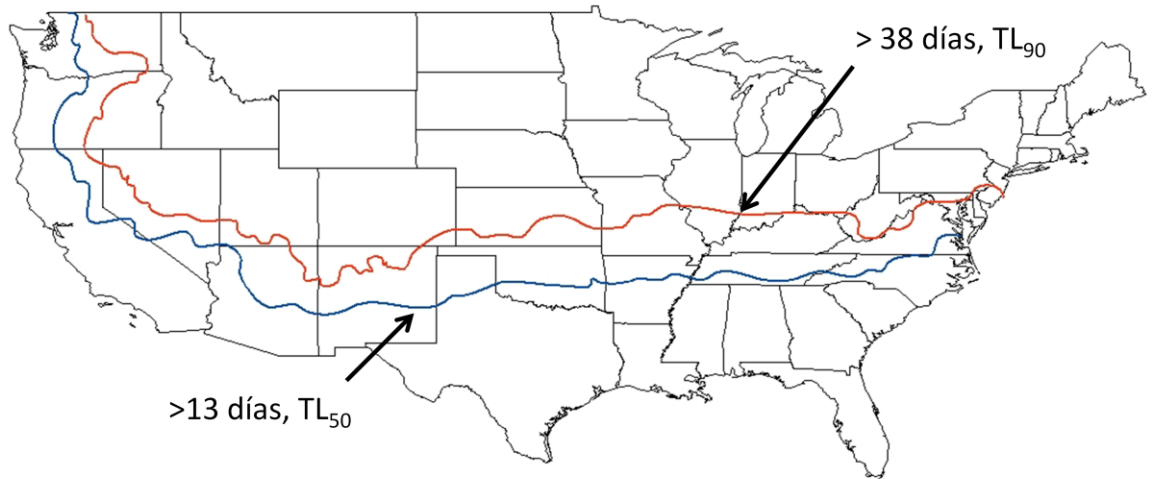


Figura 6. Líneas isotérmicas mostrando el tiempo letal donde muere el 50 (TL_{50}) y 90 (TL_{90}) % de la población a 0°C . Los datos de temperatura fueron obtenidos de la base de datos NAPPFAST.

Cuadro 1. Tiempo requerido para alcanzar el 50 y 90% de mortalidad (TL₅₀ y TL₉₀) a 5, 0 y -5° C de *Microtheca ochroloma*. Letras diferentes en la misma columna muestran diferencia estadística por (de) estadio por temperatura. Al cruzarse sus intervalos de confianza no existe diferencia estadística.

Temperatura (°C)	Estado	<i>n</i>	Pendiente (SE)	TL ₅₀ (días) (95% IC)	TL ₉₀ (días) (95% IC)	X ²
5	Huevo	300	NA ¹	NA	NA	NA
	1° estadio	300	2.78 (0.29)	6.5 (5.5-7.8) a	18.9 (14.6-27.2)a	93.0
	4° estadio	200	NA	NA	NA	NA
	Pupa	350	1.10 (0.19)	20.6 (15.3-31.7)b	- ²	34.8
	Adulto	300	NA	NA	NA	NA
	0	Huevo	300	2.78 (0.31)	13.2 (11.5-15.1)b	-
1° estadio		300	2.68 (0.26)	4.9 (4.2-5.8) a	14.8 (11.5-20.8)a	108.1
4° estadio		250	2.82 (0.34)	9.9 (8.4-11.5) b	28.2 (22.9-38.4)b	69.4
Pupa		350	1.42 (0.19)	10.1 (8.0-12.7)b	-	58.0
Adulto		300	10.44 (1.19)	19.4 (18.4-20.4)c	25.8 (24.2-28.1)b	77.6
-5	Huevo	300	2.29 (0.29)	6.4 (4.9-7.8) d	23.3 (18.8-31.5)c	64.3
	1° estadio	300	4.49 (0.54)	0.9 (0.7-1.2) a	2.4 (2.0-3.4) a	69.6
	4° estadio	250	1.43 (0.25)	0.5 (0.3-0.7) a	4.0 (2.8-7.9) a	32.1
	Pupa	350	1.80 (0.16)	2.4 (1.9-2.9) b	12.3 (9.2-18.2) b	120.9
	Adulto	300	9.11 (1.31)	3.2 (3.0-3.4) c	4.4 (4.0-5.0) a	48.5

¹ NA significa que los individuos no mueren según el modelo

² El modelo pronosticó sobrevivencia después de los 30 días de exposición.

4. DISCUSIÓN

Microtheca ochroloma es resistente al frío y puede sobrevivir temperaturas invernales presentes en los estados centrales de Estados Unidos. Las etapas de vida con mayor resistencia al frío fueron los estados inmóviles, el huevo y la pupa. Los estados inmóviles consumen menos energía debido a su inmovilidad y su baja actividad metabólica. Adicionalmente, los huevos y las pupas de *M. ochroloma* son encontrados usualmente en el suelo y en las hojas secas que proporcionan microclimas favorables para resistir las heladas. Gustin (1983) reportó resultados similares en donde los huevos de *Diabrotica longicornis* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae) son altamente resistentes al frío, sobreviviendo hasta 42 días a -10°C . Por el contrario, Lapointe et al. (2007) reportaron que el estado de huevo de *Diaprepes abbreviatus* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) es el más susceptible al frío.

Los insectos en zonas subtropicales y templadas poseen adaptaciones para resistir temperaturas invernales o la falta de alimento (Pullin 1996). La acumulación de grasa corporal, los compuestos anticongelantes y la migración a zonas de hibernación son reportadas como las estrategias fisiológicas y de comportamiento durante el invierno (Bale 1987, Pullin 1996). No se ha estudiado la tolerancia al frío en el género *Microtheca*. En la familia Chrysomelidae se han hecho varios estudios mostrando diferentes resultados. Watanabe y Tanake (1998) realizaron estudios en *Alacaphora nigripennis* (M.) donde los adultos mostraron 100% de mortalidad a 0°C . Otro estudio presentó resultados totalmente diferentes en donde adultos de *Stilodes decemlineata* (Say) puede sobrevivir más de 1 día a -7°C en diapausa (Boiteau y Coleman 1996).

Las líneas isotermales demostraron que *M. ochroloma* se puede establecer en Carolina del Norte, Illinois y Tennessee. Estos estados coinciden con la distribución de *M. ochroloma* reportada en la literatura y colecciones de insectos (R. Diaz comunicación personal). La distribución de *M. ochroloma*, basada en las líneas isotermales sugiere que las crucíferas se pueden sembrar en la región norte de Carolina del Norte y en Kansas, en donde las temperaturas invernales puede llegar a -5°C por varios días y de esta manera ejercer una alta mortalidad a poblaciones de *M. ochroloma*.

Las altas poblaciones de *M. ochroloma* presentes en la primavera en Florida pueden ser atribuidas a una baja mortalidad durante el invierno. El promedio de temperatura durante diciembre, enero y febrero es 23° C. Temperaturas bajo 0° C en Florida son infrecuentes y generalmente ocurren por unas pocas horas durante el día. Por lo cual el ciclo de vida de *M. ochroloma* no se interrumpe y las poblaciones crecen rápidamente al momento de la siembra del cultivo.

En resumen, *M. ochroloma* es altamente resistente al frío. Zonas templadas en los Estados Unidos en la cuales se cultiva plantas de la familia Brassicaceae pueden estar en peligro por presencia de este insecto. Bajas temperaturas durante tiempos prolongados cortarán el ciclo de vida de este insecto. Se debe considerar esto para la siembra de estos cultivos en el centro de Estados Unidos. Estudios futuros podrían investigar el efecto de la temperatura y el fotoperiodo en la reproducción de *M. ochroloma*.

5. CONCLUSIONES

- ▶ El Estadio más susceptible al frío fue la larva de primer instar, el estadio más resistente al frío fue el huevo
- ▶ La distribución del insecto muestra aéreas susceptibles para cultivos de crucíferas, estados como Texas, Alabama, Mississippi y Carolina del Norte pueden ser infestados por esta plaga
- ▶ El frío puede cortar el ciclo de vida del insecto y reducir poblaciones, insectos de zonas subtropicales poseen adaptaciones para resistir temperaturas bajas

6. RECOMENDACIONES

Realizar el estudio teniendo en cuenta si el fotoperiodo influye en la cantidad de días que para que llegue a TL₅₀ y TL₉₀.

7.LITERATURA CITADA

- Bale, J. S. 1987 Insect cold hardiness: Freezing and super cooling-an ecophysiological perspective. *Journal of Insect Physiology* 33(12): 899-908
- Boiteau, G., Coleman, W. 1996. Cold tolerance in the Colorado potato beetle *Leptinoptarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *The Canadian Entomologist* 128: 1087–1099
- Bosq, J. M. 1938. Notas sobre insectos argentinos perjudiciales a la agricultura. *Revista Argentina de Entomología* 1: 101–102.
- Bowers, K. 2003. Effects of within-field location of host plants and intercropping on the distribution of *Microtheca ochroloma* (Stål) in mizuna. M.S. thesis. University of Florida. Gainesville, Florida.
- Chamberlin, F. S., Tippins, H. H. 1948. *Microtheca ochroloma*, an introduced pest of crucifers, found in Alabama. *Journal of Economic Entomology* 41: 979–980.
- Gustin, R. 1983. *Dibrotica logicornis barberi* (Coleoptera:Crysomelida) Cold tolerance of eggs. *Environmental Entomology* 12: 633-634
- Hicks, K. L. 1974. Mustard oil glucosides: Feeding stimulants for adult cabbage flea beetles *Phyllotreta cruciferae* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America* 67: 261–264.
- Lapointe, S. L., Borchert, D. M., Hall, D. G. 2007. Effect of low temperatures on mortality and oviposition in conjunction with climate mapping to predict spread of the root weevil *Diaprepes abbreviatus* and introduced natural enemies. *Environmental Entomology* 36: 73-82.

NCSU/APHIS Plant Pest Forecast (NAPPFASST; <www.nappfast.org> system for climate- and weather-based risk mapping [with CIPM-NCSU]

Oliver, A. D., Chapin, J. B. 1983. Biology and distribution of the yellowmargined leaf beetle *Microtheba ochroloma* Stål, with notes on *M. picea* (Guerin) (Coleoptera: Chrysomelidae) in Louisiana. *Journal of the Georgia Entomologist Society* 18: 229-234.

Pullin, A.S. 1996. Physiological relationship between insect diapauses and cold tolerance: Co evolution or coincidence. *European Journal of Entomology* 93: 121-129

SAS Institute 1999. SAS/STAT User's guide. SAS Institute, Cary, North Carolina, Estados Unidos.

Watanabe, B., Tanaka, K. 1998. Adult diapause and cold hardiness in *Aulacophora nigripennis* (Coleoptera: Chrysomelidae) *Journal of Insect Physiology* 44: 1103–1110

Woodruff, R. E. 1974. A South American leaf beetle pest of crucifers in Florida (Coleoptera: Chrysomelidae). *Entomol. Cir.* 148. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, Gainesville, Florida.