

REVISTA NICARAGUENSE DE ENTOMOLOGIA

N° 217

Diciembre 2020

DETECCIÓN DE *BEAUVERIA BASSIANA* EN AGREGADOS DE
MACROHALTICA JAMAICENSIS (FABRICIUS, 1792)
(COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) ¿SON ESTOS AGREGADOS
REALMENTE UN MECANISMO EFECTIVO DE DEFENSA Y
REGULACIÓN MICROCLIMÁTICA CONTRA LOS HONGOS
ENTOMOPATÓGENOS?

Alonso Santos-Murgas, Luis Angel Jaén, Alfredo Lanuza-
Garay, Miguel A. Osorio-Arenas & Zarluis M. Mijango Ramos



PUBLICACIÓN DEL MUSEO ENTOMOLÓGICO
ASOCIACIÓN NICARAGÜENSE DE ENTOMOLOGÍA
LEÓN - - - NICARAGUA

La Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) es una publicación reconocida en la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (Red ALyC). Todos los artículos que en ella se publican son sometidos a un sistema de doble arbitraje por especialistas en el tema.

The Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) is a journal listed in the Latin-American Index of Scientific Journals. Two independent specialists referee all published papers.

Consejo Editorial

Jean Michel Maes
Editor General
Museo Entomológico
Nicaragua

Fernando Hernández-Baz
Editor Asociado
Universidad Veracruzana
México

José Clavijo Albertos
Universidad Central de
Venezuela

Silvia A. Mazzucconi
Universidad de Buenos Aires
Argentina

Weston Opitz
Kansas Wesleyan University
United States of America

Don Windsor
Smithsonian Tropical Research
Institute, Panama

Fernando Fernández
Universidad Nacional de
Colombia

Jack Schuster
Universidad del Valle de
Guatemala

Julieta Ledezma
Museo de Historia Natural "Noel
Kempf"
Bolivia

**Olaf Hermann Hendrik
Mielke**
Universidade Federal do
Paraná, Brasil

Foto de la portada: *Macrohaltica jamaicensis* (foto Alonso Santos-Murgas).

DETECCIÓN DE *BEAUVERIA BASSIANA* EN AGREGADOS DE
MACROHALTICA JAMAICENSIS (FABRICIUS, 1792)
(COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) ¿SON ESTOS AGREGADOS
REALMENTE UN MECANISMO EFECTIVO DE DEFENSA Y
REGULACIÓN MICROCLIMÁTICA CONTRA LOS HONGOS
ENTOMOPATÓGENOS?

Alonso Santos-Murgas^{1,4}, Luis Angel Jaén^{2,4}, Alfredo
Lanuza-Garay^{1,3,4}, Miguel A. Osorio-Arenas^{1,5,6} & Zarluis M.
Mijango Ramos⁷

RESUMEN

Con el objetivo de detectar la presencia de hongos entomopatógenos que atacan los agregados del escarabajo de las hojas *Macrohaltica jamaicensis* (Galerucinae: Alticini), se realizaron observaciones de estos agregados, en plantas de *Gunnera insignis*, ubicadas a orilla del camino Oleoducto, en el Bosque Protector Palo Seco, Provincia de Bocas del Toro, Panamá, durante 10 días. Se colectaron cuatro individuos de *M. jamaicensis* que mostraron signos de infección por una especie de hongo entomopatógeno, identificado como *Beauveria bassiana*. Esto abre la discusión en torno a los planteamientos de Eberhard y colaboradores sobre la efectividad defensiva de los agregados observados en *Macrohaltica* ante el ataque de patógenos y depredadores, así como la óptima adecuación del microclima dentro del agregado y su posible efecto en la tasa de infección por *Beauveria*.

¹Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología, Museo de Invertebrados G. B. Fairchild. ²Departamento de Genética y Biología Molecular. ³Centro Regional Universitario de Colón. ⁴Sociedad Mesoamericana Para la Biología y La Conservación, Capítulo de Panamá. ⁵Centro Regional Universitario de Azuero. ⁶Laboratorio de Entomología Experimental-GIEP, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. ⁷Master's Student at University of Illinois at Urbana Champaign (UIUC), Plant Biology Department.

E-mails: Alonso Santos-Murgas: alonso.santos@up.ac.pa y santosmurgasa@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9339-486X>. Luis Angel Jaén: luisangeljaen@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9374-8741>. Alfredo Lanuza-Garay: alfredo.lanusa@up.ac.pa
<https://orcid.org/0000-0003-0480-5490>. Miguel A. Osorio-Arenas: miguel-a.osorio@up.ac.pa
<https://orcid.org/0000-0002-6215-553X>. Zarluis M. Mijango Ramos: zmr0618@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8105-5107>.

ABSTRACT

In order to detect the presence of entomopathogenic fungi that attack the aggregates of the leaf beetle *Macrohaltica jamaicensis* (Galerucinae: Alticini), observations of these aggregates were made for 10 days in *Gunnera insignis* plants on the edge of the Pipeline road, in the Forest Palo Seco Protector, Bocas del Toro Province, Panama. Four individuals of *M. jamaicensis* were collected showing signs of infection of the entomopathogenic fungus identified as *Beauveria bassiana*. This finding opens the discussion around the proposals of Eberhard and collaborators on the defense effectiveness of the aggregates observed in *Macrohaltica* against the attack of pathogens and predators, as well as the optimal adaptation of the microclimate within the aggregate and its possible effect on the infection rate by *Beauveria*.

INTRODUCCIÓN

Los escarabajos del género *Macrohaltica* Bechyné (1959) (Galerucinae, Alticini), se distribuyen a través de América Central y América del Sur (Balcells, 1975), típicamente asociados a vegetación herbácea presente en hábitats alterados, aunque algunas especies parecen estar restringidas a los bosques nubosos de montaña.

Tanto las formas inmaduras como los adultos se alimentan sobre la superficie de las hojas de *Muehlenbeckia* y *Polygonum* (Polygonaceae), *Sida* (Malvaceae), *Epilobium*, *Jussiaea* (=Ludwigia), *Oenothera*, (Onagraceae), *Ipomoea* y *Convolvulus* (Convolvulaceae) y *Gunnera* (Gunneraceae) (Santisteban, 2006).

Gunnera insignis es la única especie reportada para Panamá de este género (Woodson & Schery, 1959), donde *Macrohaltica* muestra una mayor afinidad (Jolivet, 2003; Hanson y Nishida, 2016), desarrollando un comportamiento de agregación -descrito como "lekking"-, en el que una gran cantidad de individuos se alimentan de la misma planta, para posteriormente trasladarse al próximo huésped de manera concertada (Eberhard *et al.*, 1993).

Aunque este fenómeno se observa en diferentes grupos de artrópodos (Monje-Nájera, 2019), en Chrysomelidae es más común en formas inmaduras, determinado por múltiples aspectos de funcionalidad (defensa, alimentación, termomodulación, construcción de nidos, reproducción, cuidado parental) (Santiago-Blay *et al.*, 2012).

En el caso de *Macrohaltica*, este llamativo comportamiento se observa en las formas adultas, pudiendo agregarse aproximadamente 5000 individuos (Eberhard *et al.* 1993). Aun cuando existen algunas hipótesis que intentan explicar el porque de estos enormes agregados (Eberhard *et al.* 1993; Monje-Nájera, 2019), ninguna ha sido extensamente estudiada ni mucho menos logran explicar la hipotética eficacia defensiva que confieren estos agregados ante el ataque de algunos enemigos naturales como hongos entomopatógenos.

En su mayoría, estos hongos pertenecen al orden Entomophthorales (clase Zygomycetes), y a las subdivisiones Ascomycotina y Deuteromycotina, destacándose que los primeros hongos entomopatógenos conocidos fueron especies del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833 (Sánchez *et al.* 2002). *Beauveria bassiana* es un hongo entomopatógeno ubicuo que se ha encontrado y aislado de una amplia variedad de insectos de diferentes órdenes (MacLeod 1954; Leatherdale 1970; Li 1988; Goettel *et al.*, 1990), registrándose más de 200 especies de insectos, principalmente Lepidoptera y Coleoptera como huéspedes recurrentes (Li, 1988). Durante el proceso de infección, el hongo infecta por medio de conidios (propágulos asexuales) la cutícula de los insectos. Una infección exitosa por *B. bassiana* depende principalmente de diversas actividades enzimáticas para la degradación de proteínas, quitina y lípidos en la interacción del insecto (Ferron *et al.*, 1991; Khachatourians, 1991).

Este trabajo tiene como objetivo detectar la presencia de *Beauveria bassiana* en agregados de *Macrohaltica jamaicensis* en la Reserva Bosque Protector de Palo Seco, ubicada en la provincia de Bocas Del Toro, Panamá. Además, se evalúa la efectividad de los agregados de esta especie de escarabajo para contrarrestar la infección por hongos entomopatógenos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron observaciones por un periodo de 10 días consecutivos, del 3-13 de marzo de 2019, a orillas de la carretera del Oleoducto, dentro del Bosque Protector de Palo Seco, ubicado en el Distrito de Changuinola, Provincia de Bocas Del Toro, Panamá, registrándose en las coordenadas 8° 78' 51.83" N y 82° 21' 42.65" O, a una altitud de 1172 m.s.n.m. con apoyo de un geoposicionador GARMIN GPS MAP 62s (Fig. 1A), donde ubicamos 15 plantas de *Gunnera insignis* (Fig. 1B-D) en un transecto de 5 km.



Figura 1: A. Ubicación de sitio de estudio, **B.** Habitus de *G. insignis* sin evidencias de herbivoría, **C.** Inflorescencia masculina de *G. insignis*.



Figura 1: D. Inflorescencia femenina de *G. insignis*.



Figura 2-Individuos de *M. jamaicensis* infectados con *B. bassiana*: **A.** Sobre inflorescencia de *G. insignis*, **B.** Macho de *M. jamaicensis* sobre la cara abaxial de la hoja.

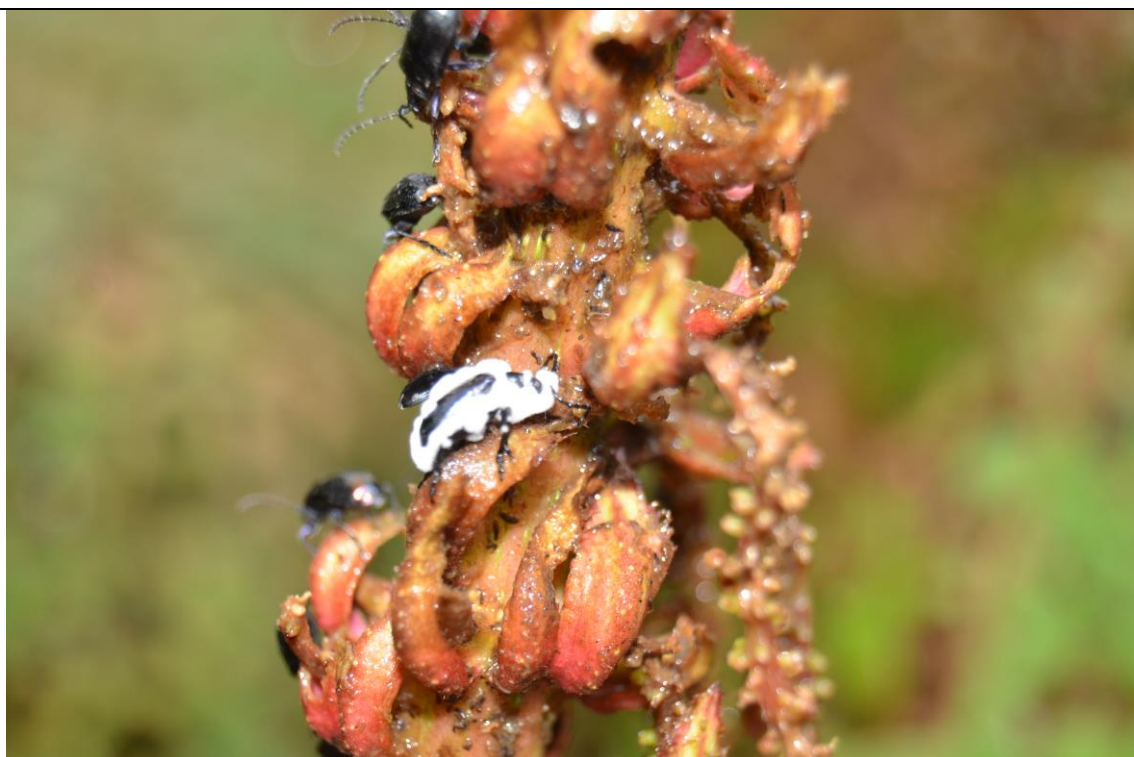


Figura 2-Individuos de *M. jamaicensis* infectados con *B. bassiana*: C. Hembra de *M. jamaicensis* sobre la inflorescencia de *G. insignis*.

Se registró la presencia de agregados compuestos por estadios inmaduros y adultos de *Macrohaltica jamaicensis* en búsqueda de parasitoides, depredadores o la presencia de infección visible por patógenos (hongos, bacterias). Durante las observaciones se hallaron cuatro individuos adultos (macho y hembra en relación 1:1) de *M. jamaicensis* con notable infección por hongos entomopatógenos (Fig. 2 A-C), los cuales fueron recolectados en envases individuales esterilizados, además de parte de la hoja de *Gunnera* donde se encontraban estos escarabajos, para luego ser trasladados a las instalaciones de la Universidad de Panamá, para su aislamiento en el laboratorio.

Para el aislamiento de las cepas de hongos se tomó un pequeño segmento de hifa que se sembró en medio PDA (Agar de Dextrosa y Papa) más ácido tartárico 10% siguiendo el método sugerido por Walker & White (2005). Las cepas de hongos se identificaron mediante evaluación de los aspectos morfológicos como diámetro, color y textura micelar; así como características microscópicas, las cuales se observaron al microscopio óptico en dos tipos de preparaciones: (a) fragmentos de colonia entre portaobjetos y cubreobjetos (Booth, 1971; Hawksworth, 1974); y (b) microcultivos (Rivalier, 1932). La identificación del hongo se realizó, utilizando la clave de Barnett & Hunter (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento observado en el agregado estudiado sobre *Gunnera insignis*, evidenció consumo agresivo, devorando toda la estructura foliar de las hojas, excepto las nervaduras de las hojas (Fig. 3 A- E). Al igual que lo observado por Eberhard, *et al.*, (1993), por lo general había poca o ninguna actividad de vuelo cerca de los agregados, incluso durante la intensa luz y calor del día. Atribuimos esta poca movilidad de *M. jamaicensis* a la cantidad de recurso alimenticio disponible (tamaño promedio de las hojas de *G. insignis* >1 m de diámetro), y presumiblemente a un ritmo más lento de alimentación asociado a la textura de la hoja; como la parte mas nutritiva y en mayor tamaño vs cantidad de individuos por agregados de *M. jamaicensis*. Basándonos en los principios de la selección natural mediada por los herbívoros, dependerá del valor nutricional de estas fuertes hojas, de la intensidad y del tipo de daño producido (Dirzo 1984; Hendrix, 1988; Mauricio *et al.*, 1993; Lehtilä, 1999; Warner & Cushman, 2002; Valoy *et al.*, 2018).

Aunque no son claras las razones por las que *M. jamaicensis* forma estos agregados, Eberhard *et al.*, (1993) establece cuatro hipótesis no comprobadas para intentar explicar estos agregados, la primera hipótesis es que le facilita el apareamiento; la segunda que obtienen de la planta las defensas químicas; la tercera que esta especie al agregarse encuentra un óptimo y apropiado microclima durante todo su ciclo de vida; y cuarto, adquieren coloración más fuerte por agregación, facultándolos a tener coloración aposemática.

A pesar de todas estas hipotéticas ventajas que facilitarían las agregaciones de *Macrohaltica*, presenciamos la infestación en cuatro individuos por una especie de hongo entomopatogeno identificado como *Beauveria bassiana* (Fig 4 A-D). En las observaciones de Eberhard *et al.*, (1993), este hace mención del crecimiento de dos tipos de hongos en individuos observados en los agregados estudiados, uno atacaba exclusivamente las antenas de los escarabajos mientras el segundo era más generalista en las regiones del cuerpo que ataca, además señala que la segunda especie es más afín a ambientes húmedos, similares al sitio donde ubicamos el agregado estudiado (temperatura promedio entre 25° y 27° C, humedad relativa promedio 84.5%).



Figura 3. Patrones de herbivoría por adultos y formas inmaduras de *Macrohaltica jamaicensis* en *G. insignis*: **A.** En la cara abaxial de la hoja, **B.** En la cara adaxial de la hoja.



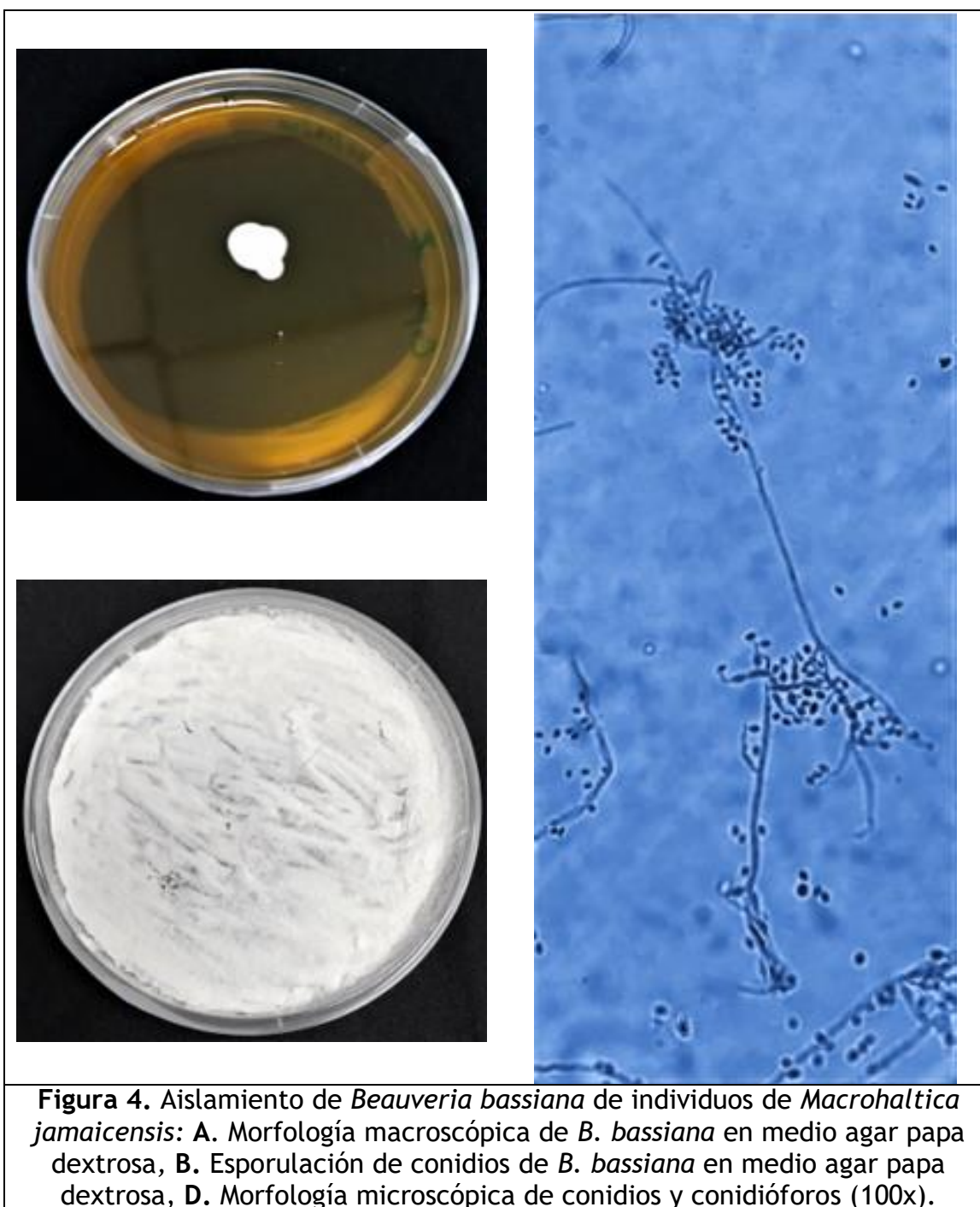
Figura 3. Patrones de herbivoría por adultos y formas inmaduras de *Macrohaltica jamaicensis* en *G. insignis*: **C.** En la cara abaxial de la hoja por larvas del tercer estadio, **D.** En la cara abaxial de la hoja por larvas de segundo estadio.



Figura 3. Patrones de herbivoría por adultos y formas inmaduras de *Macrohaltica jamaicensis* en *G. insignis*: E. Muerte de planta de *G. insignis* por exceso de herbivoría por *M. jamaicensis*.

Al observar la forma de ataque del entomopatógeno en nuestros especímenes, tanto en las antenas como en el resto del cuerpo, y tomando en cuenta que las esporas de estos hongos entomopatógenos tienen requerimientos específicos de humedad y temperatura, así como de otros factores ambientales que en conjunto funcionan como inductores para la activación de receptores presentes en el patógeno y que les permiten llevar a cabo el proceso infectivo sobre el hospedero (Hajek, 1997), podríamos concluir que una de las especies de hongos tratadas en dicho trabajo sería *Beauveria bassiana*.

En cuanto al espectro de ataque, *B. bassiana* ataca ambos sexos con igual facilidad, sin embargo, estos individuos infectados no se encontraban cerca del agregado donde sus individuos se mostraban en condición sana, sino hacia la periferia de la hoja o en otras estructuras de la planta, lo que nos indica que estas agregaciones pudieran ser mecanismos eficientes de protección comunitaria al ataque por agentes patógenos, lo que demuestra que la segunda hipótesis donde *M. jamaicensis* adquiere defensas químicas puede ser potencialmente efectiva, ya que no hubo depredadores de ningún individuo de escarabajos, mientras realizábamos las observaciones; pero no es concluyente para hongos entomopatógenos.



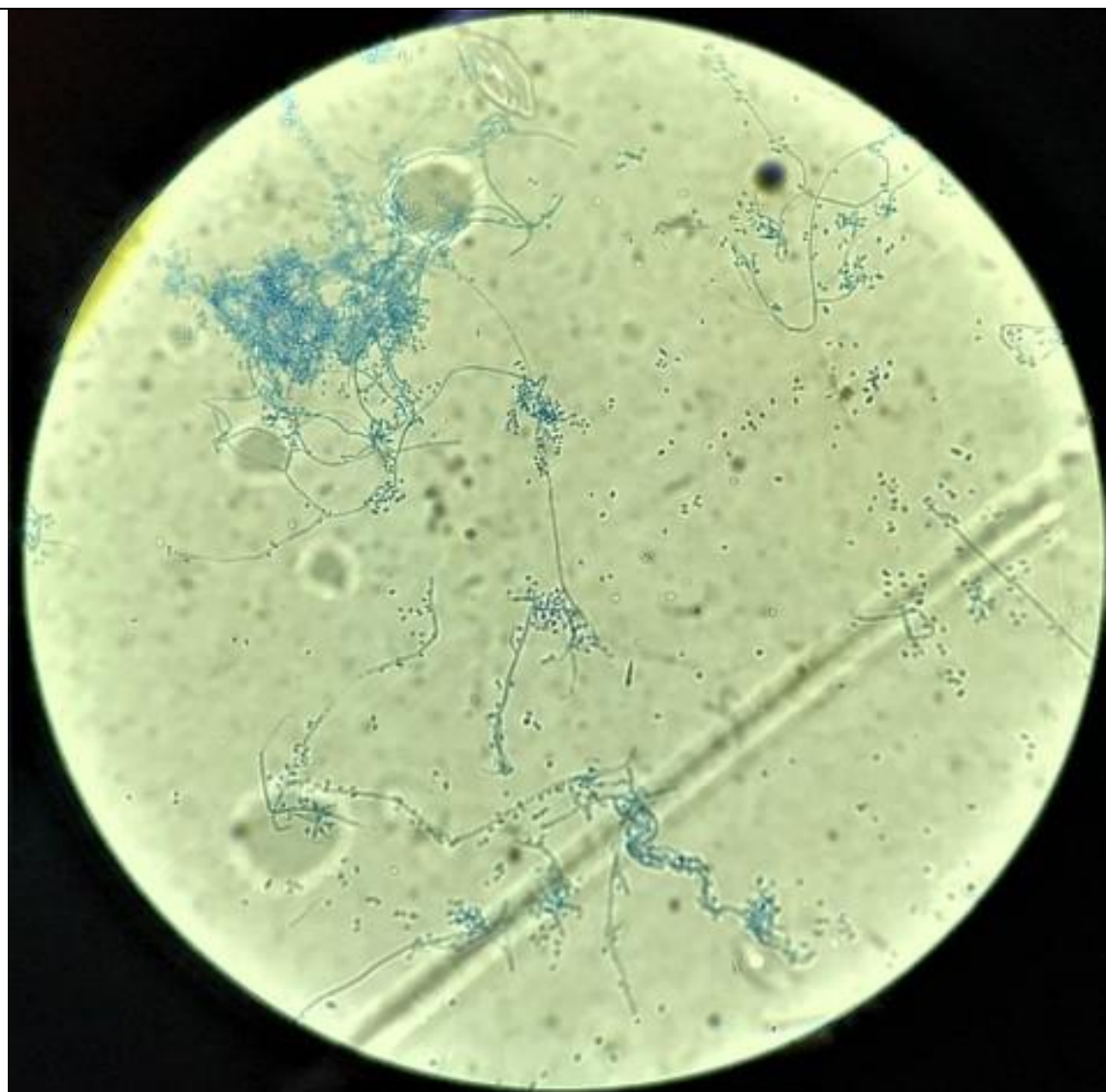


Figura 4. Aislamiento de *Beauveria bassiana* de individuos de *Macrohaltica jamaicensis*: C. Morfología microscópica de conidios y conidióforos (40x).

Además, Monge-Nájera, (2019) manifiesta que las agregaciones contribuyen a mantener los niveles adecuados de humedad y temperatura; consideramos que son factores que los puede ayudar a su desarrollo fisiológico u metabolismo, pero no a ser resistente a hongos patógenos. Estos factores abióticos pueden ser determinantes en el desarrollo germinativo e infección de *B. bassiana*.

Cabe destacar que, durante la penetración del hongo desde la cutícula del insecto hasta el hemocelo, la hifa queda inmersa en proteínas, quitina, lípidos, melanina, difenoles y carbohidratos; algunos de ellos son nutrimentos, pero otros pueden inhibir su crecimiento, ya que el insecto activa su sistema inmune a través de procesos como la melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento (St. Leger y Roberts, 1997).

Sin embargo, los hongos desarrollan una serie de actividades que les permiten evitar este tipo de defensas, tales como cambios en la pared celular y producción de sustancias inmunomodulatorias o toxinas fúngicas (Khachatourians, 1991), que puede ser otro factor biótico determinante en la infección causada por *B. bassiana* hacia *M. jamaicensis*.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Albert Thurman y su equipo de trabajo, en conjunto con los investigadores del McGuire Center for Lepidoptera and Biodiversity (Universidad de Florida, Estados Unidos) y del Museo Entomológico de la Universidad de Mississippi (Estados Unidos) por el apoyo durante las giras de observación en campo, tanto en las provincias de Chiriquí y Bocas Del Toro respectivamente.

BIBLIOGRAFIA

BALCELLS, E. 1975. Algunos aspectos biológicos y ecológicos de crisomélidos (Insectos, Coleópteros) defoliadores de plantas montaraces en territorios mediterráneos. *Anal. Inst. Bot. Cavanilles*. 32(2): 557-575.

BARNETT, H. L. & HUNTER, B.B. 1999. Illustrated genera of imperfect fungi (fourth edition). The American Phytopathological Society. Pilot Knob Road, St Paul, Minnesota, USA. 216.

BARRIE, F. 2009. *Gunnera* L. In G. Davidse, S. Sousa, S. Knapp, & F. Chiang, Flora Mesoamericana volumen 4, parte 1 Cucurbitaceae a Polemoniaceae (p. 855). Mexico: Universidad Nacional Autónoma de México; Missouri Botanical Garden; The Natural History Museum (London).

BURGOS-SOLORIO, A. & ANAYA-ROSALES, S. 2004. Los crisomelinos (Coleoptera: Chrysomelidae: Chrysomelinae) del Estado de Morelos. *Acta Zool. Mex.* 20(3): 39-66.

BOOTH, C. 1971. Introduction to general methods. In *Methods in Microbiology* 4 (ed. C. Booth), pp. 1-47. London & New York: Academic Press.

CASTILLO, C.E., CAÑIZALES, L.M., VALERA, R., GODOY, C., GUEDEZ, C., OLIVAR, R. & MORILLO, S. 2012. Caracterización Morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo-Venezuela. *Revista ACADEMICA*. ISSN 1690-3226-Julio-Septiembre. Volumen IX (23).

COTTON, R.T. 1917. Life history of *Haltica jamaicensis* Fabr. J. Dep. Agric. P.R., 1(3): 173-175.

DIRZO, R. 1984. Herbivory: a phytocentric overview. In R. Dirzo, & J. Sarukhán (Eds.), Perspectives on plant population ecology (pp. 141-165). Sunderland, USA: Sinauer Associates Inc.

EBERHARD, W., ACHOY, R., MARIN, C. & UGALDE, J. 1993. Natural history and behavior of two species of *Macrohaltica* (Coleoptera: Chrysomelidae) Psyche, 100: 93-119.

FERNANDEZ, H.D. 1984. Estudio anatómico y morfológico de *Gunnera insignis*. Revista de Biología Tropical, 32(2).

FERRON, P., FARGUES, J. & RIBA, G. (1991) Fungi as microbial insecticides against pests, in Handbook of Applied Mycology, Vol. 2 (ARORA, D.K., AJELLO, L. & MUKERJI, K.G., Eds) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 665-706.

GOETTEL, M.S., POPRAWSKI, T.J., VANDENBERG, J.D., LI, Z. & ROBERTS, D.W. 1990. Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. In: Laird M, Lacey L, Davidson EW, editors. Safety of microbial insecticides. Boca Raton, FL: CRC Press. pp 209-231.

GONZÁLEZ, F., & BELLO, M.A. 2009. Intra-individual variation of flowers in *Gunnera suggenus* Panke (Gunneraceae) and proposed apomorphies for Gunnerales. Botanical Journal of the Linnean Society, 160, 262-283.

HAJEK, A. 1997. Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. Adv. Microb. Ecol. 15: 193-249.

HANSON, P.E. & NISHIDA, K. 2016. Insects and Other Arthropods of Tropical America. Zona Tropical Publications, Cornell University Press. <https://www.jstor.org/stable/10.7591/j.ctvrf8c3f>

HAWKSWORTH, D.L. 1974. Mycologists Handbook. Kew, U.K.: CAB International Mycological Institute.

HENDRIX, S.D. 1988. Herbivory and its impact on plant reproduction. Plant Reproductive Ecology, 246-263

JOLIVET, P. 2003. Subaquatic Chrysomelidae. In: Furth, D. G. Editor. Special topics in leaf beetle biology. Proceedings of the Fifth International Symposium on the Chrysomelidae. 303-332.

KHACHATOURIANS, G. 1991. Physiology and genetics of entomopathogenic fungi, in Handbook of Applied Mycology, Vol. 2 (ARORA, D.K., AJELLO, L. & MUKERJI, K.G., Eds) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 613-663.

KHACHATOURIANS, G. 1996. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. En Howard DH, Miller JD (Eds.) The Mycota VI. Human and animal relationship. Springer. Berlin, Alemania. pp 331-364.

LEATHERDALE, D. 1970. The arthropod hosts of entomogenous fungi in Britain. Entomophaga 15:419-435.

LEGER, R. & ROBERTS, D. 1997. Engineering improved mycoinsecticides. Trends Biotechnol. 15: 83-87.

LEHTILÄ, K. 1999. Impact of herbivore tolerance and resistance on plant life histories. In T. Vuorisalo, & P. Mutikainen (Eds.), Life-history Evolution in Plants (pp. 303-328). Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

LI, Z. 1988. List on the insect hosts of *Beauveria bassiana*. In: Study and application of entomogenous fungi in China, Vol. 1. Beijing: Academic Periodical Press. pp 241-255 (in Chinese with Latin names and English summary).

MACHADO, G. & VASCONCELOS C., H.F. 1998. Multi-species aggregations in Neotropical harvestmen (Opiliones, Gonyleptidae). Journal of Arachnology, 26, 389-391.

MACLEOD, D.M. 1954. Investigations on the genera *Beauveria* Vuill. and *Tritirachium* Limber. Canadian Journal of Botany 32:818-890.

MAURICIO, R., BOWERS, M.D. & BAZZAZ, F.A. 1993. Pattern of leaf damage affects fitness of the annual plant *Raphanus sativus* (Brassicaceae). Ecology, 2066-2071.

MONGE NÁJERA, J. 2019. Harvestmen as a model to explain the aggregations of *Macrohaltica* beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). Columna Darwin In Memoriam. Revista de Biología Tropical. Universidad de Costa Rica

RIVALIER, E. & SEYDEL, S. 1932. Nouveau procede de culture sur lames gélosées appliqué a l'étude microscopique de champignons des teignes. Ann. Parasitol. 10:444-452.

SÁNCHEZ, P., MORILLO, F., CAETANO, F., ITURRIAGA, T., GUERRA, J. & MUÑOZ, W. 2002. Detección de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833 (Ascomycotina: Pyrenomycetes) sobre hormigas del género *Camponotus* Mayr, 1861 (Hymenoptera: Formicidae) en plantaciones de cacao de Barlovento, estado Miranda, Venezuela. *Entomotropica*, 17(2): 191-195.

SANTIAGO-BLAY, J.A., JOLIVET, P. & VERMA, K.K. 2012. A natural history of conspecific aggregations in terrestrial arthropods, with emphasis on cycloaexy in leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Terrestrial Arthropod Reviews* 5: 289-355

SANTISTEBAN, J. 2006. Taxonomic revisión of the genus *Macrohaltica* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae, Alticinae). *Rev. Perú. Entomol.*, 45: 27-64.

STEINHAUS, E.A. 1949. *Principles of Insect Pathology*. New York: McGraw-Hill Book Company. pp 757.

VALOY, M., ORDANO, M., BERNACKI, F., PALACIO, F.X., LÓPEZ-ACOSTA, J.C. & VARELA, O. 2018. Patrones de herbivoría en *Vassobia breviflora* (Solanaceae): variación en el daño foliar y selección natural mediada por herbívoros. *Revista de Biología Tropical*, 66(4), 1683-1700.

WALKER, G. & WHITE, N. 2005. Introduction to fungal physiology. pp 1-34. En: Kavanagh, K. (ed.). *Fungi: Biology and applications*. John Wiley and Sons, Chichester, UK.

WARNER, P.J. & CUSHMAN, H.J. 2002. Influence of herbivores on a perennial plant: variation with life history stage and herbivore species. *Oecologia*, 132, 77-85.

WIJNHOFEN, H. 2011. Notes on the biology of the unidentified invasive harvestman *Leiobunum* sp. (Arachnida: Opiliones). *Arachnologische Mitteilungen*, 41, 17-30

WILCOX, J.A. 1975. Checklist of the beetles of North and Central America and the West Indies. Family 129. *Flora and Fauna Publications*. Gainesville, Fla. U.S.A. 166 p

WOODSON, R. & SCHERY, R. 1959. *Flora of Panama, Part VII, Fascicle 4* (Vol. 46). Missouri: Annals of The Missouri Botanical Garden.

La Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) es una publicación de la Asociación Nicaragüense de Entomología, aperiódica, con numeración consecutiva. Publica trabajos de investigación originales e inéditos, síntesis o ensayos, notas científicas y revisiones de libros que traten sobre cualquier aspecto de la Entomología, Acarología y Aracnología en América, aunque también se aceptan trabajos comparativos con la fauna de otras partes del mundo. No tiene límites de extensión de páginas y puede incluir cuantas ilustraciones sean necesarias para el entendimiento más fácil del trabajo.

The Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) is a journal of the Nicaragua Entomology Society (Entomology Museum), published in consecutive numeration, but not periodical. RNE publishes original research, monographs, and taxonomic revisions, of any length. RNE publishes original scientific research, review articles, brief communications, and book reviews on all matters of Entomology, Acarology and Arachnology in the Americas. Comparative faunistic works with fauna from other parts of the world are also considered. Color illustrations are welcome as a better way to understand the publication.

Todo manuscrito para RNE debe enviarse en versión electrónica a:
(*Manuscripts must be submitted in electronic version to RNE editor*):

Dr. Jean Michel Maes (Editor General, RNE)
Museo Entomológico, Asociación Nicaragüense de Entomología
Apartado Postal 527, 21000 León, NICARAGUA
Teléfono (505) 2319-9327 / (505) 7791-2686
jmmaes@bio-nica.info
jmmaes@yahoo.com

Costos de publicación y sobretiros.

La publicación de un artículo es completamente gratis.

Los autores recibirán una versión pdf de su publicación para distribución.