



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

## CAMPUS MONTECILLO

POSGRADO EN FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**BIOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO DE *Neochetina eichhorniae*  
(Warner) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: ERIRHININAE) EN  
CONDICIONES DE LABORATORIO**

**OSCAR MARTÍNEZ MORALES**

TESIS  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2011

La presente tesis titulada **Biología y comportamiento de *Neochetina eichhorniae* (Warner) (Coleoptera: Curculionidae: Erihinae)** en condiciones de laboratorio, realizada por el alumno **Oscar Martínez Morales**, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

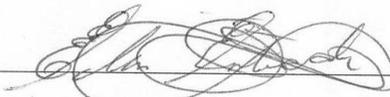
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: \_\_\_\_\_



**DR. ARMANDO EQUIHUA MARTÍNEZ**

DIRECTORA DE TESIS: \_\_\_\_\_



**DRA. EDITH G. ESTRADA VENEGAS**

ASESOR: \_\_\_\_\_



**M. en C. JORGE VALDEZ CARRASCO**

**Montecillo, Texcoco, México, 24 de Junio de 2011**

## RESUMEN

### BIOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO DE *Neochetina eichhorniae* (Warner) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: ERIRHINIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Oscar Martínez Morales  
Colegio de Postgraduados, 2011

En este trabajo se estudió el ciclo biológico de *Neochetina eichhorniae* a 26-28 °C y 28-30 °C, en laboratorio. Se colocaron huevos en vasos de plástico con algodón, una vez emergidas las larvas se alimentaron con trozos de pecíolo de lirio acuático, se realizaron observaciones sobre la biología del estado larval. Para observar la formación de pupas se colocó el último instar larval en recipientes con plantas de lirio acuático. Paralelamente se colocaron parejas de adultos en vasos de plástico para la observación de cópula, oviposición y alimentación. Para el comportamiento, se realizaron dos pruebas, la primera de inundación, para observar el desarrollo a partir del huevo y larvas en agua destilada, y la segunda de especificidad o preferencia alimenticia colocando hojas de lechuga, naranja y piña en vasos de plástico. El porcentaje de organismos que logró completar su ciclo fue del 38% a 28-30 °C y del 26% a 26-28 °C; con una duración de 128.052 ( $\pm 1.77$ ) y 127.769 ( $\pm 2.12$ ) días, respectivamente. Se logró observar la cópula, no así la oviposición, el número de huevos colocados fue bajo. En comportamiento, el porcentaje de eclosión en agua destilada fue del 50% y la duración de las larvas fue de 8 días. En referencia a su especificidad, se observó preferencia alimenticia y oviposición en lechuga, aunque la larva no logró desarrollarse de manera exitosa. Como una contribución a la morfología de la especie, se estudió: características del huevo, mapa de setas y tamaño de cápsula cefálica; así como la descripción del cuerpo de la larva y del adulto, de esta última se incluyó una descripción detallada del ala, genitalia y proventrículo.

**Palabras clave:** Ciclo Biológico, Comportamiento, Morfología, *Neochetina eichhorniae*, *Eichhornia crassipes*.

## ABSTRACT

BIOLOGY AND BEHAVIOR OF *Neochetina eichhorniae* (Warner) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: ERIRHINIDAE) under laboratory conditions.

Oscar Martínez Morales  
Colegio de Postgraduados, 2011

In this paper we study the life cycle of *Neochetina eichhorniae* at 26-28 ° C and 28-30 ° C, in laboratory. Eggs were placed in plastic cups with cotton, once larvae hatched they were fed with water hyacinth petiole pieces, observations on the larval stage biology were done. To observe pupae formation, last larval instars were placed into containers with water hyacinth plants. At the same time, pairs of adults were placed into plastic cups for the observation of copulation, oviposition and feeding. To study species behavior, two tests were conducted, the first by flooding, to observe eggs and larval development in distilled water, and the second specifically for food preference with lettuce, orange and pineapple leaves. The percentage of organisms able to complete its cycle was 38% at 28-30 ° C and 26% at 26-28 ° C, with 128,052 ( $\pm 1.77$ ) and 127,769 ( $\pm 2.12$ ) days, respectively. It was possible to observe mating, but not oviposition, the number of eggs laid was low. The percentage of hatching in distilled water was 50% and the duration of the larvae was 8 days. In relation to its specificity, feeding and oviposition preference was observed in lettuce, but the larvae failed to develop successfully. In relation to Morphology, egg characteristics were studied, setal map of head capsule, as well as a description of the body in the larva and adult, which included a detailed description of the wing, genitalia and proventriculus.

Keywords: life cycle, behavior, morphology, *Neochetina eichhorniae*, *Eichhornia crassipes*.

## DEDICATORIA

No encuentro palabras para definir de manera precisa, lo importante que ha sido estar respaldado por personas tan especiales en mi vida, sólo puedo compartir este logro más, con todo mi amor para mi familia.

A mi madre Rosario Morales, por ser mi guía en esta vida, por enseñarme que ante todo es el respeto dentro y fuera de la familia. Por ser la fuerza que me hizo andar cuando tuve momentos de confusión, por enseñarme que aunque haya días difíciles, siempre hay que dar la cara, seguir adelante y dar lo mejor de uno.

A mis dos ángeles que no están físicamente, pero siguen conmigo, las enseñanzas, regaños y consejos que me dieron, no los eche en saco roto, a pesar que hubo momentos en que casi tome el camino erróneo, creo que recordé viejas charlas. Algún día volveremos a estar juntos, con todo mi corazón a mi padre Maximino Martínez y a mi segundo padre (mi hermano) Jonathan “Joe”.

A mi hermana Rosario Martínez quién ha estado cerca cuando más he necesitado algún consejo, por ayudarme a no derrumbarme y seguir de pie en los peores momentos, por cuidarme junto con mi madre, cuando estuve enfermo. Por los sacrificios que has hecho, ésta va por ti con todo mi cariño.

A mi hermana Sheila Martínez por tu apoyo y ejemplo, pues fuiste la primera en tener un logro académico en la familia, siempre recordare ese momento en que los tres hermanos que tenías prometieron llegar a realizar una hazaña como la tuya, gracias por todo.

A mi hermanito, Miguel Ángel Martínez, no se necesita ser una persona mayor, para demostrar la gran fortaleza y grandeza con la que cuentas. Toma de la vida lo bueno y lo malo, no trato de ser tu ejemplo a seguir, solamente vive y disfruta tú vida, siempre estaré contigo cuando me necesites.

A mis sobrinos e hijos Francisco Javier y María Rosario por rodearme de dibujos, colores y juguetes, por volver a dibujar en mi cara una sonrisa, por dar a mi vida otro tipo de experiencias, por soportar mi mal genio, pero sobre todo gracias por su amor y ternura.

De manera especial:

A mi primo Chucho “el fantasma que camina” por ayudar y acompañar a la familia en momentos difíciles. Gracias.

Y a Luis Antonio “Vago”, por acompañar a la familia cuando no estuve cerca, y por ser el único amigo por esos rumbos donde no paso solidaridad.

## AGRADECIMIENTOS

A los millones de mexicanos y mexicanas que pagan sus impuestos, los cuales a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Colegio de Postgraduados han financiado mi formación académica.

Las personas integrantes de mi Consejo Particular por el esfuerzo, la dedicación, el tiempo y el apoyo que me han brindado, pero sobre todo por la infinita paciencia para conmigo y mis problemas.

En primer lugar a la Dra. Edith G. Estrada Venegas por su paciencia, consejos y enseñanzas. Por ser la directora de este trabajo con el que juntos alcanzamos esta meta. Por el gran lado humano que tuvo para conmigo. Gracias.

Al Dr. Armando Equihua Martínez, por ser mi consejero, por su apoyo y confianza en momentos tan difíciles de mi vida, por darme la oportunidad de contribuir en los proyectos realizados. Gracias.

Al M. en C. Jorge Valdez Carrasco por su confianza, amistad y sobre todo por su ayuda en este trabajo. Por todo lo que me enseñaste en la toma, análisis y preparación de imágenes, y te sigo insistiendo que para ser un buen estudiante, se necesita tener un buen maestro. Gracias.

Al M. en C. Alejandro Pérez Panduro, por las enseñanzas tanto en campo y en invernadero, trabajo que me llevó a la realización de esta tesis. Muchas gracias.

A mis profesores del colegio. Dra. Socorro Anaya, Dr. Hiram Mujica Bravo, Dr. Jesús Romero Nápoles, Dr. José Refugio Lomeli Flores, Dr. Gabriel Otero Colina. Me llevó grandes enseñanzas y la gran experiencia de haberlos conocido. Por la confianza brindada hacia mi persona muchas Gracias.

A mi otro maestro el futuro Dr. Juan M. Vanegas Rico, por darme la bienvenida montando ácaros, por mi nombramiento como entomólogo en San Pedro Mártir, por tus enseñanzas tanto en laboratorio como en campo, por dejar en mis manos los colémbolos que otros hijos del maíz mataron, pero sobre todo por el viaje en la Sherokee. Gracias y buena suerte.

A la futura Dra. Paty y el M. en C. Jesús Acuña “lilongo”. Por su amistad, ayuda y experiencias allá en Cuemanco el Grande. Suerte muchachos.

Al temerario metalero Eduardo Jiménez Quiroz y Sara que en cualquier momento recibirán la mayor sorpresa y felicidad de esta vida. Felicidades.

A mi prima la Dra. Imelda León y las próximas Doctoras Nuvia e Iliana por su apoyo y confianza en el colegio, por el préstamo de material de literatura para mis clases, porque su ayuda en esta fase de mi vida fue muy valiosa, por que hicieron mi estancia en el colegio algo realmente feliz. Gracias chamacas.

A mis compañeros de Generación y Anexos:

A Vianey, Kalina, Erika, Evert, Alfonso, Angélica, Carlos, Samuray, Marina, Gaby, Alma, Berenice, Gaby Pelayo, Haidel, Salvador, Adriano, Román, Jorge. Suerte a todos.

Al glorioso equipo de futbol de genética y al cuerpo técnico, por darme la oportunidad de convivir momentos muy buenos, ganando o no, pero siempre dando el máximo esfuerzo un abrazo a Mario “roca”, Eleodoro “Doro”, Toño, Manuel, Jorge, Raúl “Tocayo”, Miguel, lobo y a todos los que pasaron por el equipo, hasta la próxima.

Y una vez más a mis hermanitos de carrera a Juan Carlos “Slow” y su hijo, Horacio Cortes “Choro”, Ernesto “Güero Berrinches”, Alejandro Ramírez, Emilio Díaz, Marcos y Roberto. Aunque no he podido verlos tan seguido gracias por mantener comunicación conmigo

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁG.</b>
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iviii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVOS.....	3
<b>CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
1.1. Lirio acuático ( <i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms-Laubach).....	4
1.2. Clasificación de <i>Neochetina eichhorniae</i> .....	6
1.3. Distribución del lirio acuático ( <i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms-Laubach) y la liberación de <i>Neochetina eichhorniae</i> a nivel mundial.....	7
1.4. El lirio acuático en México y la utilización de <i>Neochetina eichhorniae</i> como agente de control biológico.....	11
1.5. Trabajos morfológicos y taxonómicos.....	13
1.6. Trabajos de biología y comportamiento.....	15
<b>CAPÍTULO II. BIOLOGÍA DE <i>Neochetina eichhorniae</i> Warner EN CONDICIONES DE LABORATORIO.....</b>	<b>17</b>
2.1. Introducción.....	17
2.2. Materiales Y Método.....	17
2.2.1. Obtención y Manutención de la colonia.....	17

2.2.2. Incubación.....	18
2.2.3. Desarrollo de la larva.....	18
2.2.4. Pupa.....	18
2.2.5. Cópula.....	19
2.2.6. Oviposición.....	19
2.3. Resultados y Discusión.....	21
2.3.1. Incubación.....	21
2.3.2. Eclosión.....	21
2.3.3. Desarrollo de la larva.....	24
2.3.4. Pupa.....	30
2.3.5. Mortalidad en los diferentes estados de desarrollo de <i>N. eichhorniae</i> .....	33
2.3.6. Emergencia del adulto.....	34
2.3.7. Alimentación del adulto.....	34
2.3.8. Cópula.....	35
2.3.9. Período de preoviposición.....	36
2.3.9.1. Oviposición.....	36
<b>CAPITULO III. MORFOLOGÍA DE <i>Neochetina eichhorniae</i> (Warner)</b> <b>(Coleoptera: Curculionidae).....</b>	<b>40</b>
3.1. Introducción.....	40
3.2. Material y Métodos.....	40

3.3. Resultados y Discusión.....	41
3.3.1. Huevo.....	41
3.3.2. Larva.....	44
3.3.2.1. Cápsula cefálica.....	44
3.3.2.2. Cuerpo.....	46
3.3.3. Adultos.....	49
3.3.4. Cabeza.....	49
3.3.5. Tórax.....	53
3.3.5.1. Protórax.....	53
3.3.5.2. Pterotórax.....	54
3.3.6. Abdomen.....	58
3.3.7. Genitalia.....	61
<b>CAPÍTULO I V. COMPORTAMIENTO DE <i>Neochetina eichhorniae</i> EN CONDICIONES DE LABORATORIO.....</b>	<b>64</b>
4.1. Introducción.....	64
4.2. Materiales Y Método.....	64
4.3. Resultados Y Discusión.....	65
4.3.1. Prueba de inundación.....	65
4.3.2. Pruebas de especificidad alimentaria.....	68
4.3.3. Condiciones de mantenimiento de <i>Neochetina eichhorniae</i> durante el estudio.....	72

4.3.3.1. Comportamiento en relación al tipo de luz.....	71
4.3.3.2. Comportamiento con el tipo de alimento.....	72
Conclusiones.....	75
Literatura citada.....	78
ANEXO.....	85

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>CAPÍTULO I</b>	<b>PÁG.</b>
1. Ubicación taxonómica de <i>Neochetina eichhorniae</i> .....	6
2. Países que han utilizado a <i>Neochetina eichhorniae</i> para el control biológico del lirio acuático. (Tomado de Julien 2001).....	9
2. Continuación cuadro 2.....	10
3. Diferencias en medidas de adultos de <i>Neochetina eichhorniae</i> .....	14
<b>CAPÍTULO II</b>	
1. Ciclo de <i>Neochetina eichhorniae</i> a una temperatura oscilante de 26-28 °C.....	27
2. Ciclo de <i>Neochetina eichhorniae</i> en temperatura oscilante de 28 a 30 °C.....	28
3. Número de huevos colocados por las Hembras de <i>Neochetina eichhorniae</i> ....	39
4. Países en donde se ha evaluado el ciclo biológico de <i>Neochetina eichhorniae</i> .	34
<b>CAPÍTULO IV</b>	
1. Experimento de inundación de <i>Neochetina eichhorniae</i> .....	66
2. Muestra la preferencia de <i>Neochetina eichhorniae</i> por el lirio y lechuga.....	69

## ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I	PÁG.
1. Morfología del lirio acuático ( <i>Eichhornia crassipes</i> ) y los órganos vegetales utilizados por las fases de desarrollo de <i>Neochetina eichhorniae</i> . Tomado de Julien <i>et al.</i> , 1999.....	5
2. Mapa de distribución de lirio en el mundo. Tomado de Julien <i>et al.</i> (1999).....	7
3. Áreas de liberación de <i>Neochetina eichhorniae</i> para el control biológico del lirio acuático.....	12
<b>CAPÍTULO II</b>	
1. Preparación de material. (A) Vasos con algodón en el fondo. (B) Algodón con agua destilada. (C) Corte de pecíolo de lirio. (D) Trozos de pecíolo. (E) Colocación de la larva al interior del vaso. (F) Larva en trozo de lirio.....	20
2. Incubación de huevos de <i>Neochetina eichhorniae</i> . (A) Huevo sobre algodón húmedo. (B y C) Huevos cerca de eclosionar. (D) Larvas recién emergidas. (E y F) Huevos con daño por hongos.....	23
3. Desarrollo larval de <i>Neochetina eichhorniae</i> . (A) Los tres íntares larvales, el egundo es variable. (B y C) Exhubia de primer íntar. (D) Exuvia de segundo íntar. (E) Cápsula cefálica de exuvia de segundo íntar.....	29
4. Preparación de tinas para pupas. (A, B y C) Plantas inoculadas con larvas de tercer íntar. (D) Larva de tercer íntar en parte basal de pecíolo. (E) Larva tercer íntar en raíces de lirio. (F) Larva envolviéndose en raíces de lirio.....	31
5. Características del desarrollo de la pupa de <i>Neochetina eichhorniae</i> . (A), pupa con cubierta de pelos radiculares. (B), pupa sin pelo; (C), larva preparándose para pupar; (D y E), pupa de 3 semanas; (F), pupa comienza esclerosamiento de cuerpo en la cuarta semana.....	32
6. Porcentaje de Mortalidad en cada uno de los estadios de desarrollo de <i>Neochetina eichhorniae</i> .....	33

7. Adultos de <i>Neochetina eichhorniae</i> . (A) Hembra alimentándose en lámina foliar. (B) Cópula. (C, D y E) Contracciones de ovipositor en la hembra. (F) Huevo dentro de tejido de pecíolo.....	38
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

### CAPÍTULO III

1. (A) Huevo de <i>Neochetina eichhorniae</i> en su fase inicial. (B) Diferenciación del contenido del huevo, el primordio embrionario envuelve al vitelo. (C) Embrión envuelto en la parte ventral por amnios y serosa. (D) Larva ya formada, resaltan los ojos simples y las mandíbulas. Escala 200 $\mu$ .....	43
2. Cabeza de la larva de <i>Neochetina eichhorniae</i> . (A) Mapa de setas cefálicas, vista frontal (B) Mapa de setas cefálicas, vista lateral.....	46
3. Características de Larva de <i>Neochetina eichhorniae</i> (A) cuerpo. (B) espiráculo protorácico. (C) Espiráculo protorácico y ornamentaciones del cuerpo. (D) Agrupamiento de microespinas en el abdomen. (E) Parte posterior de la larva con espiráculos tubulares en la parte superior. (F) Espiráculos tubulares, vista posterior. (G) Espiráculos tubulares en vista Lateral.....	48
4. <i>Neochetina eichhorniae</i> en estado adulto. (A) vista lateral de la hembra. (B) Vista lateral del Macho. (C) Hembra en vista ventral. (D) Hembra en vista dorsal. Escala 1 mm.....	51
5. Morfología de la cabeza de <i>Neochetina eichhorniae</i> . (A y B) Vista anterior de la cabeza de hembra y macho. (C y D) vista lateral de la cabeza de hembra y macho. (E y F), vista posterior de la cabeza de hembra y macho. Escala 1 mm.....	52
6. Estructura del protórax de <i>Neochetina eichhorniae</i> . (A y B) Protórax en vista dorsal y ventral. (C y D) Protórax en vista anterior y posterior con el primer par de patas. (E) Vista lateral de protórax. (F) Vista posterior de la pata protorácica derecha. Escala 1 mm.....	56
7. Estructura del pterotórax de <i>Neochetina eichhorniae</i> . (A, B y C) Pterotórax en vista dorsal, ventral y lateral. (D), élitro derecho. (E) Área dorsal del ala metatorácica. (F) Vista lateral del proventrículo. (G y H) Pata derecha de mesotórax y metatórax. Escala 1 mm.....	60
8. Anatomía del abdomen y órganos genitales de <i>Neochetina eichhorniae</i> (A, B y C) Vista lateral ventral y dorsal del abdomen de la hembra. (D) Abdomen en vista dorsal sin cutícula. Escala 1 mm. (E) Espermateca. (F) Octavo esternito abdominal de la hembra. (G) Vista dorsal del edeago. (H) Octavo	

esternito abdominal del macho. Vistas 6.3x.....	63
-------------------------------------------------	----

#### **CAPÍTULO IV**

1. Experimento de inundación de <i>Neochetina eichhorniae</i> . A, B y C) Huevos flotando, se observa la larva a través del corion. D, E y F) Larva activa emerge del huevo.....	67
2. Pruebas de especificidad. A) Hojas de Naranja, piña y lechuga. B, C y D) Picudos en hojas de lechuga, naranja y piña. E) Huevos en lechuga. F) Larva en lechuga.....	70
3. Comportamiento de <i>Neochetina eichhorniae</i> con el tipo de luz y alimentación A) Huevo observado con luz amarilla. B) Huevos observados con luz blanca. C) Pecíolos con rastros de alimentación de las larvas. D) Larva de segundo ínstar en la base del pecíolo como se alimenta de forma natural. E) Daño en corona y base de pecíolos realizados por el segundo y tercer ínstar larval. F) Marcas de alimentación de una pareja de adultos en un día.....	74

## INTRODUCCIÓN GENERAL

*Neochetina eichhorniae* pertenece a la familia Curculionidae y es considerado como uno de los agentes más importantes para el control de lirio acuático. Son organismos pequeños (4-4.5 mm) (Center *et al.*, 2002; Martínez, 2005; Julien y Stanley, 1998).

La alimentación es diferente en los estados de larva y adulto, los dos primeros ínstares larvales perforan los pecíolos de lirio acuático realizando túneles o galerías, en las cuales se desplaza; el tercer ínstar tiende a dirigirse hacia la parte basal de la planta, en donde se alimenta, es por ello que este estado es el más dañino (Center, 1987; Center y Wright, 1991; Morán, 2004).

El adulto en cambio realiza marcas sobre pecíolos y lámina foliar, raspando en repetidas ocasiones con sus mandíbulas, y también ahí pone sus huevos. Ambos daños ocasionan clorosis y marchitamiento de la planta, además de permitir el desarrollo de otro tipo de organismos como hongos y bacterias que completan la muerte de la planta (Center *et al.*, 2002; Martínez, 2005; Julien y Griffiths, 1998).

Muchos países han reportado éxito en sus liberaciones, sin embargo, el control alcanzado no ha sido suficiente, por lo cual en ocasiones la credibilidad del control biológico está en duda y por ello se ven afectadas las investigaciones en contra de esta maleza (Center *et al.*, 2002). Perkins (1972 y 1974) menciona que *N. eichhorniae* no ataca a esta maleza en EUA, por lo que se han realizado pruebas acerca de su especificidad.

Aunque no deja de ser una opción viable para reducir las poblaciones de lirio en zonas prioritarias de México, como Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Sinaloa y Xochimilco, entre otras (Gutiérrez *et al.*, 1998; Martínez *et al.*, 2001), es necesaria la investigación de esta especie en el país, ya que mucha de la información existente es de países con características ambientales diferentes.

Existen artículos que hablan acerca del ciclo biológico de *Neochetina eichhorniae*, pero son pocos los trabajos que aportan nuevos aspectos al conocimiento de la especie. En el presente trabajo se describen los eventos que conforman el ciclo biológico y se determina el número de ínstares larvales de *N. eichhorniae*.

O'Brien (1976) menciona que el género *Neochetina* presenta un amplio rango de variación en los caracteres taxonómicos. La coloración dada por el arreglo de las escamas es una característica muy variable entre algunas especies. Al igual que la presencia de pequeños tubérculos, que alternan con las franjas longitudinales de los élitros (Warner, 1970; O'Brien, 1976; Center *et al.*, 2002).

Cuando los organismos están sucios o desprovistos de escamas es necesaria la revisión de la genitalia (O'Brien, 1976; Marvaldi y Lanteri, 2005). *Neochetina eichhorniae* fue descrita por Warner en 1970, menciona que los adultos son de color café oscuro a negro, el macho mide 3.3 mm de longitud y 1.8 mm de anchura, mientras que la hembra mide 4.0 mm y 2.1 mm.

La diferenciación de los sexos es por las características del rostrum; en los machos es corto, cilíndrico y casi recto, más ancho y robusto desde la inserción de la antena hasta el ápice; está ligeramente comprimido, curvado hacia abajo y brillante. El rostrum de las hembras es más grande, uniformemente curvado y casi todo es cilíndrico, ancho y robusto desde la base hasta el ápice; brillante y glabro desde el frente de los ojos hasta el ápice. Estas características se han retomado por diversos autores en la actualidad. Los huevos, las larvas y la pupa son difíciles de identificar a nivel de especie (Center *et al.*, 1998).

El desconocimiento de aspectos básicos de la biología y morfología de *N. eichhorniae* puede ser un factor que limite el aprovechamiento de éste organismo en el control del lirio (Center *et al.*, 1988 y 2002). Aunque *N. eichhorniae* es una especie presente ya de manera natural en México, los trabajos son escasos y la información que presentan son transcripciones de literatura antigua que omite detalles sobre su morfología.

Por lo anteriormente expresado y dada la importancia de *N. eichhorniae* para el control biológico del lirio acuático se plantearon los siguientes objetivos en el presente trabajo de investigación:

### **Objetivos**

#### **Objetivo general**

Conocer el ciclo biológico y el comportamiento de *Neochetina eichhorniae* en condiciones de laboratorio.

#### **Objetivos particulares**

Describir la morfología externa del huevo, larvas y adulto de *N. eichhorniae*.

Estudiar los estadios que conforman el ciclo biológico.

Conocer el comportamiento de *N. eichhorniae*.

## CAPÍTULO I

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 1.1. Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)

El lirio acuático *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms- Laubach 1883, es una planta acuática perene, originaria del Amazonas perteneciente a la familia Pontederiaceae. Todas las especies del género *Eichhornia* son acuáticos, pero sólo *E. crassipes* es considerado una maleza (Burton, 2005 y Land Protection, 2001).

Cada planta consiste de hojas que crecen de manera lateral, formando una corona en la base; la lámina foliar es lisa, sin pelos de color verde oscuro y de forma circular a ovalada; hay dos tipos de hojas: sin pecíolos bulbosos (de 60 cm de altura aproximadamente) y con pecíolos bulbosos que contienen aire en su interior, lo cual permite a la planta flotar sobre la superficie del agua (Figura 1). Esta característica distingue al lirio acuático de los otros miembros de la familia Pontederiaceae, los cuales se fijan con sus raíces en el substrato (Burton, 2005; Julien *et al.*, 1999 y Land Protection, 2001).

Es en el haz de la lámina foliar y la parte superior del pecíolo en donde se alimenta el adulto de *Neochetina sp.* La marca es más o menos circular y en vista transversal tiene aspecto cóncavo (Franceschini, 2003). Los tejidos consumidos son la epidermis y el clorénquima; la lesión alcanza hasta el esclerénquima de los haces vasculares. En el caso de las larvas se desarrollan más en los pecíolos (en el caso del primer ínstar) y en la corona de las plantas (el 2º y 3er ínstar) en donde forman galerías, consumiendo el aerénquima, los tejidos vasculares y esclerénquima (Center *et al.*, 2002; Julien *et al.*, 1999 Franceschini, 2003).

Los estolones crecen de manera horizontal y producen plantas hijas. Las flores son bisexuales de color lila con el centro amarillo, arregladas en espigas simples de 60 cm de longitud. Pueden fertilizarse ellas mismas. Las raíces son fibrosas, plumosas y muy largas de color oscuro (Figura 1) (Burton, 2005; Julien *et al.*, 1999 y Land Protection, 2001).

La proliferación de *Eichhornia crassipes* ocasiona problemas económicos, ecológicos y de salud. En los primeros se menciona la disminución en el flujo agua en ríos y canales utilizados para riego, así como pérdidas de producción en los campos dedicados a diferentes cultivos, especialmente el de arroz (Gopal, 1987 y Harley, 1990).

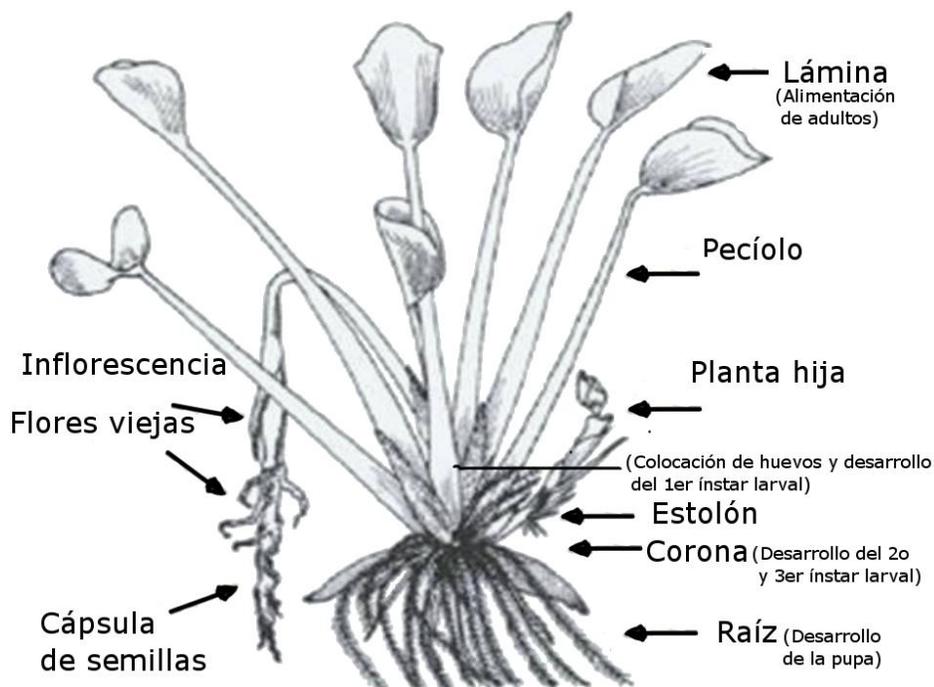


Figura 1.- Morfología del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) y los órganos vegetales utilizados por las fases de desarrollo de *Neochetina eichhorniae*. Tomado de Julien *et al.*, 1999.

Otros problemas son la limitación de las actividades de pesca, navegación, natación, obstruye la producción de hidroelectricidad, también contribuye a la evaporación del agua. En el segundo caso el primer efecto visible de la infestación del lirio acuático es la cantidad de biomasa producida y la turbidez del cuerpo de agua, lo que contribuye a la reducción del oxígeno en el agua, lo que provoca la muerte de poblaciones de peces y otros animales acuáticos (Gopal, 1987; Ouedrago, 1994). Además de la competencia que ocurre entre el lirio acuático y las plantas nativas, por espacio, luz y nutrientes (Martínez, 2005). Dentro de los problemas de salud ayuda a la formación de hábitat favorable para el desarrollo de vectores de enfermedades tales como: malaria, schistosomiasis (biliarzia), filariasis, dengue,

paludismo y fiebre amarilla entre otras (Harley, 1990; Hernández y Pérez, 1995; Martínez, 2005).

Es entonces su rápida reproducción, sobre todo asexual la que permite duplicar su población en alrededor de 10-12 días (sumado a la ausencia de enemigos naturales) que ha provocado la rápida diseminación de la planta a diversos cuerpos acuáticos cubriendo extensas áreas de los mismos, por lo cual se le ha considerado como maleza.

## **1.2. Clasificación de *Neochetina eichhorniae***

La especie *Neochetina eichhorniae* fue descrita por Warner (1970). Descripción retomada por O'Brien (1976), para la revisión taxonómica del género *Neochetina*, el cual está compuesto por seis especies subacuáticas. Existen pocos artículos sobre la morfología de los diferentes estadios de desarrollo de *Neochetina eichhorniae*, algunos de estos trabajos sólo abordan ligeramente el tema, ya que están más enfocados hacia el nivel de control que realiza este picudo, en los países donde se utiliza, para el control del lirio acuático; se pueden mencionar trabajos como Center *et al* (2002); Julien (2001) y Julien *et al* (1999), que han recopilado mucha información al respecto, además de reunir a todos los investigadores en este campo.

### **Cuadro 1. Ubicación taxonómica de *Neochetina eichhorniae***

---

Superclase: Hexapoda

Clase: Insecta

Subclase: Pterigota

División: Endopterigota

Orden: Coleoptera

Suborden: Polyphaga

Superfamilia: Curculionoidea

Familia: Curculionidae

Subfamilia: Eriirhininae

Género: *Neochetina*

Especie: *Neochetina eichhorniae* Warner, 1970

---

Clasificación de *Neochetina eichhorniae*, de acuerdo con Borror (1979), Domínguez (1990), Domínguez (2006), Marvaldi y Lanteri (2005) y al Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS).

### 1.3. Distribución del lirio acuático (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms-Laubach) y la liberación de *Neochetina eichhorniae* nivel mundial.

*Eichhornia crassipes* es originario del Amazonas, fue introducido a E.U.A. alrededor de 1894 y desde entonces comenzó su desplazamiento pan-tropical (Center *et al.*, 2002); invadiendo rápidamente muchas partes de África (Masifwa *et al.*, 2001), Australia (Center *et al.*, 2002), medio Oriente que incluye Egipto, Líbano, Siria, Jordania, Palestina e Israel (Fayad *et al.*, 2001), India y China (Ding *et al.*, 2001; Holm *et al.*, 1977) (Figura 2). Se ha tratado de dar solución, al problema de proliferación utilizando para ello diferentes tipos de control, entre los que se encuentran: el control físico o mecánico, que consiste en la extracción del lirio acuático de forma manual (Carlos, 1988). Se aplica principalmente a cauces de agua pequeños y poco profundos, como son las zanjas y canales de irrigación. El trabajo manual requiere de destreza, herramientas y equipo de seguridad adecuado a las condiciones de trabajo, que permita incrementar la productividad de la labor, tal como guadañas, hoz, bieldos, rastrillos, botas, cuerdas de seguridad y overoles, entre otros (Gómez *et al.*, 2000; Lancar y Krake, 2002; Martínez, 2005).

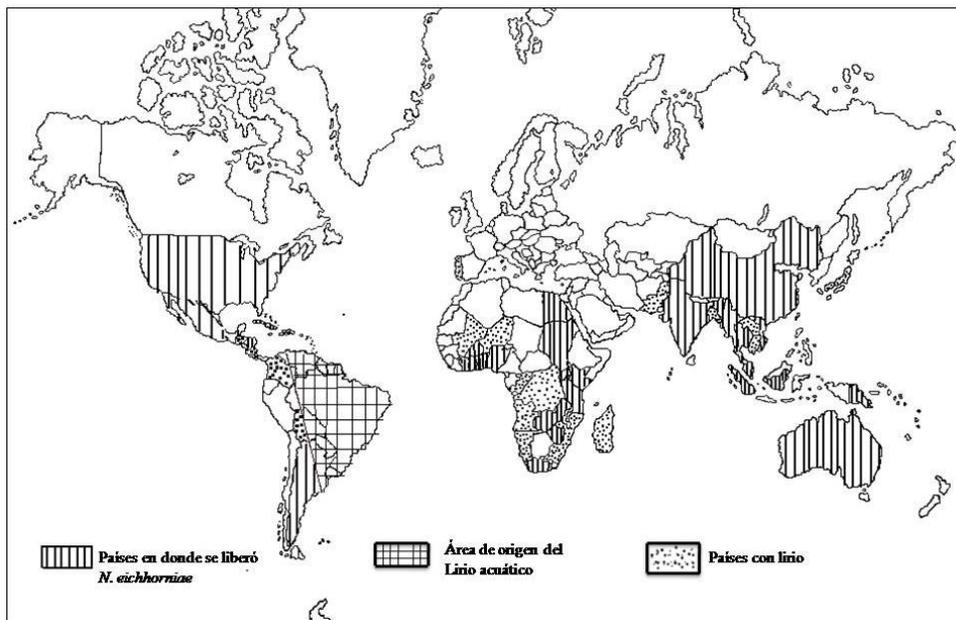


Figura 2. Mapa de distribución de lirio en el mundo. Tomado de Julien *et al.* (1999).

Algunas de las restricciones para emplear este método manual son la profundidad, pendiente del terreno, tipo de sustrato, calidad del agua y presencia de mosquitos. Este método de control únicamente es factible para la remoción de una porción de la maleza acuática marginal, que generalmente puede llegar a significar hasta un 30% de la infestación total en un lago (Gómez *et al.*, 2000).

En el control químico, se utilizan herbicidas como el Paraquat para combatir las malezas, ofrece un control rápido y prolongado, cuando el producto es rociado en dosis adecuadas y con cierta periodicidad (Carlos, 1988). El herbicida 2,4-D es el más efectivo en el control químico, ya que es utilizado en un amplio número de especies como *Eichhornia crassipes*, no mata hierbas. Es ligera a moderadamente tóxico para las aves, peces e invertebrados acuáticos. Algunas otras aplicaciones como el sulfato y quelato de cobre han resultado ser letales para el lirio acuático, sin embargo pueden ser tóxicas para los peces, algunos mamíferos, invertebrados acuáticos y organismos de suelo (Gopal, 1987).

Otra alternativa para combatir el lirio acuático es el control biológico, en donde dos especies de *Neochetina* han sido utilizadas en los continentes de África (10 países) América (4 países), Asia (10 países) y Oceanía (4 Países), en el cuadro 2 se presenta el año de introducción de *N. eichhorniae* en los diferentes países y el seguimiento que se le ha dado en los sitios de liberación (Julien *et al.*, 1999 y Julien, 2001). En el Sur de Australia ha sido el único lugar en donde se erradicó el lirio acuático; en el resto de los países su evaluación sigue ya que en su mayoría el picudo se ha establecido en los sitios de liberación, sin embargo el nivel de control no es el adecuado sobre todo en América. Autores como Center (1987), Center y Wright (1991), Julien y Stanley (1998) y Morán (2004) mencionan que el establecimiento de estos agentes y el control que ejercen sobre la vegetación, dependen de las interacciones entre la planta hospedero y las condiciones ambientales prevalecientes en los sitios de liberación.

**Cuadro 2.** Países que han utilizado a *N. eichhorniae* para el control biológico del lirio acuático. (Tomado de Julien 2001).

Países	Año de Introducción	Evaluación	citas
<b>AFRICA</b>			
BENIN	1991	Se estableció y controla.	IITA, 2000
EGIPTO	2000	Sigue bajo evaluación.	Fayad <i>et al.</i> , 2001
GHANA	1994	Comienza a establecerse. Se desconoce el nivel de control.	Julien <i>et al.</i> , 2001
KENIA	1993	Continúa su liberación, comienza a establecerse. Provee un suficiente nivel de control.	Navarro, 2001
LAGO VICTORIA	1995	La planta tiene un umbral crítico de 5 picudos.	Phiri <i>et al.</i> , 2001
LAGO VICTORIA KENIA, TANZANIA y UGANDA	**	Han observado los daños que causa el control químico al ambiente.	Navarro, 2001
MALAWI	1995	Comienza a establecerse. El nivel control está bajo evaluación.	Phiri <i>et al.</i> , 2001
MOZAMBIQUE	1972	Comienza a establecerse, se desconoce su nivel de control.	Julien <i>et al.</i> , 2001
REPUBLICA DEL CONGO	1999	Esta bajo evaluación.	IITA, 2000
<b>AMERICA:</b>			
CUBA	1995	Ha comenzado a establecerse. Se desconoce. el nivel de control	Julien <i>et al.</i> , 2001
E.U.A. (ESTADOS UNIDOS)	1970-1983	Redujo poblaciones de <i>E. crassipes</i> en Texas. En California el lirio ha prosperado	Julien <i>et al.</i> , 2001
HONDURAS	**	Establecido (University of Florida, 2001).	Julien <i>et al.</i> , 2001
MÉXICO	1972	Se sigue liberando, el nivel de control no es adecuado.	Julien <i>et al.</i> , 2001

**Continuación cuadro 2. Tomado de Julien, 2001.**

---

**ASIA**

CHINA	1995	Los picudos se han liberado en Wenzhou (1996), Zhejiang (1996) y Fujian (1998). Se ha establecido	Ding <i>et al.</i> , 2001
INDONESIA	1979	Se sigue liberando, el nivel de control es bajo.	Julien <i>et al.</i> , 2001
ISRAEL, JORDANIA, LIBANO	***	Cuerpos de agua infestados de lirio acuático.	
MALASIA	**	Establecido.	Julien <i>et al.</i> , 2001
FILIPINAS	1993	Se desconoce si se siguen liberando en este país.	Julien <i>et al.</i> , 2001
SIRIA (REPUBLICA ARABE)	***	Cuerpos de agua infestados de lirio acuático.	Julien <i>et al.</i> , 2001
TAIWAN	1992	Se desconoce el seguimiento de la liberación.	Julien <i>et al.</i> , 2001
VIETNAM (VIETNAM)	1984	Se desconoce si se sigue liberando	Julien <i>et al.</i> , 2001

**EUROPA**

PORTUGAL	1974	Primer ley (165/74 de 22 Abril) decreta a <i>Eichhornia crassipes</i> como una especie invasora.	Julien <i>et al.</i> , 2001
----------	------	--------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------

**OCEANIA**

AUSTRALIA	1975 *	Se erradicó el lirio en el sur del país; que presenta clima tropical.	Mack and Lonsdale, 2002
GUAM	**	Con éxito limitado.	Julien <i>et al.</i> , 2001
ISLAS SALOMON	1998	Comienza a establecerse. Sin embargo el nivel de control es desconocido.	Julien <i>et al.</i> , 2001
VANUATU	2004	Este agente se crió en laboratorio.	Pacific Pest Info No.51, August, 2004
VICTORIA (AUSTRALIA)	***	Se ha erradicado.	Julien <i>et al.</i> , 2001

---

\*. Países en donde el lirio acuático ha sido erradicado. \*\* Países en donde se encuentra establecido *N. eichhorniae*. \*\*\* Países que requieren un plan de manejo por las altas infestaciones de lirio acuático.

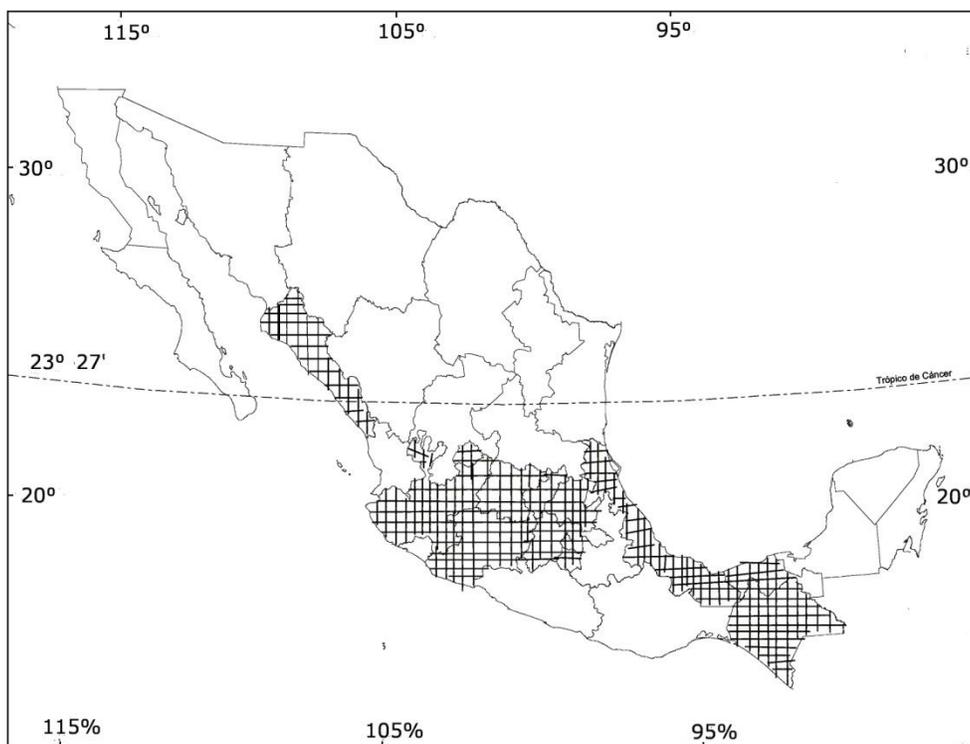
#### **1.4. El lirio acuático en México y la utilización de *N. eichhorniae* como agente de control biológico.**

Se desconoce la forma de introducción de esta maleza en el país. De acuerdo con Novelo y Gallegos (1988), la presencia de *Eichhornia crassipes* data de 1897 como una especie naturalizada y bastante común en la zona chinampera de Xochimilco.

La población de *Neochetina bruchi* utilizada como pie de cría se colectó en Florida (Lago Alicia, Lago Okeechobee y Palm Beach), se introdujeron 1,200 ejemplares a México en 1994, después de cumplir los requisitos establecidos por la Dirección General de Sanidad Vegetal (Martínez y Charudattan, 1998; Martínez, *et al.*, 2001 y Martínez, 2005). Mientras que *N. eichhorniae* se colectó en el lago Chapala, en donde la presencia de esta especie data desde 1975), aunque se también se menciona, que el picudo se introdujo de E.U.A. en la década de 1970 (Bennett, 1984); sin embargo, otro reporte indica su existencia en algunos lugares de México desde 1967 (O'Brien, 1976). Estas dos especies se liberaron y monitorearon por Martínez *et al.* (2001) en los Estados de Hidalgo, Jalisco, Michoacán y Morelos. Una evaluación posterior registró sólo organismos de *N. eichhorniae*, en las localidades de Yecapixtla, Hidalgo y en Chapala, Jalisco, cuya densidad promedio fue de 3 y 48 adultos por m<sup>2</sup> respectivamente. Se considera que el clima subtropical de estas localidades favoreció su prevalencia en el sistema (Aguilar *et al.*, 2003). En el estado de Sinaloa, durante el periodo de junio de 1995 a agosto de 1996 se realizaron liberaciones de *N. bruchi* y *N. eichhorniae* con 8,600 y 14,500 organismos respectivamente, en las localidades de: Batamote, Arroyo prieto, Hilda, Mariquita, Adolfo López Mateos. Los porcentajes de control fueron del 80 a 100% (Aguilar *et al.*, 2003). Mientras que en el estado de Culiacán, Barrera (1999), menciona que se logró eliminar más del 97% del lirio en los embalses de Culiacán, Humaya y San Lorenzo. El autor atribuye su eficacia al manejo y cría de estos agentes provenientes del Colegio de Postgraduados a cargo del M. C. Alejandro Pérez Panduro.

Por otra parte, Gutiérrez *et al.* (1998) mencionan que en Aguascalientes, Edo. De México, Chiapas, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Puebla, Sinaloa y Zacatecas (Figura 3), se eliminó al lirio de los cuerpos de agua utilizando a los agentes de control biológico, en combinación

con el manejo del nivel hidráulico, además de métodos tradicionales como la remoción manual, mecánica y el tratamiento químico. Para este último caso contempla la utilización de herbicidas que contienen Glifosato como ingrediente activo, el cual está dentro de la lista de plaguicidas autorizados en México (CICLOPLAFEST) (Gómez *et al.*, 2000; Lancar y Krake, 2002; Martínez, 2005). Gómez *et al.* (2000), mencionan que el control biológico es una alternativa que tiene poca aplicación en infestaciones severas; sin embargo, otros consideran que es un método a utilizarse masivamente en sistemas que se encuentran en fase de mantenimiento. (Center (1987); Center y Wright (1991) y Morán (2004).



**Figura 3.** Áreas de liberación de *Neochetina eichhorniae* para el control biológico del lirio acuático.

## 1.5. Trabajos morfológicos y taxonómicos.

Los coleópteros del género *Neochetina* son holometábolos y sus fases de desarrollo son: huevo, larva (tres instares), pupa y adulto (Getsinger, 2005; Center *et al.*, 2002 y Martínez, 2005).

**Huevo.** Martínez (2005) reportó que son de corion blando, y tienen una longitud de 0.88 mm, mientras que Center *et al.* (1999) reportan 0.75 mm.

**Larva.** En 1976 DeLoach y Cordo realizaron la medición de la cápsula cefálica de una mezcla de larvas de *Neochetina eichhorniae* y *N. bruchi*. La mayoría de las larvas de primer instar midieron 0.3 mm, el segundo instar 0.5 mm y el tercer instar 0.7 mm, similar a lo encontrado por Pichidswanchai (1996), quien menciona que el crecimiento de la larva, puede observarse en el incremento de la anchura de la cápsula cefálica, cuyo radio es de 1.57. Algunos de los trabajos que podemos mencionar, en donde han aplicado esta técnica en coleópteros están: Fernández y Cordero (2007) con la broca del café (*Hipothenemus hampei* (Ferrari)); Vallejo *et al.* (2007) con *Phyllophaga obsoleta* (Blanchard); Quiroz *et al.* (2000) con *Zabrotes subfaciatus* (Boh) y Domínguez (2006) con *Conotrachelus perseae* (Barber).

May y Sands (1986) toman en cuenta la posición de los espiráculos, color de cápsula cefálica y la presencia de setas en la región caudal; para diferenciar a las larvas de *Neochetina bruchi* Hustache y *N. eichhorniae* Warner, *Neohydronomus pulchellus* Hustache y de *Cyrtobagous singularis* Hustache y *C. salviniae* Calder and Sands; utilizados para el control de malezas acuáticas en Australia. Estos trabajos son considerados por Marvaldi (2003), que presentó una clave basada en caracteres morfológicos externos de las larvas, de las diferentes subfamilias de Curculionidae y en especial la subfamilia Eirrhiniinae. Por otra parte, algunos autores mencionan que la larva de *N. eichhorniae* tiene forma de gusano, es apoda, en lugar de patas presenta setas alargadas, una cápsula cefálica de amarilla a naranja, y el tamaño de la larva va de 2 mm hasta los 8 ó 9 mm (Getsinger, 2005; Center *et al.*, 2002 y Martínez, 2005).

**Adultos.** Existen diferencias sobre las medidas de los adultos de *Neochetina eichhorniae*, tanto de hembras como en machos (Cuadro 3), lo cual podría sugerir que existen variaciones por las condiciones climáticas, aunque la mayoría de los trabajos se menciona que los especímenes son tomados de lugares con clima tropical y subtropical.

Diversos autores coinciden, en que los adultos de *Neochetina bruchi* y *N. eichhorniae* pueden diferenciarse por el patrón de coloración de sus escamas, en el primero forman una V que atraviesa por la parte posterior de ambos élitros; muy evidente en adultos recién emergidos. Esta característica va desapareciendo con el tiempo, en *N. eichhorniae* no se presenta este arreglo.

**Cuadro 3.** Diferencias en medidas de adultos de *N. eichhorniae*.

Medidas de adultos (mm)			
hembra	macho	lugar	Cita
4.0 x 2.1	3.3x1.8	E.U.A.	Warner (1970)
2-4.5*		E.U.A.	O'Brien (1976)
3	2	E.U.A.	Center <i>et al.</i> (2002)
4.52	4.06	México	Martínez (2005)
5*		E.U.A.	Burton (2005)
4-5*		Sudáfrica	Oberholzer (2001)

\* No especifica el sexo

También mencionan la presencia de marcas elitrales, en *N. bruchi* son cortos y están a la mitad de los élitros y generalmente son de igual tamaño; en el caso de *N. eichhorniae* se encuentran hacia la parte anterior de los élitros y son de diferente tamaño Warner (1970); DeLoach (1975); O'Brien (1976); Center *et al.* (1988); Center (1994) y Julien *et al.* (1999).

O'Brien en 1976 menciona que las porciones esclerosadas del endofalo son excelentes para separar a las especies. Cuatro especies presentan un flagellum, *Neochetina affinis* tiene

solamente un par anterior de dientes curvados y *N. neoaffinis* tiene un tubo medio alargado en forma de cono. También menciona, que el esclerosamiento de la espermateca y las glándulas de la espermateca son bastante diferentes; lo mismo para el octavo esternito. En general, la variación en la genitalia es ligera en machos y hembras. La forma y proporción de la espermateca y glándulas de la espermateca son constantes. Hay pequeñas diferencias en el engrosamiento del ápice de *Neochetina affinis* y algunos son bífidos en el ápice y otros no.

### **1.6. Trabajos de biología y comportamiento.**

El ciclo de biológico de *Neochetina eichhorniae* es de 90-120 días, el periodo de incubación del huevo es de 7-14 días, la larva presenta tres instares que en total duran de 75-90 días; el período de pupa dura de 14-20 días. Mientras que la longevidad del adulto es de 230 días (DeLoach y Cordo, 1976; Center *et al.*, 2002).

Se ha observado que *Neochetina eichhorniae* prefiere las hojas jóvenes del lirio, para ovipositar (DeLoach y Cordo, 1976 y Center y Wright, 1991). Aunque en algunos casos puede utilizar otras plantas acuáticas (Woomer, 1997; Julien *et al.*, 1999). De acuerdo con DeLoach y Cordo (1976), las hembras pueden colocar 7.3 huevos por día y que eclosionan de 7-10 días, en temperaturas de 25-35°C. Por otro lado, algunos autores mencionan que la hembra oviposita entre 237-478.63 en toda su vida, que va desde 105-147 días (Jayanth, 1987; Pichidswanchai, 1996; Center *et al.*, 1998 y Njoka, 2006). En contraste, Oke (2008), menciona que la longevidad en un total de 100 adultos (hembra y macho) va de 10-39 días a una temperatura de 28-30 °C. De acuerdo con Del Fosse (1977), *N. eichhorniae* depositó más huevos en presencia de *Orthogalumna terebrantis*; y también a temperaturas de 15-35 °C (4.2 huevos/hembra/semana).

El estadio larval está conformado por tres instares, cuya duración es de 30-45 días (Center *et al.*, 1988 y Center *et al.*, 2002), mientras que para Oke y Adekoya en 2007, el primer instar dura  $11.15 \pm 1.20$  días, el segundo  $12.5 \pm 1.88$  días y el tercero  $49 \pm 2.21$ ; similar a lo reportado por Pichidswanchai (1996), en donde la duración del estadio larval fue de 30 días. En el caso de la pupa se encontraron tiempos semejantes que oscilan entre los 7-14

días de duración, aunque también se menciona que el adulto puede permanecer más tiempo dentro de esta cápsula o capullo que forma en las raíces del lirio (Center *et al.*, 1988 Pichidswanchai, 1996; Center *et al.*, 2002 y Oke, 2007). La mortalidad de *N. eichhorniae* es elevada a temperaturas menores de 20 °C y también cuando éstas son cercanas a los 40 °C (Del Fosse, 1977). Algo similar a lo reportado por Oke (2007), quien observó la muerte de los adultos por exposición directa a los rayos del sol.

## **CAPITULO II**

### **BIOLOGÍA DE *Neochetina eichhorniae* Warner EN CONDICIONES DE LABORATORIO.**

#### **2.1. INTRODUCCIÓN**

El ciclo biológico de *Neochetina eichhorniae* ha sido revisado con anterioridad, en donde se han encontrado variaciones en la duración de cada uno de los estados, que en total van de 90-120 días. Entre estos trabajos podemos mencionar los de Deloach y Cordo (1976), Julien *et al.* (1999), Oke y Adekoya (2007) y Pichidswanchai (1996). Las fases de desarrollo de *Neochetina eichhorniae* son: huevo que es colocado debajo de la epidermis de los peciolo de las hojas jóvenes centrales de la planta o en las marcas de alimentación; con un período de incubación de 7-14 días. La larva presenta tres instares, el primero de ellos emerge y se alimenta del parénquima aerífero del peciolo, en donde puede desplazarse arriba o hacia abajo; el segundo y tercer instar se encuentran en la corona de la planta en donde se alimentan de esta parte de la planta, así como de los retoños de nuevas hojas, los tres instares duran de 75-90 días. Cuando el tercer instar se ha completado la larva sale de la corona y se dirige hacia las raíces en donde pupa su duración es de 14-30 días, después emerge el adulto, después de 24 horas comienza a alimentarse de la epidermis de la lamina foliar y peciolo de plantas maduras y grandes, realizando marcas más o menos circulares. Oke y Adekoya (2007) y Pichidswanchai (1996) observaron una reducción en la duración de los instares larvales; por lo que el ciclo es de 90 días aproximadamente a 30 °C. En comparación al trabajo realizado por Deloach y Cordo (1976) en donde la duración del ciclo es de 120 días. Por ello este estudio tiene por objetivo: Estudiar la biología y comportamiento de *Neochetina eichhorniae* para dilucidar los estadios que conforman el ciclo biológico en condiciones de laboratorio.

#### **2.2. MATERIALES Y MÉTODO**

**2.2.1. Obtención y Manutención de la colonia.** Se obtuvo una colonia de la especie de *N. eichhorniae* de la cría que se encuentra en las instalaciones del Colegio de Postgraduados. Los picudos se mantuvieron en botes de plástico, con plantas de lirio como alimento. Se dividió esta colonia en un nuevo bote, al que se colocó solamente la lámina foliar para su

alimentación. La biología (ciclo biológico) se observó a 26-28 °C temperatura ambiente del laboratorio y a 28-30°C en cámara de cría, y el comportamiento a 28-30°C, en el Laboratorio de Acarología.

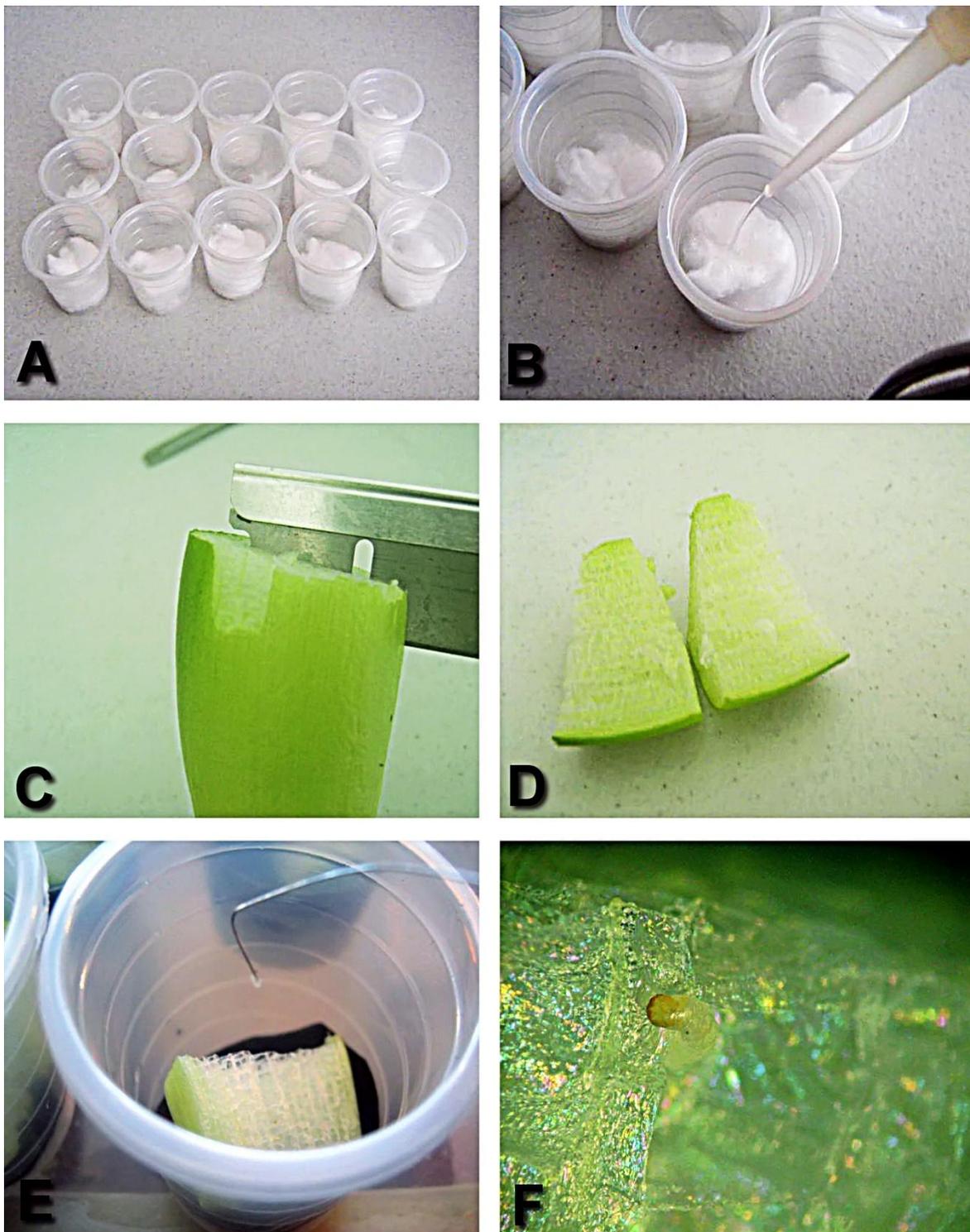
**2.2.2. Incubación.** Para este evento se realizaron 2 experimentos en los que se tomaron huevos de los botes, en donde se mantenía parte de la colonia. Se prepararon 10 vasos de plástico de 25 ml con algodón envuelto en servilleta de papel en el fondo, estos fueron humedecidos con agua destilada los cuales fungen como sustrato (Figuras 1A y 1B). A las tapas del vaso se les realizó algunas perforaciones para permitir la entrada de aire al interior del vaso. Con pinzas entomológicas y aguja de disección se extrajeron los huevos del tejido de las hojas, procurando no dañarlos y lo más limpio posible. Se colocaron un total de cinco huevos por vaso, los cuales fueron revisados diariamente hasta la eclosión. Estos experimentos se realizarón a temperaturas de 26-28°C y 28-30°C para la obtención de los diferentes ínstares larvales y poder obtener ahora el desarrollo de la larva.

**2.2.3. Desarrollo de la larva. PRIMER ÍNSTAR.** Las larvas obtenidas de las eclosiones se colocaron en vasos de plástico, con algodón húmedo en el fondo y con un trozo de pecíolo joven como alimento, el cual se cambió cada tercer día, para evitar daño por descomposición de tejido o por contaminación con el excremento que dejaba el organismo; con ello se trató de comprobar, si la larva al sentir cambios en el tejido de lirio, mudaría al siguiente ínstar o saber cuál era su comportamiento (se realizó lo mismo para el segundo ínstar) (Figuras 1C; 1D, 1E y 1F). **TERCER ÍNSTAR** Una vez obtenido el tercer ínstar, las larvas se mantuvieron en vasos de plástico por alrededor de 15 días, pasado este tiempo se colocaron las larvas en tinas.

**2.2.4. Pupa.** En 4 tinas con cinco plantas de lirio se colocaron las larvas de los dos experimentos, estos recipientes se cubrieron con una tela y se acomodaron en anaqueles; el espacio se cubrió con una lona para mantener una temperatura entre 26-30°C, además de evitar problemas con las lluvias (4A, 4B y 4C). En este lugar también se contaba con plantas de lirio, para su reproducción y para mantener las crías. Para complementar características de la pupa se observaron y obtuvieron pupas en el invernadero de Control biológico.

**2.2.5. Cópula.** Para este evento se utilizaron diferentes partes de la hoja de lirio acuático, como son trozos de pecíolo y lámina foliar. Las observaciones fueron hechas en microscopio estereoscópico. En 15 vasos de plástico de 100 ml se colocaron las partes de la planta y se introdujeron una pareja de picudos en cada recipiente a 26-28 °C. Las observaciones se realizaron diario durante dos semanas, entre las 9-12 hrs día, en un microscopio estereoscópico con luz blanca y en ocasiones con la luz apagada para evitar interrumpir o alterar al organismo.

**2.2.6. Oviposición.** De estas 15 parejas se dio seguimiento a las hembras para observar este evento bajo las mismas características que en la cópula, para evitar su interrupción.



**Figura 1.** Preparación de material. (A) Vasos con algodón en el fondo. (B) Algodón con agua destilada. (C) Corte de pecíolo de lirio. (D) Trozos de pecíolo. (E) Colocación de larva al interior del vaso. (F) Larva en trozo de lirio.

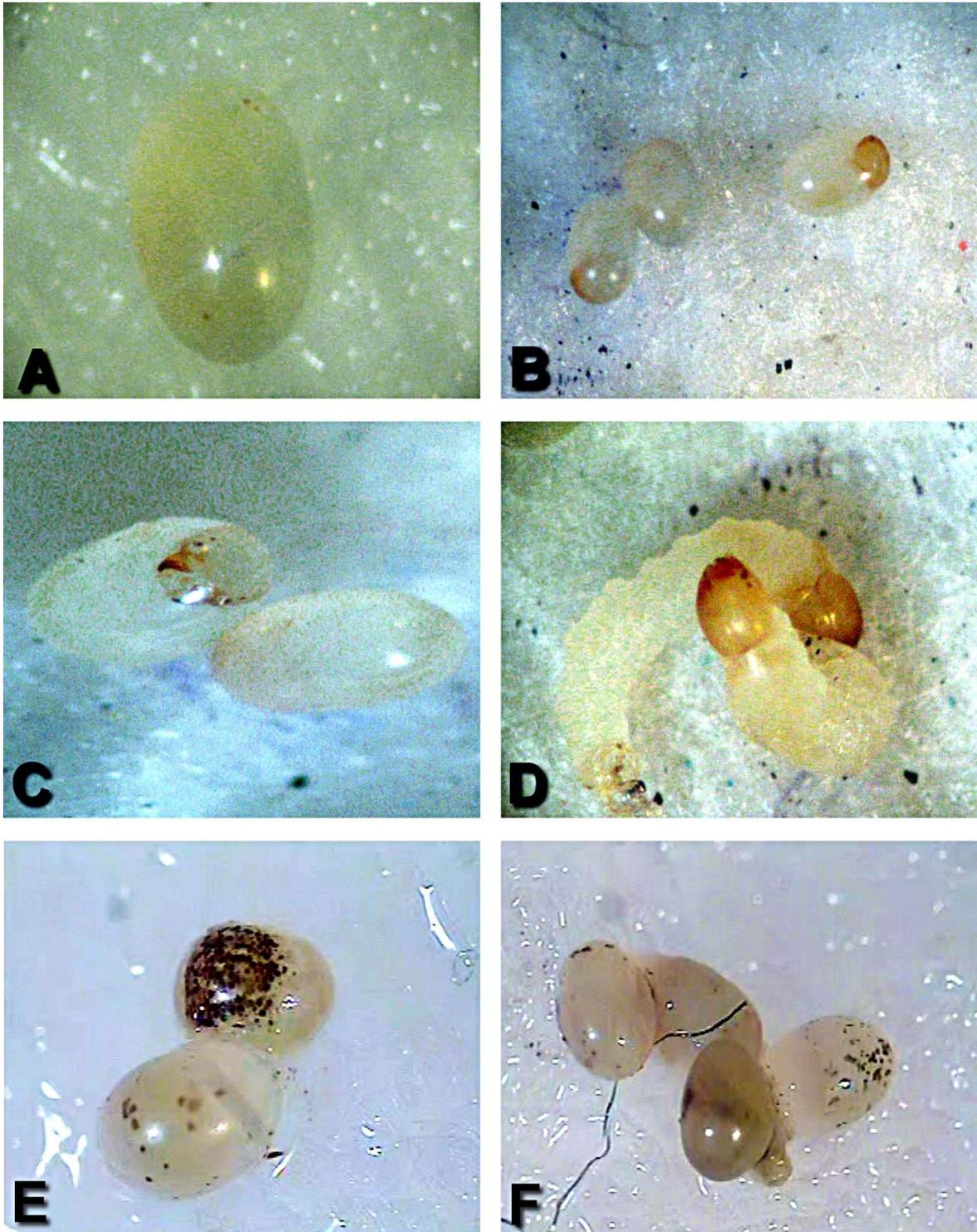
## 2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**2.3.1. Incubación.** El período de incubación de los huevos fue de  $7.076 \pm 0.266$  días a 26-28°C y  $7.14 \pm 3.59$  días a 28-30°C, con un porcentaje de eclosión del 52% y 68% huevos respectivamente (Figura 2A). Del 48% de huevos no eclosionados en el primer experimento, 8 (16%) resultaron afectados por hongos y el resto no eclosionó, mientras que el 32% de los colocados en cámara de cría, 5 (10%) presentaron daño por hongo (Figuras 2E y 2F) y 9 (18%) por bacteria.

En el primer experimento se obtuvo un menor número de eclosiones, y un menor número de huevos afectados por hongos; en cambio en el segundo experimento se obtuvieron mayor número de eclosiones, pero también más tipos de daño. Cabe mencionar, que los huevos extraídos del tejido vegetal, se limpiaron sólo con agua destilada para quitar residuos, ya que se trató de emplear, una solución de cloro 0.05% (de acuerdo con Deloach y Cordo, 1976) en un par de ocasiones, y los huevos no eclosionaron. Cuando el daño fue por hongo, la superficie se cubrió de hifas y finalmente aparecieron cuerpos fructíferos, para corroborar esto se tomaron huevos con este problema y se hicieron preparaciones en agua destilada y se observaron en microscopio óptico en los diferentes aumentos. En el caso de las bacterias, suele presentarse manchas café oscuras en el corion hasta dejar manchas en donde estaba el huevo. Al igual que en los hongos, se procedió a la observación en microscopio óptico, para corroborar el principal agente dañino.

**2.3.2. Eclosión.** En ambos experimentos al llegar el momento para emerger la larva, se observó que tres horas antes del evento el movimiento de la larva se intensifica, contraen y estiran en repetidas ocasiones su cuerpo, cuando hace contacto con el corión, con las mandíbulas dando mordiscos a éste para romperlo (Figuras 2B y 2C). Finalmente al romper el corion logró sacar la cabeza, una vez liberada la cápsula cefálica con las mandíbulas trata de buscar con qué sujetarse, mientras que siguen las contracciones con su cuerpo y poco a poco se va liberando, el tiempo registrado en video para este evento en 10 repeticiones va de los 8 a 12 minutos desde que rompe el corion hasta sacar todo su cuerpo (Figura 2D).

El tiempo de incubación fue similar a lo reportado por Pichidswanchai en 1996 y difiere del rango observado por Center *et al.* (1998), que va de 7-10 días, a lo encontrado por DeLoach y Cordo (1976), los huevos de *N. eichorniae* colocados a 25 °C, se incubaron en un promedio de 9.2 días; mientras que los que permanecieron a 30 °C lo hicieron en 7.9 días. Por último nuestro resultado se asemeja más a los huevos que se mantuvieron a 35 °C, ya que el promedio de incubación fue de 6.9 días; y nuestros resultados en 26-30 fueron de 7 días. También similar a los 6.95 días promedio de Oke y Adekoya (2007) a 28±2 °C.



**Figura 2.** Incubación de huevos de *N. eichhorniae*. (A) Huevo sobre algodón húmedo. (B y C) Huevos cerca de eclosionar. (D) Larvas recién emergidas. (E y F) Huevos con daño por hongos.

### 2.3.3. Desarrollo de la larva.

La larva de *Neochetina eichhorniae* tiene que pasar por tres instares, su cuerpo es blanco a crema y son ápodas (Martínez, 2005).

**PRIMER ÍNSTAR.** (Figura 3A) Este instar mide 2 mm de longitud, su cápsula cefálica se observó de una coloración aún clara, pero esta esclerotizada; este estadio se desarrolla de manera natural en los pecíolos jóvenes de la planta, por lo que los trozos colocados en los vasos le sirvieron de refugio y alimento con el tejido de aerénquima. Del 52% de larvas emergidas en el primer tratamiento (26-28°C), un 10% muere y 21 organismos lograron completar el primer instar; en el caso del 68% de las emergidas a 28-30 °C, 25 larvas completaron esta fase lo que representa el 50%. La duración de este estadio fue muy similar, con  $29.90 \pm 0.538$  días en el primer caso y  $30.48 \pm 0.770$  en el segundo (Figuras 6B y 6C). Aunque en el experimento de 28-30 °C, son más larvas las que completan el primer instar, también fue mayor el número de larvas muertas, que en este caso pudo deberse más por daño mecánico al cambiar a la larva del trozo de lirio (Cuadros 1 y 2).

**SEGUNDO ÍNSTAR.** (Figura 3A) Estas larvas miden 3 mm de longitud, se desarrollan de forma natural en la corona y base de los pecíolos de la planta, aunque la consistencia de estos tejidos es más sólida que el aerénquima del pecíolo, éste último sirvió para el desarrollo del instar y su alimentación, ya que se encontraron las marcas de desplazamiento de la larva con una coloración café por el tejido necrótico de la epidermis y aerénquima. El porcentaje de larvas que completaron el segundo instar a 26-28°C, fue del 32% (16 larvas), en tanto que en el segundo experimento el 44% (22 larvas) completó esta fase; su duración fue de  $30.937 \pm 0.938$  y  $29.909 \pm 0.811$  días respectivamente (Figuras 3D y 3E). En esta fase el número de larvas muertas disminuyó un 50% que en el primer instar, al sólo registrarse 8 decesos entre ambos experimentos (Cuadros 1 y 2). La principal causa de estos decesos puede atribuirse al daño mecánico por la manipulación de los organismos al cambiar el lirio, esto se debió a que las larvas se introducen por el tejido de aerénquima hasta llegar casi a la epidermis, de esta manera, no podemos observar en qué lugar se encuentra exactamente la larva, por lo que al remover el tejido se ocasionó daño a la larva; en trabajos

como Center *et al.*, (2002) Oke y Adekoya (2007) utilizan las plantas completas para el desarrollo de estos organismos y no se observan decesos en sus observaciones.

TERCER ÍNSTAR (Figura 3A). Esta larva mide 6 mm de longitud y su ubicación en la planta es en la parte basal o corona al igual que el segundo instar, por lo que la alimentación fue diferente al proporcionarle trozos de pecíolo en vasos de plástico por alrededor de 15 días, pasado este tiempo se colocaron en las plantas de lirio acuático, utilizando un pincel fino para depositarlas en la corona o cogollo de la planta, en donde se alimentaron por una semana y media, el daño que ocasiona en esta parte de la planta es la formación de perforaciones, hasta deshacer esta parte del cogollo con una forma de pasta o masa fétida. Posteriormente bajaron a las raíces, en donde comienzan a cortar con sus mandíbulas, los pelos radiculares más delgados, los cuales unen al parecer como si utilizará alguna sustancia pegajosa. Conforme avanza el tamaño de estas uniones permanece en el interior hasta formar un saco que cierra completamente. Se tomó por completo el instar hasta que la larva estuvo completamente cubierta por los pelos radiculares. Así el 28% (14 larvas) completaron el tercer instar en un promedio de  $30.428 \pm 0.646$  días en el primer experimento; mientras que en el segundo el 38% (19) larvas completó la fase en  $30.578 \pm 0.961$  días (Cuadro 1 y 2).

El número de ínstaes larvales son tres con duración de 30 días aproximadamente, esto coincide con los 30-45 días reportados por Center *et al.* (2002) (mismas observaciones citó en 1988), Pichidswanchai (1996) con  $30.80 \pm 2.52$  días. Pero se encontraron diferencias con los resultados obtenidos por Oke y Adekoya (2007), que obtuvo una reducción en el tiempo de desarrollo de los tres ínstaes (el primero de  $11.15 \pm 1.20$  días, el segundo de  $12.5 \pm 1.88$  días y el tercero de  $49 \pm 2.21$ ) a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C, y en nuestras observaciones no hubo tal a ésta misma temperatura, tal vez debido a la constante manipulación o como lo menciona Morán en 2004, que existen variaciones en las condiciones en los sitios de campo y temporada que pueden influir en el buen desarrollo del organismo, además el trabajo realizado por Oke fue bajo condiciones atmosféricas fuera del laboratorio y para el cual utilizó plantas completas para la incubación de las larvas.

La mayoría de las exuvias encontradas de cada ínstar se encontraron pegadas, en la parte distal del abdomen de la larva y entre el tejido vegetal del pecíolo, en donde se pega al ser arrastrado por la larva. Para observar este evento, no se obtuvo el éxito deseado, ya que las larvas en general se dirigieron a las capas más profundas del aerénquima; además, el tiempo para observar con las luces tuvo que ser corto para evitar la pérdida de humedad del pecíolo y de la larva.

Aunque en trozo de pecíolo es relativamente pequeño se presentaron dificultades para encontrar las exuvias, debido a que éstas tienen una apariencia translúcida, que al estar en contacto con el agua del tejido, se confunde con éste, por ello fue necesario utilizar el máximo aumento del microscopio y una intensidad baja en las luces, para evitar el reflejo en el tejido. Algunas de las características que podemos mencionar y que nos llevaron al reconocimiento de la exuvia fueron: la cápsula cefálica, que a veces se encontró casi rota, al tomar con una aguja una de las partes se obtenía el resto de la anterior cubierta de la larva. En otras ocasiones se observó que la exuvia era dejada por la larva en las zonas en donde se alimentaba, por lo cual el cambio de coloración oscura del tejido del pecíolo contrastaba con una exuvia ligeramente blanquecina, con algunas estrías aún más blancas unidas a la cápsula cefálica abierta en la parte frontal.

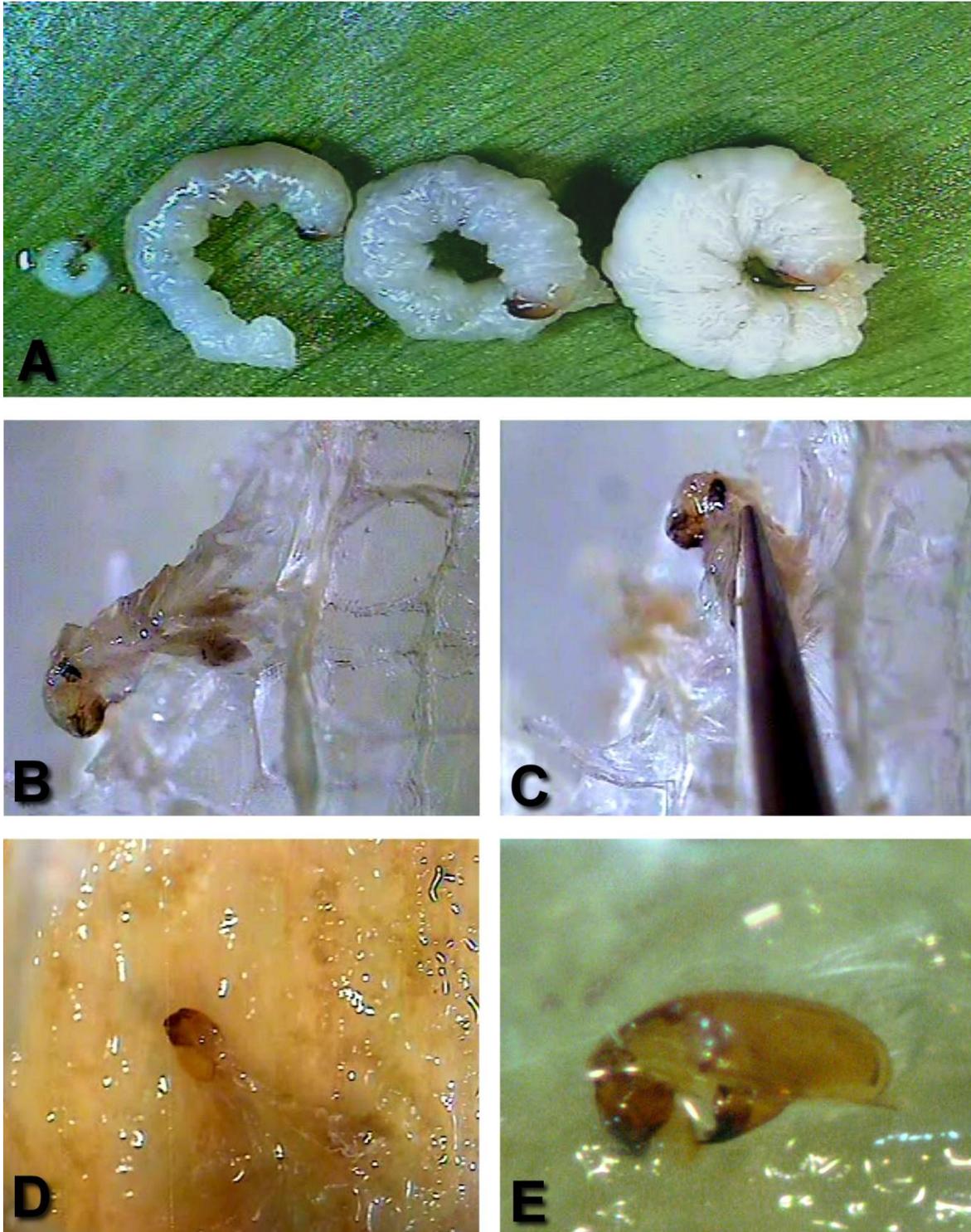
Sólo en un par de ocasiones se encontraron larvas inmóviles o quiescentes, que se pensó estaban muertas, sin embargo se dejaron en sus vasos para observarlas en días posteriores y al paso de dos días las larvas habían mudado, sin embargo es necesario seguir más de cerca este evento.

**Cuadro 1.** Ciclo de *N. eichhorniae* a una temperatura oscilante de 26-28 °C.

# de huevo	Tiempo de eclosión	Larvas (ínstar)				Pupa	Tiempo Total
		1er	2o	3er			
1	7	x	0	0	0		
2	7	29	34	29	29	121	
3	7	x	0	0	0		
4	7	30	31	30	30	128	
5	7	30	31	30	30	128	
6	7	30	31	30	30	128	
7	7	30	30	30	30	127	
8	7	29	0	0			
9	7	30	31	0			
10	7	29	0	0			
11	7	x	0	0			
12	7	30	31	30	31	129	
13	8	30	30	31	30	129	
14	8	31	31	0			
15	7	30	30	31	30	128	
16	7	30	31	31	30	129	
17	7	30	0	0			
18	7	30	31	31	30	129	
19	7	30	31	31	30	129	
20	7	30	0	0			
21	7	29	0	0			
22	7	30	30	31	30	128	
23	7	30	31	31	0		
24	7	x	0	0			
25	7	x	0	0			
26	7	31	31	30	29	128	
Promedio	7.076	29.904	30.937	30.428	29.928	127.769	
Error	0.266	0.538	0.928	0.646	0.474	2.127	
Porcentaje	52	42	32	28	26		

**Cuadro 2.** Ciclo de *N. eichhorniae* en temperatura oscilante de 28 a 30 °C.

# de huevo	Larvas (ínstar)					
	Eclosión.	1er ínstar	2o ínstar	3er ínstar	Pupa	T. total
1	7	32	29	31	29	128
2	7	32	28	31	30	128
3	7					
4	7	31	30	29	29	126
5	7	32	28	31	30	128
6	7	30	30	31	30	128
7	7	30	30	31	30	128
8	7					
9	7	31	30	31	30	129
10	7					
11	8					
12	8	30	30	32	31	131
13	8	30	30	31	30	129
14	7	30	31	30	30	128
15	7	30	30	31	32	130
16	7					
17	7	31				
18	7	30				
19	7					
20	7	30	30	31	30	128
21	7	30	30	32	29	128
22	8					
23	8	31				
24	7	30	32	31	31	131
25	7	30	30	28	28	123
26	7	32	30	30	30	129
27	7	30	30	30	30	127
28	7	30	30	30	30	127
29	7	30	30	30	30	127
30	7	30	30			
31	7	30	30			
32	7					
33	7	30	30			
34	7					
Promedio	7.147	30.48	29.909	30.578	29.947	128.052
Error	0.359490	0.77028	0.811177	0.961237	0.848114	1.778
Porcentaje	68	50	44	38	38	

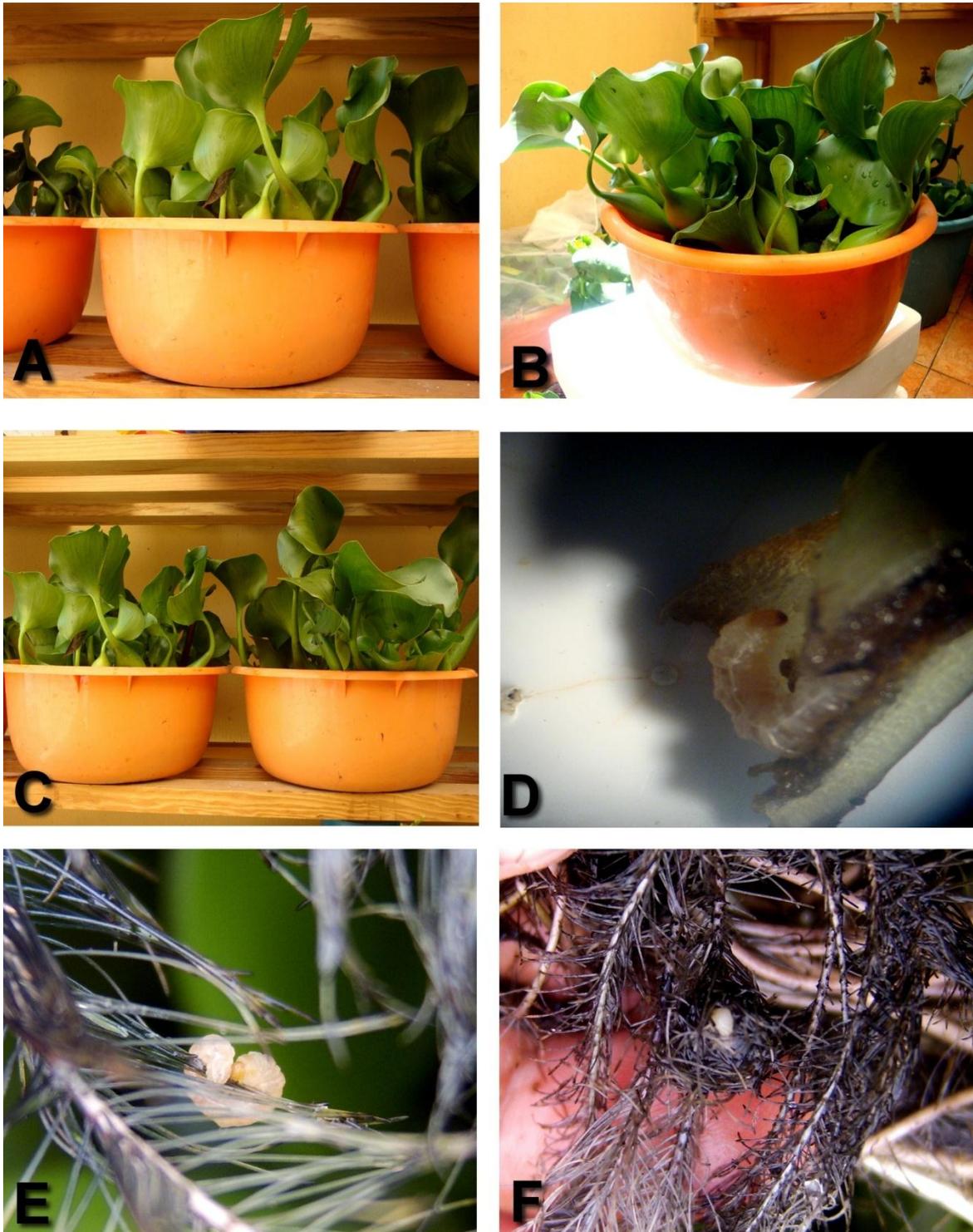


**Figura 3.** Desarrollo larval de *N. eichhorniae*. (A) Los tres íntares larvales, el segundo es variable. (B y C) Exuvia de primer íntar. (D) Exuvia de segundo íntar. (E) Cápsula cefalica de exuvia de segundo íntar.

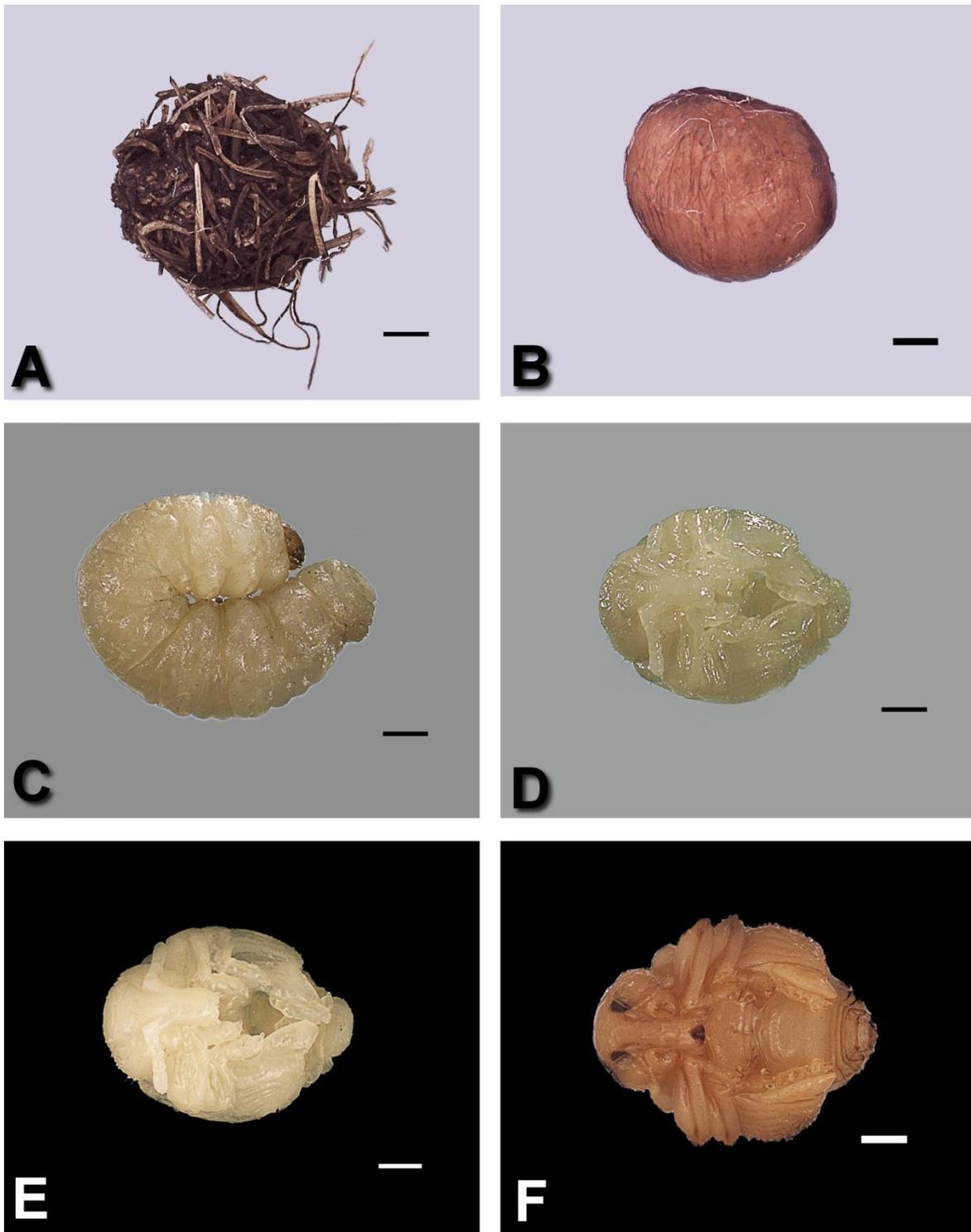
**2.3.4. Pupa.** Una vez que los organismos obtuvieron su alimento (Figura 4D) y llegaron a las raíces principales, (Figura 4E) cortaron las raicillas de aspecto plumoso, con las cuales cubrieron sus cuerpos por la parte inferior (4F). Al cubrirse por completo no es posible saber lo que sucede al interior de estos sacos, ya que si se trata de quitar las raicillas se puede dañar a las larvas.

Para observar el tiempo de desarrollo y las características del organismo se utilizaron pupas colectadas en el invernadero de control biológico, éstas son de forma ovoide, su tamaño es de  $6.5 \pm 0.742$  mm de altura y  $4.45 \pm 0.273$  mm de ancho (Figura 5A). Al abrir 30 sacos de una semana de duración se observa aún la forma de larva, dentro de la envoltura (Figura 5B). En 50 sacos con tiempo de dos semanas, se observaron 12 organismos en fase de larva aún (Figura 5C), y 38 en fase de pupa con algunas líneas de segmentación. Sin embargo en otras observaciones, se encontró una masa de forma ovoide, la parte unida a la raíz es más reducida, en la cual estaba la exuvia de la larva, que fue reconocida por la cápsula cefálica; mientras que el lado contrario es ancho y de borde redondeado, su superficie es lisa, sin embargo se aprecian líneas o bordes que se dibujan ligeramente en esta parte. En 30 sacos abiertos correspondientes a la tercera semana, se definen más áreas y segmentos en la pupa, sobresalen las patas, rostrum, ojos, segmentación del abdomen y élitros (Figura 5E). Sigue observándose de color blanquecino pero ya en su estructura bien definida. En otros organismos se notó una cubierta que le da un aspecto brillante y con una coloración amarillenta a café clara (Figura 5D). En 30 sacos que son de la cuarta semana, se observó la forma del adulto, su cuerpo aún no está esclerosado, por lo que al emerger presentan un color café claro (Figura 5F). Una vez transcurridos un promedio de  $29.928 \pm 0.474$  días emergen 13 adultos de las 14 pupas anteriormente a  $26-28$  °C y los 19 adultos del mismo número de pupas, del segundo tratamiento con un promedio de  $29.947 \pm 0.848$  días (Cuadro 1 y 2). El tiempo de la pupa es similar a lo reportado por Center *et al.*, 2002, Martínez en 2005, Deloach and Cordo en 1976, quienes obtienen un total de 30 días de duración, aunque Center *et al* en 1988 estima que la duración del estado de pupa a su cambio a adulto es de 7-10 días y en 2002 menciona que es de 7-8 días de duración estos valores están por debajo de lo encontrado en este trabajo en donde la larva aunque ya cubierta de pelo tarda una semana más, por lo que éste período puede durar alrededor de tres a tres semanas, que difiere también a lo reportado por Oke (2007) y Pichidswanchai,

1996 en donde la pupa de *N. eichhorniae* dura de 12-15 días, pese a que se trabajó bajo temperaturas similares.

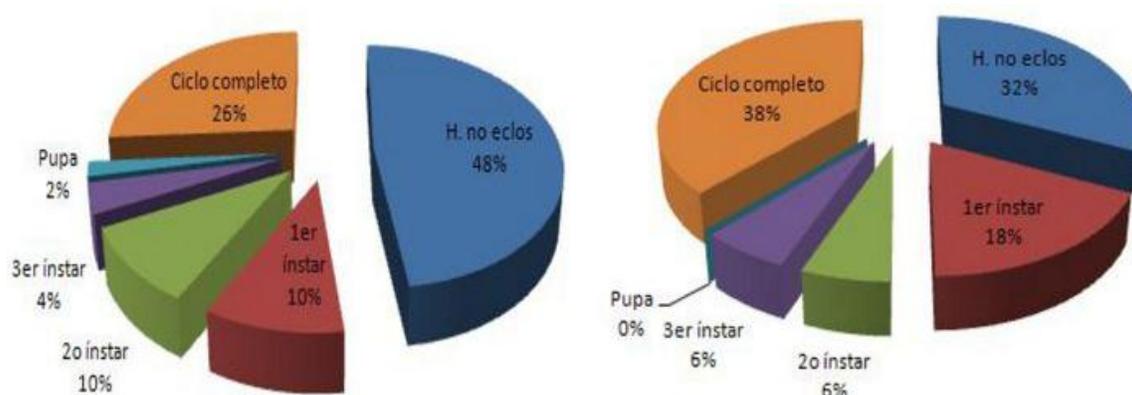


**Figura 4.** Preparación de tinas para pupas. (A, B y C) Plantas inoculadas con larvas de tercer ínstar. (D) Larva de tercer ínstar en parte basal de pecíolo. (E) Larva tercer ínstar en raíces de lirio. (F) Larva envolviéndose en raíces de lirio.



**Figuras 5.** Características del desarrollo de la pupa de *N. eichhorniae*. (A), pupa con cubierta de pelos radiculares. (B), pupa sin pelo; (C), larva preparándose para pupar; (D y E), pupa de 3 semanas; (F), pupa comienza esclerosamiento de cuerpo en la cuarta semana.

**2.3.5. Mortalidad en los diferentes estados de desarrollo de *N. eichhorniae*.** En la figura 6 se observa la mortalidad en cada estado de desarrollo. El mayor porcentaje de mortalidad corresponde a la fase de huevo, con un 48% (26-28 °C) y un 32% (28-30°C) que no eclosionaron; seguido del estado larval, con 20% en los dos primeros instares del primer tratamiento, semejante al 18% del primer ínstar del segundo tratamiento. La mortalidad disminuyó desde el tercer instar larval y fue baja en el estado de pupa; obteniendo así que el 26% de organismos completo su ciclo a 26-28 °C y el 38% lo hizo a 28-30°C.



**Figura 6.** Porcentaje de mortalidad en cada uno de los estados de desarrollo de *N. eichhorniae*. Tratamiento de 26-28 °C (Izquierda). Tratamiento de 28-30°C (Derecha).

En el cuadro 3 se muestra la duración de los estadios de desarrollo de *Neochetina eichhorniae*, observados por autores como Pichidswanchai, 1996 (Tailandia), Julien *et al.*, 1999 (Argentina y Uganda) y Oke y Adekoya, 2007 (Nigeria). Los datos obtenidos en los experimentos de este estudio no varían significativamente ( $F=0.167167$   $P>0.05$ ) en cuanto a la duración del ciclo. En contraste con los resultados de otros autores como Oke y Adekoya (2007) en donde se observaron 20 huevos y obtuvieron todos los organismos hasta la fase de adulto en menor tiempo a 28°C, lo cual no observamos en temperaturas de 28-30 °C

**Cuadro 3.** Países en donde se ha evaluado el ciclo biológico de *Neochetina eichhorniae*. Tomado de Julien *et al.*, 1999

Fase de desarrollo	País	Argentina	Uganda	Nigeria	Tailandia	Resultados	
Huevo		7-14	10	6-7	7-7.6	7.07	7.14
Larva							
Ínstar I				11-12		29.90	30.48
Ínstar II				12-13		30.93	29.90
Ínstar III				49		30.42	30.57
T. T. Larva		75-90	58	120	30	90.62	90.95
pupa		14-20	28	12	14.5	29.92	29.94
Tiempo Total		96-124	96	91.35	52	127.769	128.05

**2.3.6. Emergencia del adulto.** Cuando emerge el picudo, rompe su cubierta con las mandíbulas, por ello lo primero en salir es el rostrum y la cabeza. Una vez que se observa el pronoto, salen al exterior las uñas y tarsos de las dos patas anteriores con las cuales impulsa el resto de su cuerpo hasta que logra sacar las dos patas posteriores para poder liberar su cuerpo por completo. La emergencia del adulto de la pupa se llevó a cabo en aproximadamente una hora.

**2.3.7. Alimentación del adulto.** El picudo mantiene sus patas extendidas lateralmente, se inclinan y extienden el rostrum de manera que a vista dorsal se observa recto. Con un abrir y cerrar de las mandíbulas comienza a raspar la superficie de la hoja, al mismo tiempo realiza movimientos con la cabeza de adelante hacia atrás. El recorrido termina cuando el rostrum queda casi entre las dos coxas de las patas anteriores. Vuelve a repetir estos movimientos en varias ocasiones (de 3 a 4 veces en un mismo lugar, hasta dejar visibles las fibras de la lámina o formar un agujero en la misma). Cabe mencionar que mientras se alimentan, los picudos no mueven el resto del cuerpo, ya que está bien fijado por uñas y espolón a la superficie de la hoja, solamente la cabeza es móvil por medio del pronoto.

Estas observaciones complementan lo observado por Center en 1987, Center y Wright en 1991 y Morán en 2004 que mencionan la forma de las marcas y la importancia del tipo de tejido del que se alimentan.

Para realizar una marca de  $1 \text{ mm}^2$ , el macho se lleva alrededor de 4 minutos y medio en promedio, mientras que la hembra suele hacer más rápido estas marcas del mismo tamaño ( $1 \text{ mm}^2$ ), en 2.5 minutos en promedio. De acuerdo con Deloach y Cordo (1976), el macho realiza marcas de alimentación por día equivalentes a  $4.1 \text{ mm}^2$  en el haz de la hoja  $9.1 \text{ mm}^2$  en el envés y  $10.4 \text{ mm}^2$  en el pecíolo, en cambio las marcas realizadas por la hembra son de  $12.3 \text{ mm}^2$  en haz,  $14.2 \text{ mm}^2$  en envés y  $34.7 \text{ mm}^2$  en pecíolo.

**2.3.8. Cópula.** No se observó algún tipo de cortejo, simplemente si la hembra no es receptiva impide que el macho se acerque o se posicione en la parte posterior de ella, y se aleja refugiándose bajo el trozo de pecíolo. Cuando el macho logró colocarse en la parte posterior de la hembra, se sujetó con uñas y espina en el margen de la parte anterior de los élitros, quedando en cierta forma de manera vertical en comparación a la hembra. Una vez tomada esta posición se observan contracciones en la parte distal del abdomen del macho, en donde comienza a salir el edeago para introducirlo en el pigidio de la hembra, este evento antes de la penetración duró de  $9.68 \pm 3.51$  minutos. La cópula de estos organismos dura alrededor de  $37 \pm 7.53$  minutos en promedio, durante estas observaciones se utilizó una lámpara de luz blanca a baja intensidad, ya que en algunas ocasiones al percibir la luz los organismos se separaban y se ocultaban en los tejidos (7B). La utilización los trozos del pecíolo nos facilitó su manipulación para observar a los picudos, cuando estos se desplazaban a otro punto del vegetal, que además les proporcionó alimento a los organismos, pues se observaron marcas en epidermis y aerénquima (7A); tejidos que contienen agua y nutrientes (N, P, K y Mg y bajo en Ca y Mn) como lo mencionan Center (1987); Center y Wright (1991) y Morán (2004).

**2.3.9. Período de preoviposición.** El período de preoviposición de las hembras de *Neochetina eichhorniae* fue de  $7.8 \pm 0.611$  horas. Aunque también se observó cópula en parejas como la 10, 13 y 15 en los primeros días del experimento, estos ovipositaron a 5, 4 y 5 días después; tal vez las características del tejido no fueron las ideales para el desarrollo de estos organismos, ya que los adultos se alimentan en su mayoría de la lámina

foliar, las cuales contienen más nutrimentos que el pecíolo, por lo tanto esto pudo afectar el este evento (Cuadro 6).

**2.3.9.1 Oviposición.** Se observó a la hembra que recorre y examina la superficie del pecíolo para seleccionar el sitio de oviposición, una vez que lo encuentra la hembra realiza contracciones, expulsa y contrae el ovipositor, esta acción no se interrumpe aunque la hembra esté en movimiento (7C, 7D y 7E). Una vez elegido el sitio con las mandíbulas perfora la superficie del pecíolo y el tejido del interior que corresponde al aerénquima, por lo general llega a la tercera capa de éste, el cual le ofrece protección y humedad para el desarrollo del huevo (7F). La perforación realizada tiene una forma circular, por la cual la hembra puede introducir el ovipositor para colocar sus huevos.

Esto es similar a lo observado por Oberholzer (2001), Center y *et al.* (2002), Oke y Adekoya (2007) quienes reportan que estos picudos realizan marcas de alimentación en la lámina foliar en donde suelen ovipositar al igual que en los pecíolos, que presentan orificios de oviposición redondos y pequeños. De acuerdo con Howden (1995), realizó una lista de 10 categorías (si colocan huevos entre las flores, si una hembra coloca uno o varios huevos, si forma una especie de saco para ovipositar o lo hace cubriendo sus huevos con la secreción de exudados, o realizando perforaciones con el rostrum en cortezas y semillas) basándose en las estructuras relacionadas para la oviposición en Curculionidae. Las categorías que podrían aplicarse en *N. eichhorniae* son la 3 en la que los huevos son colocados por una o algunas hembras en o sobre hojas, vainas, pecíolos vivos o muertos, en un sitio preparado por el rostrum.

No se observó el instante en que la hembra oviposita, por ello no podemos saber el tiempo que tarda en ovipositar, pero si podemos deducir que éste varía dependiendo del número de huevos que coloque en un solo agujero (de 1-3 como se encontraron en este trabajo). Deloach y Cordo en 1976 mencionan que una hembra coloca de 3 a 4 huevos en un mismo agujero en un tiempo de 15 minutos. El total de huevos por hembra observado en 10 días fue de 70, el día 1 fue el que presentó mayor cantidad con 21 (30%), seguido por los días 6 y 9 con 13 y 12 huevos respectivamente (18.5% y 17.1 %). El número de huevos varía de 1-8; las hembras que ovipositaron más cantidad de éstos fueron la 4, 7 y 11, las dos primeras con un promedio de 1 huevo por día (10 huevos cada una), mientras que la última

ovipositó a partir del sexto día un total de 8 huevos (11.4%) (Cuadro 4). Podemos observar que 10 hembras colocaron cantidades de 1 a 6 huevos, pero en general todas ovipositaron en esta prueba. De acuerdo con DeLoach y Cordo (1976); Center, (1997); Center *et al.*, (2002) y Martínez, (2005), la hembra de *N. eichorniae* coloca 7 huevos al día, en las hembras 4 y 7 el primer día colocaron 6 y 8 huevos respectivamente, sin embargo después de este día la cantidad fue muy baja; esto puede deberse por la alimentación de los organismos fue sólo de pecíolo, y requieren de los tejidos de la lámina foliar como lo mencionan Center en 1987, Center y Wright en 1991 y Morán en 2004, ya que éstos provén de nutrientes al picudo para su desarrollo. También DeLoach y Cordo (1976) observaron la oviposición de las hembras de *N. bruchi* durante 87 días en condiciones de laboratorio, éstas colocaron un promedio de 5 huevos por día en la primer semana y esta cantidad bajo rápidamente a 1.5 huevos al día.



**Figura 7.** Adultos de *N. eichhorniae*. (A) Hembra alimentándose en lámina foliar. (B) Cópula. (C, D y E) Contracciones de ovipositor en la hembra. (F) Huevo dentro de tejido de pecíolo.

**Cuadro 4.** Número de huevos colocados por las hembras de *N. eichhorniae* durante 10 días.

Hembra	Días										Porcentaje	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	To tal	
1	2	0	0	0	0	2	0	1	0	1	6	8.5
2	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	3	4.2
3	0	0	1	0	0	0	0	2	0	1	4	5.7
4	6	1	0	0	0	0	0	1	0	2	10	14.2
5	0	4	0	0	0	0	0	1	0	1	6	8.5
6	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	3	4.2
7	8	0	0	0	0	1	0	0	1	0	10	14.2
8	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5	7.14
9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1.4
10	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	3	4.2
11	0	0	0	0	0	4	2	0	1	1	8	11.4
12	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	2.8
13	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	3	4.2
14	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	4	5.7
15	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	2.8
Total	21	6	1	0	0	13	9	6	2	12	70	
Porcentaje	30	8.5	1.4			18.5	12.8	8.5	2.8	17.1		

## CAPÍTULO III

### MORFOLOGÍA DE *Neochetina eichhorniae* (Warner) (Coleoptera: Curculionidae).

#### 3.1. INTRODUCCIÓN

El género *Neochetina* pertenece a Coleóptera, familia Curculionidae, subfamilia Eirrhiniinae y a la tribu Bagoini. Este género está conformado por 6 especies originarias del continente americano (de la parte Sur y Central), todas son semiacuáticas, y se alimentan de plantas de la familia Pontederiaceae. Presentan un amplio rango de variación en los caracteres taxonómicos utilizados para diferenciarlas (Warner, 1970; O'Brien, 1976; Center *et al.*, 1988). Estas características se han retomado por diversos autores en la actualidad. Los huevos, las larvas y la pupa son difíciles de distinguir entre las especies (Center *et al.*, 2002). Estos aspectos son esenciales y pueden ser la diferencia para un éxito o fracaso de un programa de control, existen antecedentes en el mundo de fracasos por una mala identificación del agente de control biológico (González-Hernández y López-Arrollo, 2007). Por lo tanto el presente trabajo tuvo como objetivo: Describir algunos aspectos de la morfología externa del huevo larva y adulto de *Neochetina eichhorniae* utilizado en el control biológico de lirio acuático e ilustrar las estructuras morfológicas en que se basa la taxonomía de la especie.

#### 3.2. MATERIALES Y MÉTODO

El material se examinó, dando énfasis en las principales características morfológicas de la especie. Las observaciones de huevo se hicieron *in vivo*, colocándolos en una gota de agua destilada sobre el portaobjetos; y para su medición se utilizaron huevos conservados en alcohol al 70%. Para las larvas, se llenaron cajas de Petri chicas de gel, en donde fueron colocados de manera vertical, para la toma de imágenes de la cápsula cefálica, que posteriormente fueron utilizadas para su medición. Las larvas utilizadas en microscopía de barrido, se obtuvieron de material fijado en alcohol al 70%, se deshidrataron en alcoholes al 80, 90 y 100%, colocándose en una secadora de punto crítico Samdri 780A. Las muestras se montaron en portaobjetos metálicos de 1 cm de diámetro, con cinta conductora de cobre y se cubrieron con una capa de oro de 70 nm, en una ionizadora de oro marca JEOL Fine

Coat JFC-1100. Las fotografías se realizaron en la unidad de microscopía del Colegio de Postgraduados, en el microscopio electrónico de JEOL JSM-6390/LGS.

El estudio morfológico y registro fotográfico de las estructuras de los adultos (hembra y macho), como cabeza, tórax, abdomen, élitros y patas (anteriores, medias y posteriores), se realizaron en seco. En cambio en el caso de las alas se realizaron preparaciones semipermanentes con glicerina (Domínguez, 2006).

También se realizaron montajes en bálsamo de Canadá para observar la genitalia de hembra y macho. Para esto se removió el abdomen entero de los especímenes, macerándose en hidróxido de potasio (KOH) al 10% a 80 °C, durante 20 minutos y se lavó en agua acidulada antes de extraer las estructuras y realizar los montajes (Gaiger y Vanin 2008; Castañeda *et al.*, 2008). En las preparaciones se elevó el cubreobjetos con dos bandas de papel de 20 mm de largo y 1 de ancho.

Las imágenes y escalas (obtenidas de un micrómetro de objeto Carl Zeiss) se obtuvieron con un Fotomicroscopio Tessoovar y un Fotomicroscopio III, ambos de Carl Zeiss, con una cámara digital para microscopía Paxcam 5. Las medidas se hicieron con el analizador de imágenes Image tool for Windows versión 3.0 (Wilcox *et al.*, 2002).

### **3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

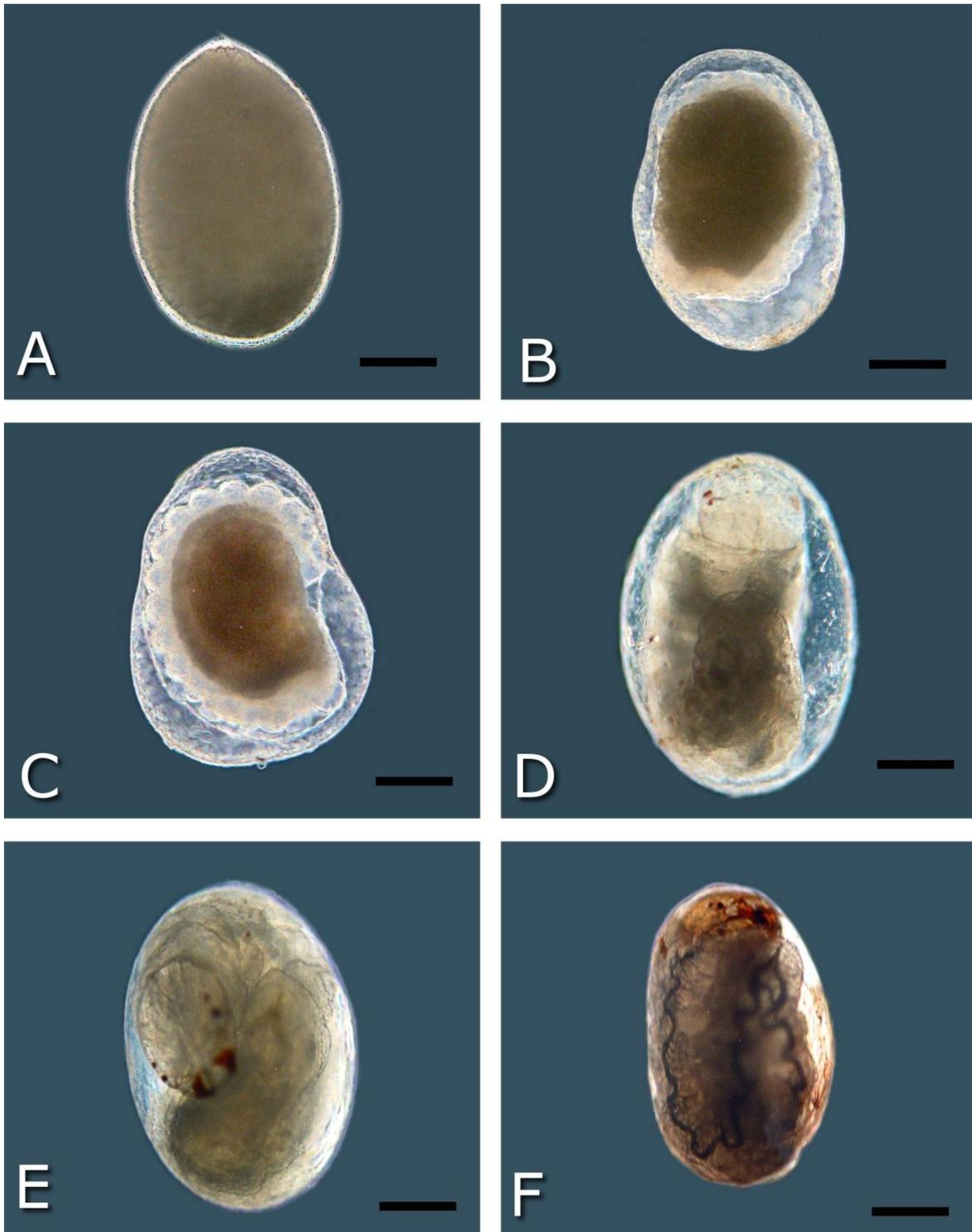
#### **3.3.1. Huevo.**

Poco se sabe sobre la morfología del huevo.

El huevo de *Neochetina eichhorniae* tiene en promedio 894  $\mu\text{m}$  de longitud y 577  $\mu\text{m}$  en su parte más ancha. Es ligeramente más angosto en su polo anterior, en el cual se distingue en muchos ejemplares una pequeña protuberancia redondeada. Es característico de este huevo su corion completamente liso y transparente, de consistencia suave, casi membranosa, que permite ver el interior, de manera que el aspecto cambiante de textura y coloración que muestra obedece a los diversos grados del desarrollo embrionario. En el día 1, antes de desarrollarse el embrión, el contenido del huevo es granuloso casi homogéneo, excepto en sus bordes donde el material es un poco más claro. En el espacio comprendido entre el

corion y el cúmulo de material denso se puede observar una capa de vitelo formada por gránulos esféricos uniformes, que vistos al microscopio dan la apariencia de que la superficie del huevo pueda tener alguna ornamentación. En lugares en donde el contenido del huevo hace inflexiones se puede ver la membrana vitelina, también hialina y lisa. La naturaleza flexible del corion permite que la totalidad del huevo cambie de forma para adaptarse a las nuevas distribuciones del vitelo y tejido embrionario que se mueven en el interior (Figura 1A). En lo referente al tamaño, es similar a lo reportado por Martínez (2005) 0.88 mm, y superior a los 0.75 mm mencionados por Center *et al.* (1998), y Center *et al.* (2002). En lo que se refiere a la forma, es igual a lo que se reporta por estos autores, pero ellos no detallan el desarrollo del huevo.

Para el día 2, en las fases iniciales del desarrollo embrionario hay una diferenciación del contenido del huevo en un material denso al centro, que se separa del vitelo más claro en la periferia. De este material central se va a diferenciar posteriormente el embrión, el cual se distingue del resto del contenido porque muy pronto muestra las características constricciones que separan a cada uno de los segmentos embrionarios (Figura 1B). En el día 4, el primordio embrionario en desarrollo se encuentra en el exterior de este cúmulo, envolviendo a una gran masa central de vitelo. Toda la periferia del embrión está envuelta por la membrana embrionaria llamada serosa, mientras que la membrana amnios envuelve al embrión sólo ventralmente (Figura 1C). Cuando el embrión se cierra dorsalmente (día 6), la futura larva ya se puede observar como tal a través del corion (Figura 1D). A pesar de que el insecto en formación tiene en esta fase la misma coloración que el vitelo que aún se conserva y las membranas embrionarias, es fácilmente discernible la cápsula cefálica ovalada en la cual se distinguen y pigmentan, antes que cualquier otra estructura, las mandíbulas y los ojos simples (Figura 1E). Después viene un esclerosamiento general de la cabeza y pronto se distinguen los dos troncos traqueales longitudinales que recorren longitudinalmente todo el cuerpo de la larva (Figura 1F).



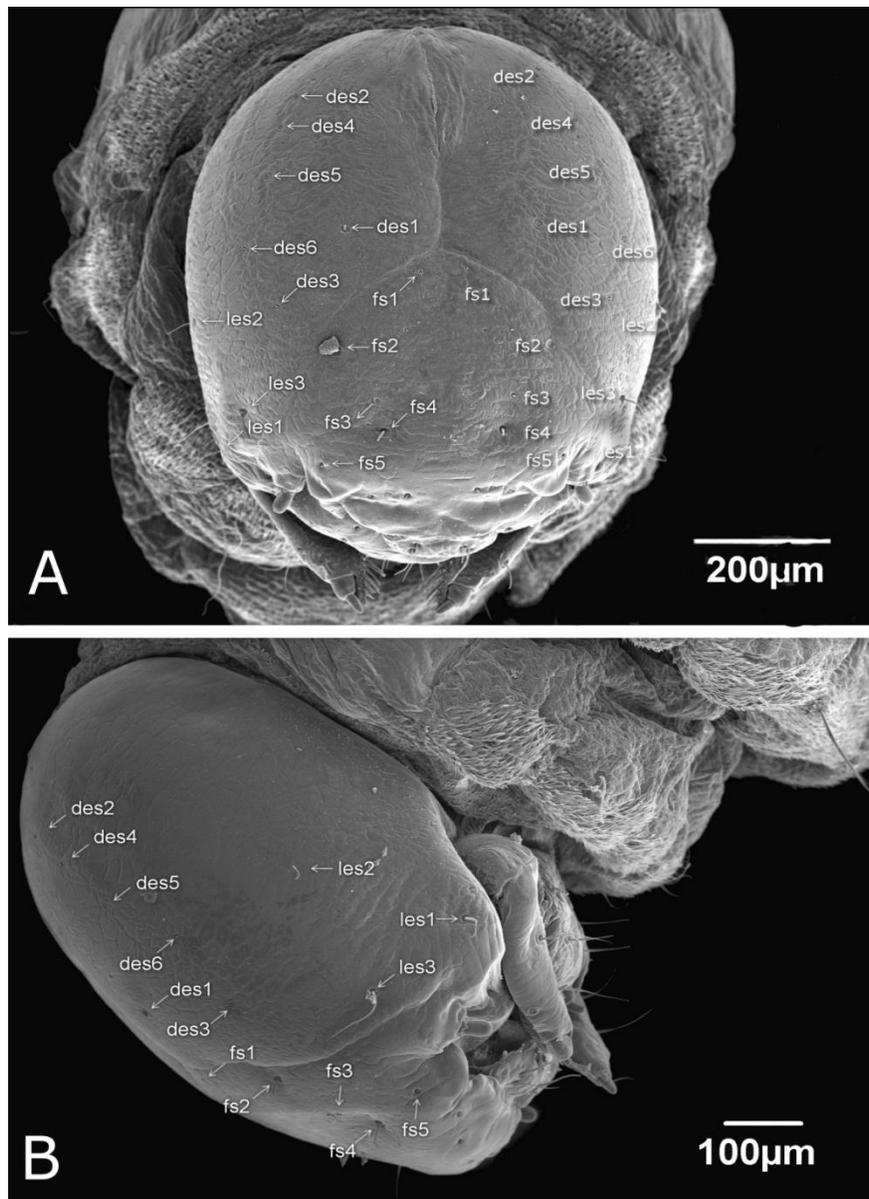
**Figuras 1.** (A) Huevo de *Neochetina eichhorniae* en su fase inicial. (B) Diferenciación del contenido del huevo, el primordio embrionario envuelve al vitelo. (C) Embrión envuelto en la parte ventral por amnios y serosa. (D) Larva ya formada, resaltan los ojos simples y las mandíbulas. Escala: 200  $\mu\text{m}$ .

### 3.3.2. Larvas

Después del período de incubación del huevo, emerge la larva de *Neochetina eichorniae*, esta pasa por tres ínstares. La larva es blanquecina, ápoda, tiene forma curculioniforme. Marvaldi (2005). Los caracteres de los estados inmaduros tienen igual importancia taxonómica que la de los adultos, por que proporcionan una amplia posibilidad para la clasificación e identificación, lo cual es esencial tratándose de especies de importancia económica (Van, 1957). De manera general su cuerpo está dividido en tres regiones: cabeza o cápsula cefálica, tórax y abdomen.

**3.3.2.1. Cápsula cefálica.** La larva recién emergida del huevo tiene la cápsula cefálica parcialmente esclerosada, aún clara de color sepia. Su cuerpo sin embargo, es casi transparente y a través de su cutícula se pueden observar algunos órganos internos entre los que destacan los dos troncos traqueales longitudinales que van, a cada lado, desde el tórax hasta la cauda. La cabeza de la larva del primer ínstar tiene en promedio 351  $\mu\text{m}$  de anchura, y la larva extendida alcanza 3 mm de longitud. Después de la emergencia, el cuerpo de la larva I continúa translúcido, pero sus órganos internos adquieren una apariencia blanquecina que se extiende al aspecto general de la larva, el cual se hace más denso en la larva del segundo ínstar y aún más en la del tercero. La larva II tiene una anchura promedio de cápsula cefálica de 470  $\mu\text{m}$  y un cuerpo extendido de 4 mm. En la larva III la cabeza mide en promedio 727  $\mu\text{m}$  de ancho y el cuerpo 6 mm de longitud. De acuerdo con la literatura, las características del color de la cápsula cefálica varía del café rojizo descrito por May y Sands en 1986 al anaranjado descrito por Center *et al.* (1998 y 2002). En el caso de las medidas obtenidas de la cápsula cefálica encontramos que existen diferencias en los tres ínstares, con lo reportado en 1976 por Deloach y Cordo, en el primer ínstar tenemos 50  $\mu\text{m}$  más, en el segundo ínstar 30  $\mu\text{m}$  menos y en el tercer ínstar 30  $\mu\text{m}$  más, aunque utilizaron una mezcla de larvas de las especies *N. eichhorniae* y *N. bruchi*. Aunque la cutícula de la cápsula cefálica parece lisa, está ornamentada por estrías microscópicas rugosas y ramificadas que pueden formar segmentos libres o se pueden combinar para dibujar celdas cerradas, sobre todo en las áreas parietales.

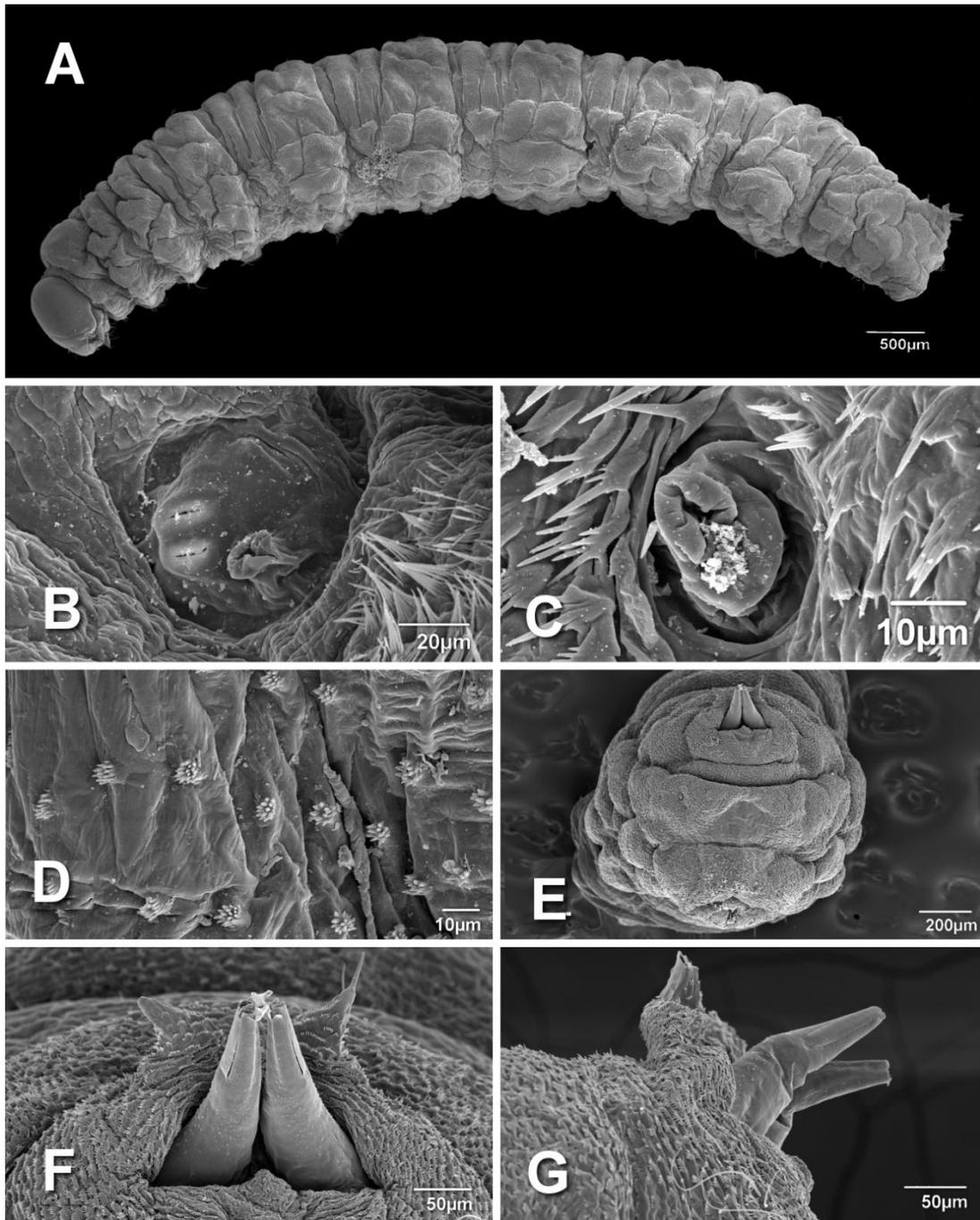
El tramo coronal medio de la línea ecdisial converge con los dos tramos frontales exactamente en el centro de la cabeza en su vista anterior, de modo que el área anterior de la cabeza queda dividida en tres partes casi iguales: dos áreas epicraneales laterales y una frontal. Los extremos inferiores de las líneas frontales terminan separados de las antenas, por afuera de éstas. En las áreas epicraneales, cerca del vértice central, destaca la seta dorsal epicraneal 1 (des1). Hay además una hilera de 5 setas pequeñas alineadas longitudinalmente en la parte media de las placas epicraneales, que ordenaremos según su cercanía con el tramo medio de la línea ecdisial (des2-des6). Alineados también en la misma hilera, se encuentran dos poros arriba de la des2, un poro por debajo de la des4, y otro entre la des1 y la des6 (Figura 2A). A los lados de la cápsula cefálica se encuentran las setas laterales epicraneales, enumeradas desde el borde posterior de la cabeza hacia adelante. La seta des1 está muy cerca del vértice inferoposterior de la placa epicraneal; la des2 está arriba casi a la altura de la des3, mientras que la des3 se ubica en la parte inferior de la placa, muy cerca de la línea ecdisial frontal (Figuras 2A y 2B). En la placa frontal están las setas del mismo nombre (fs), enumeradas de arriba hacia abajo. Las fs1 están muy cerca del punto donde convergen las tres líneas ecdisiales. Las fs2 son las más grandes y se encuentran junto a las líneas ecdisiales frontales, casi a la mitad de su trayecto. Cerca del centro de la placa frontal se ubican las microsetas fs3 y debajo de ellas las macrosetas fs4; las fs5 son muy pequeñas y se encuentran en la parte inferior lateral del área frontal (Figura 2A). En el clipeo hay 4 microsetas alineadas horizontalmente cerca del borde superior del órgano, y el labro tiene 4 setas grandes, un par superior y otro inferior (Figuras 2A y 2B). Esta nomenclatura de las setas cefálicas se basa en los trabajos de Marvaldi (1997 y 2003), y en Gosik (2009). Cabe mencionar que las tres setas dorsales epicraneales que se encuentran en la parte media de la cápsula cefálica presentan un tamaño similar al de las setas que se encuentran en la parte superior de la misma, por lo cual también se tomaron como setas des; sin embargo, en la literatura éstas no se nombran como tales y sólo aparecen como marcas en los dibujos que se presentan en dichos trabajos.



**Figura 2.** Cabeza de la larva de *N. eichhorniae*. (A) Mapa de setas cefálicas, vista frontal (B) Mapa de setas cefálicas, vista lateral.

**3.3.2.2. Cuerpo de la larva.** Los tres segmentos torácicos de la larva ocupan juntos apenas la sexta parte de la longitud total del cuerpo. Cada segmento está marcado por profundas constricciones intersegmentales que separan a lóbulos membranosos tergaes, pleurales y esternales; entre ellos está un gran lóbulo tergal protorácico cubierto por una placa esclerosada, ovalada y de posición transversal, cuyos bordes se adelgazan para integrarse a la cutícula membranosa del tórax (Figura 3A). A los lados del mencionado lóbulo protorácico se encuentra el primer par de espiráculos del cuerpo sobre un esclerito redondo

de cutícula lisa con dos ranuras longitudinales y dos lóbulos atrás de ellas. La superficie anterior de los lóbulos torácicos dorsales, laterales y ventrales, están cubiertos por ornamentaciones cuticulares microscópicas con hileras de microespinas dirigidas hacia atrás (Figuras 3B y 3C). Los seis primeros segmentos abdominales de la larva tienen, cada uno, una mitad anterior notoriamente más abultada que la posterior. En cada uno de estos anillos mayores hay dos lóbulos pleurales bien definidos por un pliegue horizontal y uno vertical. La cutícula membranosa de los segmentos abdominales está surcada por estrías predominantemente longitudinales, las cuales son más marcadas en el fondo de los pliegues intersegmentales. En las áreas laterales y ventrales del abdomen hay también ornamentaciones de microespinas dirigidas hacia atrás, similares a las torácicas, pero el número de dientes es más reducido. En los lóbulos abdominales tergaes las espinas están agrupadas sobre pequeños tubérculos redondos, separados unos de otros y equidistantes (Figura 3D). Los segmentos abdominales VII y VIII no tienen la diferenciación de diámetros que muestran los segmentos I–VI, ni lóbulos o pliegues que diferencien a los tergos, pleuras y esternones. En el extremo dorsal del último segmento hay una gran protuberancia que lleva a los dos espiráculos abdominales posteriores, los cuales forman tubos esclerosados cónicos abiertos en el extremo y con ranuras longitudinales. Arriba de los tubos espiraculares hay dos lóbulos puntiagudos que llevan en el extremo órganos sensoriales (Figuras 3E, 3F y 3G). Las ornamentaciones superficiales en el extremo posterior del abdomen son muy similares a las torácicas. Marvaldi (2003) presentó una clave basada en caracteres morfológicos externos de las larvas de las diferentes subfamilias de Curculionidae y en especial la subfamilia Eirrhiniinae; menciona que la cabeza es relativamente pequeña en relación al cuerpo, generalmente con cóndilos postoccipitales sobresalientes, y espiráculos modificados frecuentemente para la vida acuática (se encuentran en posición dorsal). Estos últimos fueron tomados en cuenta por May y Sands en 1986 para diferenciar a las larvas de *Neochetina bruchi* Hustache, *N. eichhorniae* Warner, de otros miembros de la subfamilia Eirrhiniinae, como son *Neohydronomus pulchellus* Hustache, *Cyrtobagous singularis* Hustache y *C. salviniae* Calder and Sands, utilizados para el control de malezas acuáticas en Australia. Julien *et al.* (1999), Center *et al.* (2002) y Martínez (2005) mencionan que la larva de *N. eichhorniae* es apoda, con setas alargadas, y una cápsula cefálica amarilla a naranja.



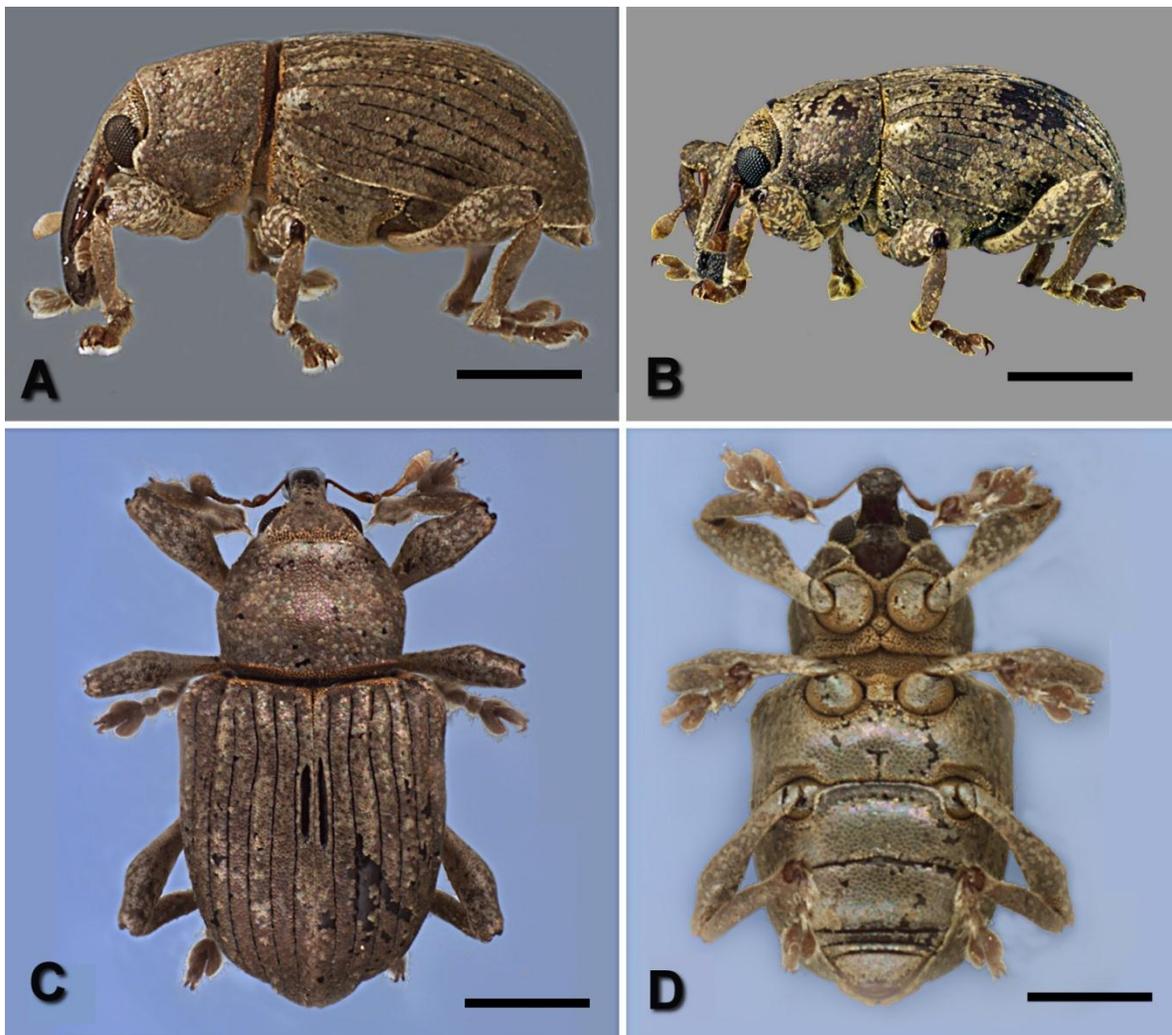
**Figura 3.** Características de Larva de *N. eichhorniae* (A) cuerpo. (B) espiráculo protorácico. (C) Espiráculo protorácico y ornamentaciones del cuerpo. (D) Agrupamiento de microespinas en el abdomen. (E) Parte posterior de la larva con espiráculos tubulares en la parte superior. (F) Espiráculos tubulares, vista posterior. (G) Espiráculos tubulares en vista lateral.

### 3.3.3. Adultos

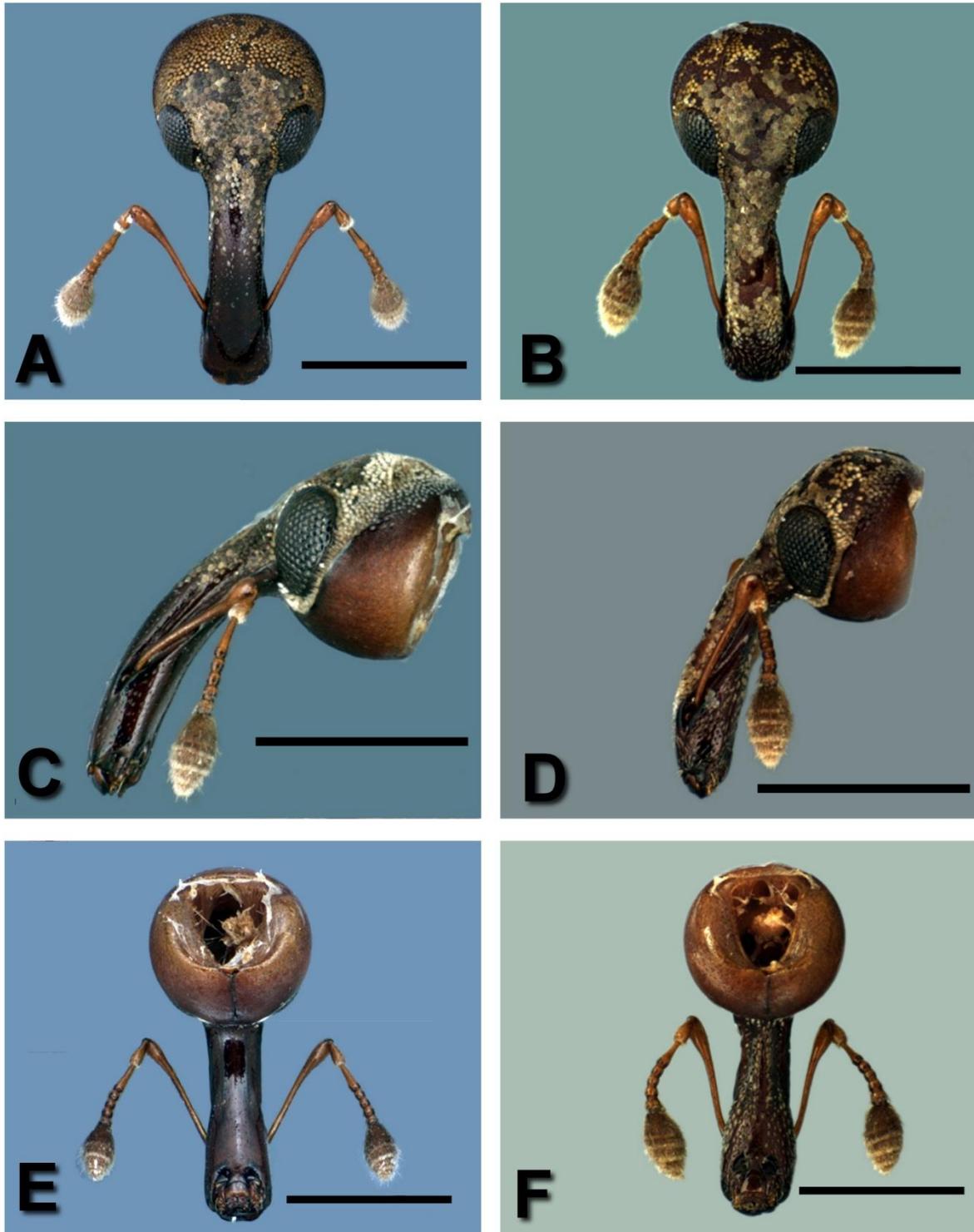
En los adultos se distinguen tres regiones generalmente bien definidas: cabeza, tórax y abdomen. La cabeza es la primera parte del cuerpo y en ella se encuentra el aparato, bucal, las antenas, los ojos; esta formada por seis segmentos (siete algunos autores consideran la presencia de sacos celómicos como evidencia de metámeros postorales), que al fusionarse forma la cápsula cefálica, que esta constituida por las siguientes regiones: vértex, frente, clípeo, gena, postgena, occipucio y tentorio (Snodgrass, 1935).

**3.3.3.1. Cabeza.** La cabeza en ambos sexos tiene una cápsula cefálica casi esférica, aunque el contorno de los ojos compuestos sobresale ligeramente del contorno de la cápsula, a diferencia de otros curculiónidos (Figuras 4A-4D). En la hembra la cápsula cefálica mide 1 mm tanto de altura como de anchura sin considerar al rostrum (Figura 5A); sin embargo, su longitud es de 0.9 mm, debido a que el lado posterior de la cabeza es aplanado (Figura 15C). En el macho las medidas de altura, anchura y longitud de la cápsula cefálica sin el rostrum son de 0.85, 0.88 y 0.75 mm, respectivamente (Figuras 5B y 5D). La longitud del rostrum en la hembra, medida a lo largo de su curvatura es de 1.58 mm, y la misma en el macho es de 1.20 mm (Figuras 5C y 5D). La anchura del rostrum no es uniforme; tiene una anchura mínima, casi en su base, de 0.35 mm en la hembra, y de 0.25 mm en el macho, aunque en éste punto estrecho está más alejado de la cápsula cefálica. El punto de anchura máxima es también diferente en ambos sexos; en la hembra (0.44 mm) se encuentra en el extremo de la probóscide a la altura de las articulaciones mandibulares, mientras que en el macho (0.39 mm) se encuentra antes del extremo del rostrum, entre las articulaciones antenales y mandibulares. La distancia interocular es de 0.52 mm en la hembra y de 0.4 en el macho (Figuras 5A y 5B). Las antenas de la hembra tienen una longitud total de 1.7 mm, de los cuales la mitad corresponden al escapo; la antena del macho mide 1.5 mm en total, de los cuales 0.6 mm corresponden al escapo (Figuras 5A, 5B, 5E y 5F). La cutícula de la cápsula cefálica está cubierta por una franja dorsal de escamas pequeñas desde el borde posterior de los ojos compuestos hasta el margen occipital. Estas escamas son más densas y de distribución más uniforme en la hembra que en el macho (Figuras 5A y 5B). Las áreas laterales y ventrales, de los ojos hacia atrás, son de cutícula desnuda, sin escamas. La frente tiene una cubierta de escamas redondas mucho más grandes que las dorsales; esta cubierta

se extiende hasta un poco antes de la mitad de la longitud del rostrum en la hembra, pero en el macho llegan más allá de las bases antenales (Figuras 5A, 5B y 5C). El resto de la superficie del rostrum en la hembra es de cutícula desnuda, oscura y brillante con puntuaciones microscópicas equidistantes, incluyendo a toda su área posterior (Figura 5E); en el macho toda esta zona del rostrum tiene microsetas (Figura 5F). La longitud total de los adultos se tomó en vista dorsal desde la parte basal del rostrum hasta la parte posterior de los élitros, y la anchura en la parte más ancha del tórax. La hembra mide 5.0 mm de longitud y 2.51 mm de ancho, mientras el macho mide 4.55 mm de longitud y 2.27 mm de ancho; esto es similar a los 4-5 mm mencionados por Oberholzer (2001), aunque el suyo no es un artículo, y difiere de lo reportado por Warner en 1970 en donde la hembra mide 3.3 mm de longitud y 1.8 mm de ancho y Center *et al.* (2002), mencionan que el macho y la hembra miden 2 mm y 3 mm de longitud respectivamente; esto debido probablemente a que ellos midieron sólo el área de los élitros, y a lo encontrado por O'Brien en 1976 con un tamaño de 2-4.5 mm de longitud y Martínez en 2005 donde el tamaño máximo es de 4.5 mm. En cuanto a la longitud del rostrum también hay diferencias de lo reportado por Warner en 1970 para ambos sexos con una diferencia de 0.20 y 0.30 mm.



**Figura 4.** *Neochetina eichhorniae* en estado adulto. (A) vista lateral de la hembra. (B) Vista lateral del Macho. (C) Hembra en vista ventral. (D) Hembra en vista dorsal. Escala: 1 mm.



**Figura 5.** Morfología de la cabeza de *N. eichhorniae*. (A y B) Vista anterior de la cabeza de hembra y macho. (C y D) vista lateral de la cabeza de hembra y macho. (E y F), vista posterior de la cabeza de hembra y macho. Escala: 1 mm.

### 3.3.4. Tórax

Esta segunda región del cuerpo está formada por tres segmentos a los que se les denomina protórax, mesotórax y metatórax. Cada segmento se encuentra dividido en tres partes, una superior, una media y una inferior, a las que se les denomina tergo, pleura y esterno, respectivamente. En cada segmento se localizan un par de patas (Snodgrass, 1935).

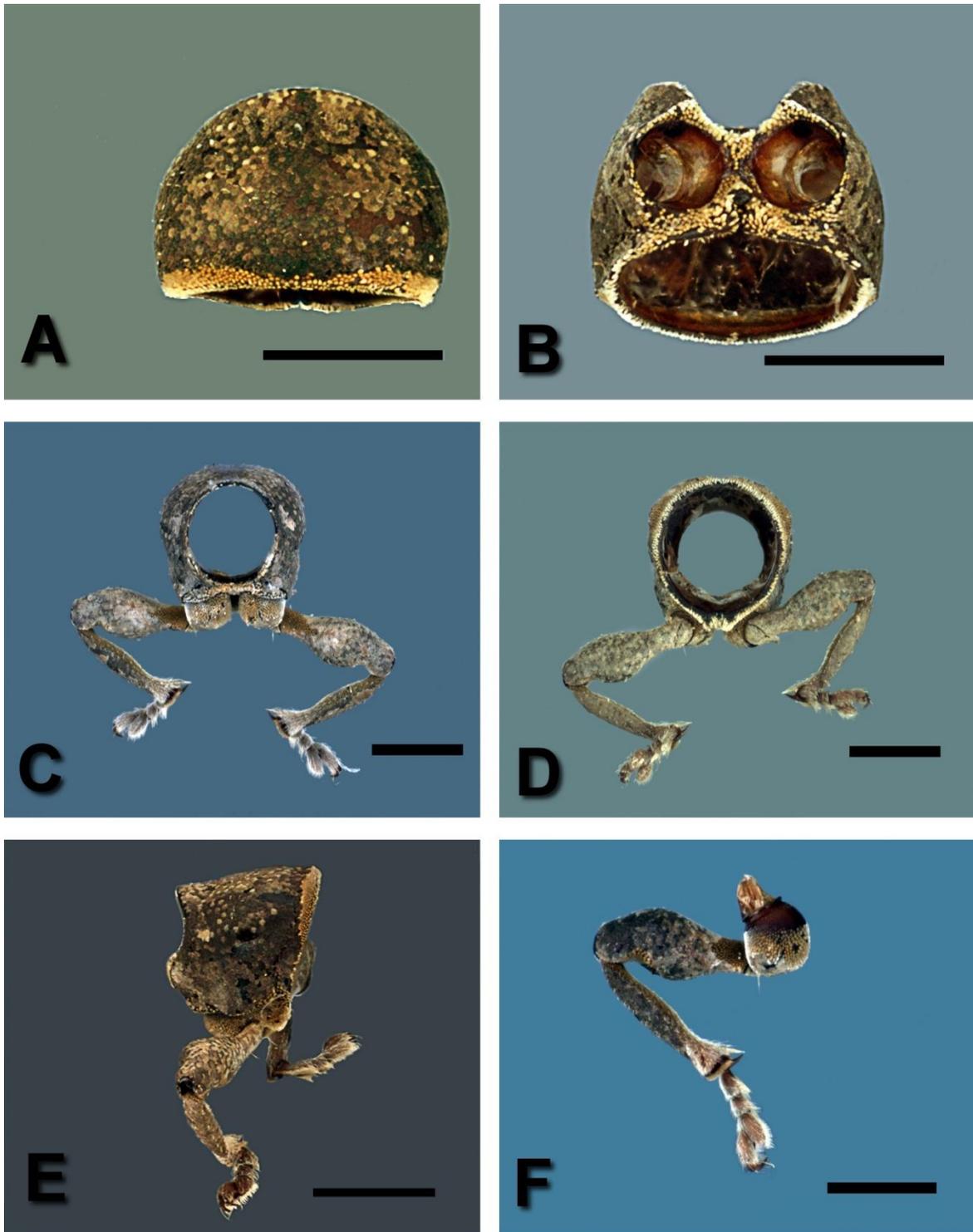
**3.3.4.1. Protórax.** En la vista dorsal, el protórax presenta contornos curvos, casi circulares, excepto en el borde posterior que es recto (Figura 6A). Visto lateralmente, se aprecia que el borde anterior del protórax es de diámetro notoriamente menor que el posterior. El margen anterior describe curvaturas laterales que se adaptan a los bordes posteriores de los ojos compuestos, ya que la cabeza se encuentra retraída hasta este punto dentro del protórax (Figura 6E). La zona ventral de este segmento está ocupada casi en su totalidad por las dos cavidades coxales circulares y cóncavas, en cuyo fondo, desplazadas hacia los lados, están las fosas coxales (Figura 6B). Los bordes anterior y posterior del protórax, así como el área esternal alrededor de las coxas, están cubiertos por microescamas amarillas; el resto del segmento tiene escamas grandes de tonos variados entre el blanco y el marrón oscuro (Figuras 6A, 6B, 6C y 6D). Las coxas anteriores son prácticamente esféricas, cubiertas por microescamas amarillas y escamas grandes sólo en su lado externo; alrededor del borde articular, la coxa es desnuda. El fémur de la patas protorácicas tiene una longitud de 1.5 mm y una parte media abultada de 0.6 mm de diámetro. La parte más angosta (0.26 mm) está en la base, junto al trocánter. En esta base angosta el fémur tiene una mancha bien delimitada de microescamas de color amarillo oscuro; el resto tiene una cubierta de escamas grandes. Las tibias anteriores alcanzan una longitud de 1.66 mm, están cubiertas por escamas y en su extremo por setas claras y densas; el borde distal tiene un fleco de pilosidades uniformes y un espolón dirigido hacia atrás que termina en punta aguda. Todo el tarso tiene una pubescencia densa y blanca y el penúltimo tarsómero está dividido en dos grandes lóbulos ovalados. Las uñas son simples y de trayecto curvo paralelo, no divergentes (Figura 6F).

De acuerdo con Marvaldi (2003), el contorno del protórax y los élitros determinan la forma del cuerpo del organismo, el pronoto es más ancho que largo, con pocas excepciones (por

ejemplo en Curculioninae: Erodiscini), y no está carinado a diferencia de algunas taxas superiores (Antibrinae, Belidae y Oxycorinae). Los élitros cubren el cuerpo incluyendo los tergos terminales. Las características de los élitros coinciden con lo reportado por Warner (1970), DeLoach (1975), O'Brien (1976), Center (1998) y Julien *et al.* (1999). Clark (1993) y Marvaldi (2003) mencionan que las patas Protorácicas proveen de numerosos caracteres para diferenciar especies dentro de la familia Curculionoidea. De acuerdo con Marvaldi, las coxas están separadas, el trocánter está reducido y de forma subtriangular; el resto de las características son similares a lo reportado por Warner en 1970 y O'Brien en 1976.

**3.3.4.2. Pterotórax.** El mesotórax forma junto con el metatórax una unidad anatómica y funcional, o pterotórax, que incluye en este grupo de insectos al abdomen como un bloque separado del protórax. Pterotórax y abdomen están fuertemente esclerosados y protegidos por escamas solamente en su área ventral; el resto es de cutícula muy débil y translúcida debido a que no está expuesta al ambiente (Figura 7A), ya que los élitros protegen esta región de manera permanente (7D). La ornamentación del área ventral pterotorácica y abdominal es principalmente de escamas grandes y redondas, excepto alrededor de las fosas coxales donde las escamas son más pequeñas como ya se describió en el protórax. La primera placa esclerosada del pterotórax es el esternón mesotorácico de bordes anteriores lisos, ornamentado con escamas pequeñas y claras, y delimitado a los lados por dos surcos en diagonal. El borde posterior del esternón mesotorácico se curva para formar la parte anterior de las fosas coxales medias, y al centro se prolonga hacia atrás en un esclerito truncado que separa a las dos coxas (Figura 7B). La pleura mesotorácica está reducida a un esclerito triangular, casi oculta entre el protórax y los élitros (Figura 7C). La principal protección del complejo pterotorácico y abdominal está formada por los dos élitros que forman sobre esta mitad del cuerpo una coraza convexa, cubierta en su totalidad por escamas de tonos variados que le dan al insecto su apariencia característica. Las escamas son en general más claras en la mitad anterior de los élitros, y el margen anterior de éstos tiene escamas pequeñas y amarillas. Los élitros están marcados por ocho franjas longitudinales, delimitadas por siete surcos que inician desde el borde anterior y convergen en el posterior. Cada élitro tiene en la mitad anterior de su franja mesal, donde se unen ambos, una barra longitudinal de cutícula desnuda y brillante que juntas forman una marca

de dos líneas verticales paralelas propias de esta especie (Figura 7D). Las patas mesotorácicas se diferencian de lo ya descrito para las patas anteriores solamente en que la parte más ancha del fémur tiene aquí un diámetro ligeramente menor (0.5 mm), las tibias son un poco más cortas (1.3 mm), y el espolón de la tibia es notoriamente más pequeño que el de la tibia protorácica (Figura 7G).



**Figura 6.** Estructura del protórax de *N. eichhorniae*. (A y B) Protórax en vista dorsal y ventral. (C y D) Protórax en vista anterior y posterior con el primer par de patas. (E) Vista lateral de protórax. (F) Vista posterior de la pata protorácica derecha. Escala: 1 mm.

El esternón metatorácico es la placa ventral más extensa de todo el cuerpo; tiene bordes anteriores y posteriores ligeramente curvos y lleva en la línea ventral longitudinal media, un canal que recorre la mitad posterior de la placa y en su extremo anterior se bifurca en dos brazos cortos para formar una figura en “T”. En el borde anterior del esternón están las dos fosas coxales metatorácicas, separadas por una prolongación cuadrangular del basisternito. A los lados, esta placa esternal crece hacia arriba para terminar junto a la barra esclerosada del episternón pleural (Figura 7A). Las pleuras metatorácicas son relativamente simples; tienen un esclerito muy fuerte, alargado y de posición horizontal que corresponde a la parte expuesta del episternón, el cual tiene también una estrecha zona superior debajo de los élitros, de cutícula débil y clara, delimitada por el surco pleural inclinado y oscuro que sube hasta la articulación de los élitros. El epímeron es una estrecha franja de cutícula únicamente delimitada adelante por el surco pleural, que se desvanece en una amplia área posterior de cutícula transparente, casi membranosa. La parte posterior de esta pleura está cerrada por un gran esclerito ovalado, de cutícula clara y bordes débiles, que corresponde a la extensión del brazo postalar (Figura 7C). El área tergal metatorácica, de cutícula transparente y coloración débil, tiene una franja anterior o prescutum, dividida en una parte media y dos laterales convexas y una central triangular. En el vértice anterior del triángulo escutal hay dos líneas cortas, rectas y paralelas que corresponden a surcos parapsidales medios. Atrás del scutum metatorácico está el scutellum, de cutícula muy débil que forma un esclerito curvo, con una amplia zona membranosa entre él y el scutum. Los extremos laterales del scutellum terminan en una barra sinuosa (posnoto) que se curva hacia abajo hasta llegar al brazo postalar (Figura 7A). Las alas metatorácicas tienen en el borde costal de su base una pequeña vena C+Sc+R que en esta especie muestra su mitad distal en forma de una celda ovalada de cutícula clara. En el extremo distal de la vena M hay un esclerito triangular oscuro y ornamentado. La M1 está bien marcada como una franja de cutícula coloreada, pero la M2, a diferencia de otros curculionidos, es aquí apenas una inflexión longitudinal de la membrana alar. El extremo terminal de la vena Cu se une por un puente cuticular muy delgado al esclerito de la M. La Cu1, esclerosada en su unión con la Cu, no llega al borde del ala. La vena A1 está esclerosada y alcanza el borde posterior del ala; la A2 es sólo una línea sin esclerosamiento (Figura 7E). En las patas metatorácicas la coxa es alargada, de posición transversal cubierta por escamas pequeñas y blancas solamente en su

lado externo; el resto del segmento es de cutícula lisa y brillante. Las otras características de las patas metatorácicas, incluyendo sus dimensiones, son iguales a las descritas para las patas medias (Figura 7H).

En la cavidad interna del pterotórax se encuentra el proventrículo, formado por seis placas dobles que se unen longitudinalmente para formar una estructura tubular más ancha en su parte anterior donde la cutícula es también más clara. De las láminas dobles que forman a cada placa proventricular crecen hacia la luz del tubo, en la mitad anterior del órgano, espinas ordenadas en líneas diagonales; en la mitad posterior de las placas, en cambio, los crecimientos internos son densos, y desordenados, lo que da a la estructura una apariencia oscura. El borde anterior del proventrículo se continúa hacia adelante con la cutícula membranosa del buche, cubierta en su interior por espinas claras y densas (Figura 7F).

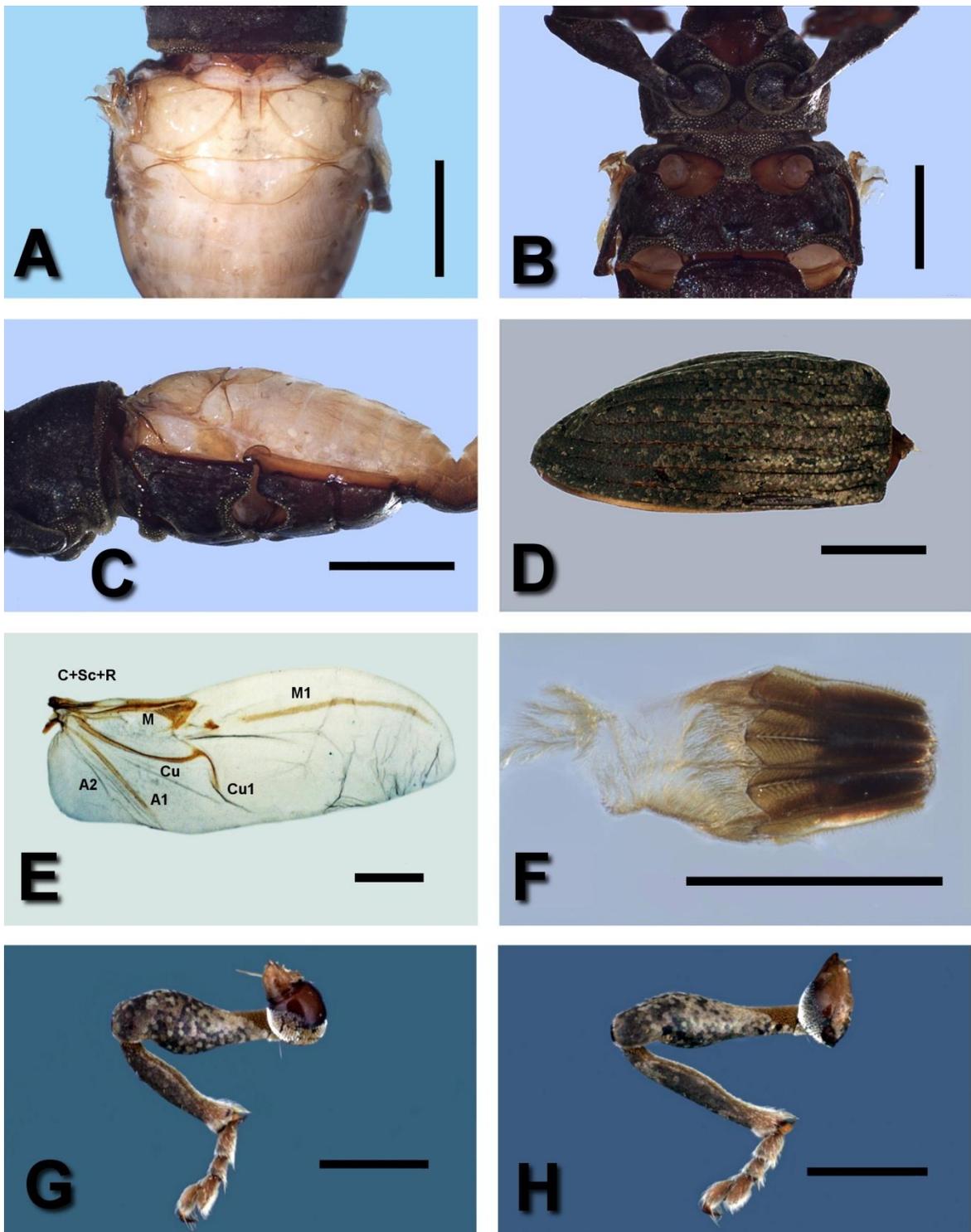
En el caso de los escleritos pleurales del meso y metatórax, de acuerdo con Marvaldi (2003) en algunas familias y tribus de Curculionidae pueden ser fácilmente reconocidas por el mesoepimerón ascendente (por ejemplo en Barinidae, Conoderinae, y Curculionoinae de la tribu Ceutorhynchini). El mismo autor nos menciona que otro esclerito utilizado es el metaepimerón, el cual puede estar cubierto o no; de estarlo, su vestidura es brillante, delgada y más escasa que el metaepisternón. Para el caso de las alas, a diferencia de la especie *Conotrachelus perseae*, la M2 y Cu se desvanecen conforme se dirigen hacia el borde inferior del ala de acuerdo con lo reportado por Domínguez (2006). La misma autora nos menciona que el proventrículo es una estructura de utilidad para el reconocimiento de géneros en Curculionidae.

### **3.3.5. Abdomen.**

Es la tercera sección del cuerpo y en ella se pueden encontrar un número variable de segmentos. No hay patas en esta sección (Snodgrass, 1935).

En el área esternal del abdomen hay cinco placas ventrales esclerosadas, la primera de las cuales representa a los esternones I a III, como corresponde al abdomen sinfiogastro de los curculiónidos. Esta primera placa esternal tiene un borde anterior curvo y muy esclerosado; a los lados, el borde anterior constituye a la mitad posterior de las fosas coxales

metatorácicas. El margen posterior de la mencionada placa es casi recto excepto por una pequeña escotadura situada en el punto medio. La placa esternal IV es tan ancha como la I-III; su borde anterior es notoriamente mayor que el posterior debido a que los márgenes laterales convergen hacia atrás. Los esternones V y VI son dos estrechas placas cuticulares paralelas, situadas en el fondo de una concavidad caudal, atrás de la marcada curvatura convexa de los esternones anteriores (Figuras 8A y 8B). El esternón VII es la última placa ventral visible y forma ventralmente la parte inferior de la terminalia abdominal. Los tergos abdominales, siempre ocultos por los élitros, tienen una cutícula tan delgada que a través de ella se pueden observar los órganos internos (Figura 8D). Hay siete tergos abdominales visibles que disminuyen en anchura hacia atrás; los dos últimos tienen cutícula más fuerte debido a que pueden quedar expuestos durante la extensión de la terminalia (Figura 8C).



**Figura 7.** Estructura del pterotórax de *N. eichhorniae*. (A, B y C) Pterotórax en vista dorsal, ventral y lateral. (D), élitro derecho. (E) Área dorsal del ala metatorácica. (F) Vista lateral del proventrículo. (G y H) Pata derecha de mesotórax y metatórax. Escala: 1 mm.

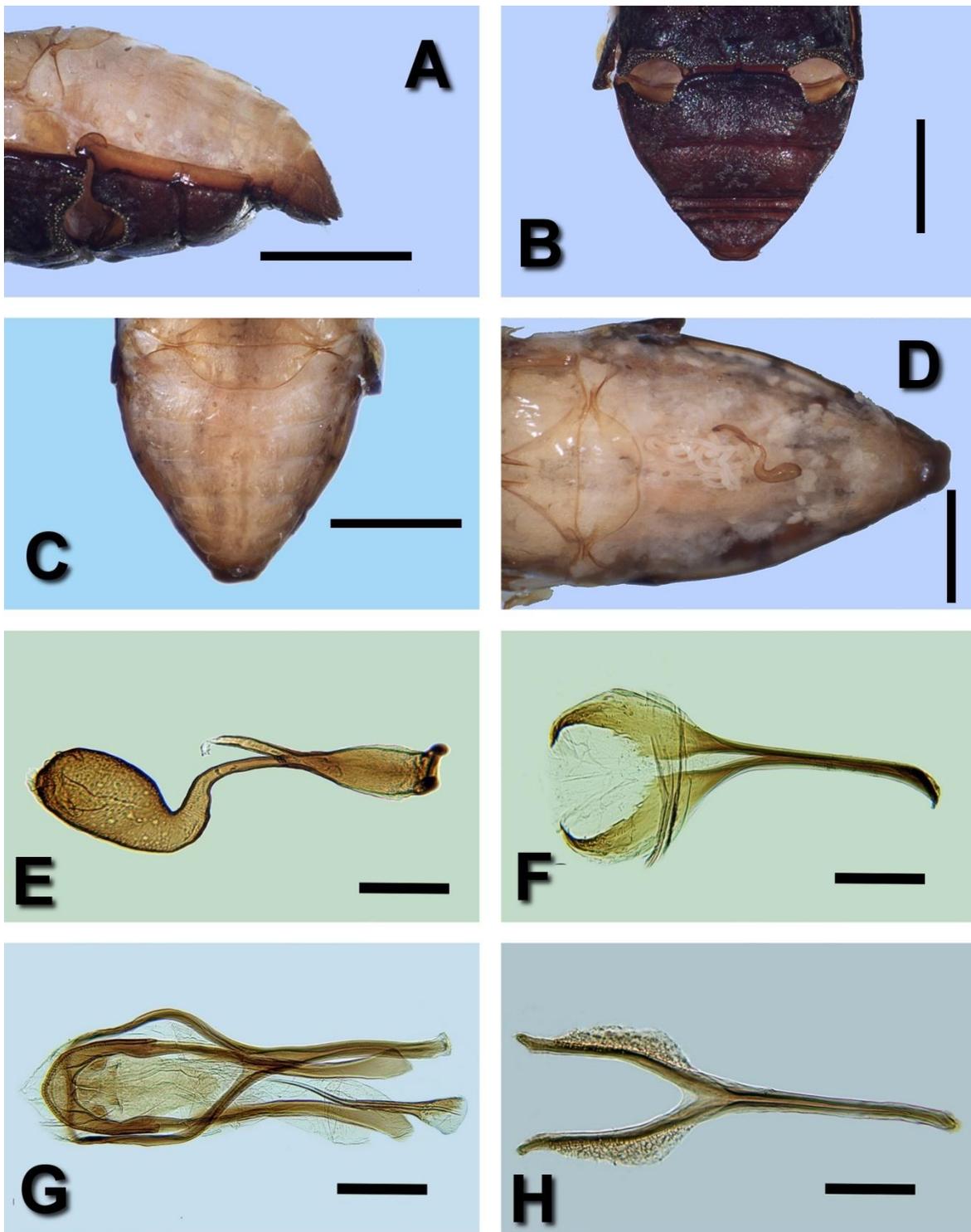
### 3.3.6. Genitalia.

Cuando la morfología externa no es suficiente para separar o reconocer a una especie es necesaria la revisión de la genitalia principalmente en los machos (pocas veces en la hembra (O'Brien, 1976)). En Eriirhininae se presenta la genitalia de "tipo primitivo", con el tegmen tan largo como el edeago, la placa tegminal dorsal está bien desarrollada es tan larga como el spiculum gastrale (Marvaldi y Lanteri, 2005).

La morfología externa del abdomen no muestra diferencias significativas entre ambos sexos. El esternito abdominal VIII está muy modificado y se sitúa en el fondo de la cámara genital; en la hembra tiene un apodema esclerosado de extremo anterior ligeramente curvo y dos brazos posteriores amplios y aplanados con bordes internos aserrados y extremos que terminan en puntas curvas dirigidas hacia adentro en las que hay varios sénsulos (Figura 8F). Los brazos posteriores del esternito VIII del macho, en cambio, están esclerosados uniformemente en toda su longitud, al igual que el apodema central, pero tienen además crecimientos aplanados laterales de cutícula delgada y rugosa (Figura 8H). En el interior del abdomen femenino, a la altura del segmento V, se encuentra la espermateca, debajo de la cutícula tergal. El bulbo de la espermateca está dirigido hacia atrás y muestra ornamentaciones de estrías transversales internas que llegan hasta el tubo esclerosado curvo con el que la espermateca se comunica con un esclerosamiento abultado anterior en el cual desemboca el tubo casi recto y esclerosado que recibe al conducto espermático procedente de la cámara genital femenina (Figuras 8D y 8E). El complejo genital masculino está compuesto por un edeago de márgenes laterales casi paralelos y esclerosados que se unen en un extremo posterior en forma de "U" en la cual se encuentran ordenados radialmente un gran número de órganos sensoriales. El resto de la cutícula del edeago es muy clara. Los esclerosamientos laterales del órgano se prolongan hacía adelante como dos apodemas edeagales con extremos anchos, aplanados y truncados. La cutícula anterior membranosa del cuerpo central del edeago envuelve a un endofalo tubular que lleva a una barra esclerosada de extremo anterior ancho y aplanado y extremo posterior fino y estrecho. El tegmen tiene un apodema un poco más largo que los apodemas edeagales y dos brazos laterales que rodean al edeago por los lados y se unen en sus extremos posteriores mediante un puente dorsal que cierra al anillo del tegmen (Figura 8G). O'Brien en 1976 presentó una

revisión taxonómica del género *Neochetina*, en donde menciona que las porciones esclerosadas del endofalo son excelentes para separar a las especies. Cuatro especies presentan un flagellum, que en *N. eichhorniae* es más corto que el phallus, incluyendo apodemas; en *affinis* tiene solamente un par anterior de dientes curvos y en *neoaffinis* tiene un tubo medio alargado en forma de cono. También menciona que el esclerosamiento de espermateca y glándulas de la misma, son bastante diferentes, lo mismo para el octavo esternito.

En general, la variación en la genitalia es ligera en machos y hembras. La forma y proporción de la espermateca y glándulas de la espermateca son constantes. Hay pequeñas diferencias en el engrosamiento del ápice de diversos *affinis* y algunos son bífidos en el ápice, y algunos no.



**Figura 8.** Anatomía del abdomen y órganos genitales de *N. eichhorniae* (A, B y C) Vista lateral ventral y dorsal del abdomen de la hembra. (D) Abdomen en vista dorsal sin cutícula. Escala 1 mm. (E) Espermateca. (F) Octavo esternito abdominal de la hembra. (G) Vista dorsal del eedeago. (H) Octavo esternito abdominal del macho. Vistas: 6.3x. Escala 200  $\mu$ m.

## **CAPÍTULO IV**

### **COMPORTAMIENTO DE *Neochetina eichhorniae* EN CONDICIONES DE LABORATORIO.**

#### **4.1. INTRODUCCIÓN**

Todos los miembros del género *Neochetina* son semiacuáticos, presentan una capa muy densa de escamas de propiedades hidrófobas (en estado adulto), y su alimentación se basa en plantas acuáticas en especial de la familia Pontederiaceae (O'Brien, 1976 y Center *et al.*, 2002). En el caso de huevos y larvas se encuentran dentro de los pecíolos de la planta en donde están protegidos de la desecación, ya que prefieren el tejido joven (Center *et al.*, 2002, Oberholzer, 2001). De acuerdo con Julien *et al.* (1999), en cada país en donde se ha introducido a *N. eichhorniae*, se realizaron pruebas de especificidad con plantas de importancia económica, para observar si existe un nivel de preferencia del picudo hacia éstas, tan sólo en China se probaron 46 plantas pertenecientes a 23 familias de importancia económica, ornamental y ecológica (Ding *et al.*, 2001).

Con el objeto de conocer algunos aspectos de comportamiento de la especie bajo condiciones extremas como inundación, su desarrollo en otras plantas de importancia económica y su desarrollo con un ácaro en la misma planta se llevaron a cabo algunas pruebas.

#### **4.2. MATERIALES Y MÉTODO**

Se obtuvieron 15 huevos de *Neochetina eichhorniae* de la colonia que se mantuvieron en el laboratorio. Se colocaron individualmente en cajas de Petri chicas con agua destilada en su interior, se mantuvieron en cámara de cría a 28-30 °C.

Para las pruebas de especificidad alimentaria se utilizaron vasos de plástico chicos (100ml), a los que se colocó papel húmedo con agua destilada en el interior, posteriormente, se introdujo un trozo de hoja de lirio acuático (*Eichhornia crassipes* (Mart), Naranja (*Citrus sinensis*), Piña (*Ananas comosus* (L.)) y lechuga (*Lactuca sativa* (L.)). Se colocaron diez vasos por con trozos de hojas de las plantas ya mencionadas y una pareja de picudos, con

duración de 10 días. Repitiéndose en dos ocasiones la prueba en cámara de cría a una temperatura de 28-30 °C.

### **4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **4.3.1. Prueba de inundación.**

La coloración de los huevos es blanquecina, en ocasiones se observó una tonalidad grisácea y amarillenta, debido a la luz de las lámparas (Figuras 1A, 1B y 1C).

En el primer día el 20% de los huevos se hundió y permanecieron así durante todo el experimento, mientras que el 80% se mantuvo a flote. Para el séptimo día en el 46.6% de los huevos comenzó a observarse la larva a través del corion (Huevos 2, 4, 7, 9, 12, 14 y 15), mientras que en el 53.4% restante no se observó ningún cambio en su contenido.

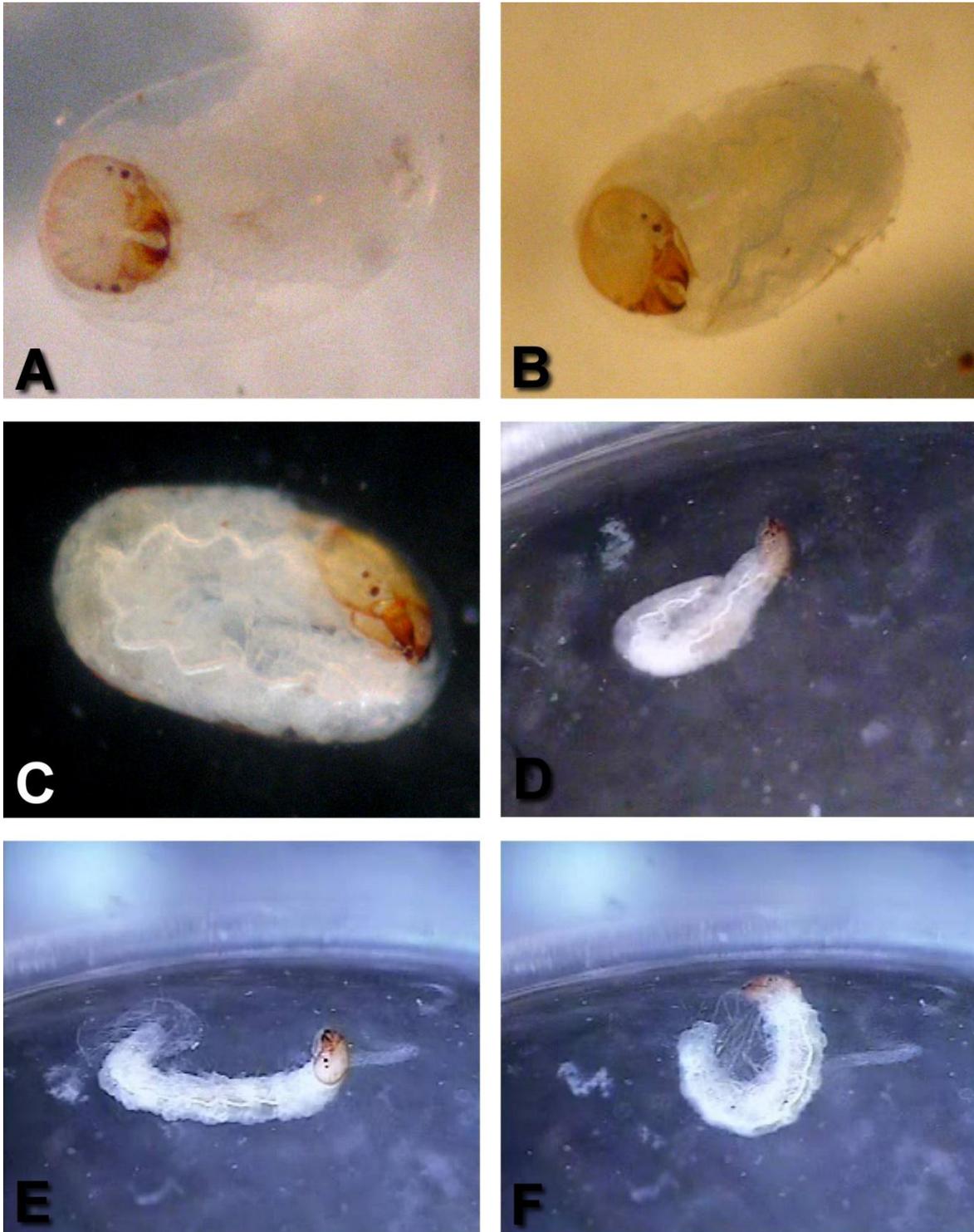
En el octavo día el 13% de los huevos eclosionó (huevos 2 y 9) (Figura 1D), mientras que otro 33% lo hizo al día siguiente (huevos 4, 7, 12, 14 y 15). Todas las larvas permanecieron activas, después de emerger del corion, algunas mordisquearon éste, ya que no contaban con alimento alguno (1E y 1F).

En el día 11 murió una larva, la cual representa un 6.6%. Para el treceavo día murió el 20% (larvas 2, 4 y 9), los decesos o muertes de las larvas fueron principalmente a la ruptura de la tensión superficial del agua y las setas de su cuerpo el día anterior, además, por la contaminación del agua por las excretas de las larvas. En el día 17 murieron las larvas 12, 14 y 15, que representan el otro 20% en este caso las larvas aún estaban en la superficie del agua por lo que su deceso se debió a la falta de alimento

Ocho huevos no eclosionaron en todo el experimento; sólo se mantuvieron para observación, pero no se presentaron cambios.

**Cuadro 1.** Experimento de inundación de *Neochetina eichhorniae*.

Huevos	Días							
	1	7	8	9	10	11	13	17
1	Hundido	Hundido	-	-	-	-	-	-
2	Flotando	Flotando	eclosionó	activa	activa	activa	muerta	
3	Flotando	Flotando	-	-	-	-	-	-
4	Flotando	Flotando		eclosionó	activa	activa	muerta	
5	Flotando	Flotando	-	-	-	-	-	-
6	Flotando	Flotando	-	-	-	-	-	-
7	Flotando	Flotando		eclosionó	activa	muerta		
8	Flotando	Flotando	-	-	-	-	-	-
9	Flotando	Flotando	eclosionó	activa	activa	activa	muerta	
10	Hundido	Hundido	-	-	-	-	-	-
11	Flotando	Flotando	-	-	-	-	-	-
12	Flotando	Flotando		eclosionó	activa	activa	activa	muerta
13	Hundido	Hundido	-	-	-	-	-	-
14	Flotando	Flotando		eclosionó	activa	activa	activa	muerta
15	Flotando	Flotando		eclosionó	activa	activa	activa	muerta



**Figura 1.** Experimento de inundación de *Neochetina eichhorniae*. A, B y C) Huevos flotando, se observa la larva a través del corion. D, E y F) Larva activa emerge del huevo.

Esta prueba nos permite saber si es posible una liberación de huevos (en combinación con los adultos), pero es un estadio vulnerable, por lo cual la cantidad de éstos sería muy elevada o bien se podrían mantener una cierta cantidad de los mismos hasta esperar casi a que emerjan las larvas y liberarse cerca de la corona de las plantas.

#### **4.3.2. Prueba de especificidad alimentaria.**

En la primera prueba solamente se observaron marcas de alimentación en el lirio acuático y la lechuga, en la primera se encontraron 6 huevos que no eclosionaron al concluir la prueba. En el caso de la lechuga las marcas presentaban una coloración café claro por la oxidación del tejido expuesto, además de pérdida de agua del mismo, no se observaron huevos sobre la hoja (Figuras 2A, 2B, 2C y 2D).

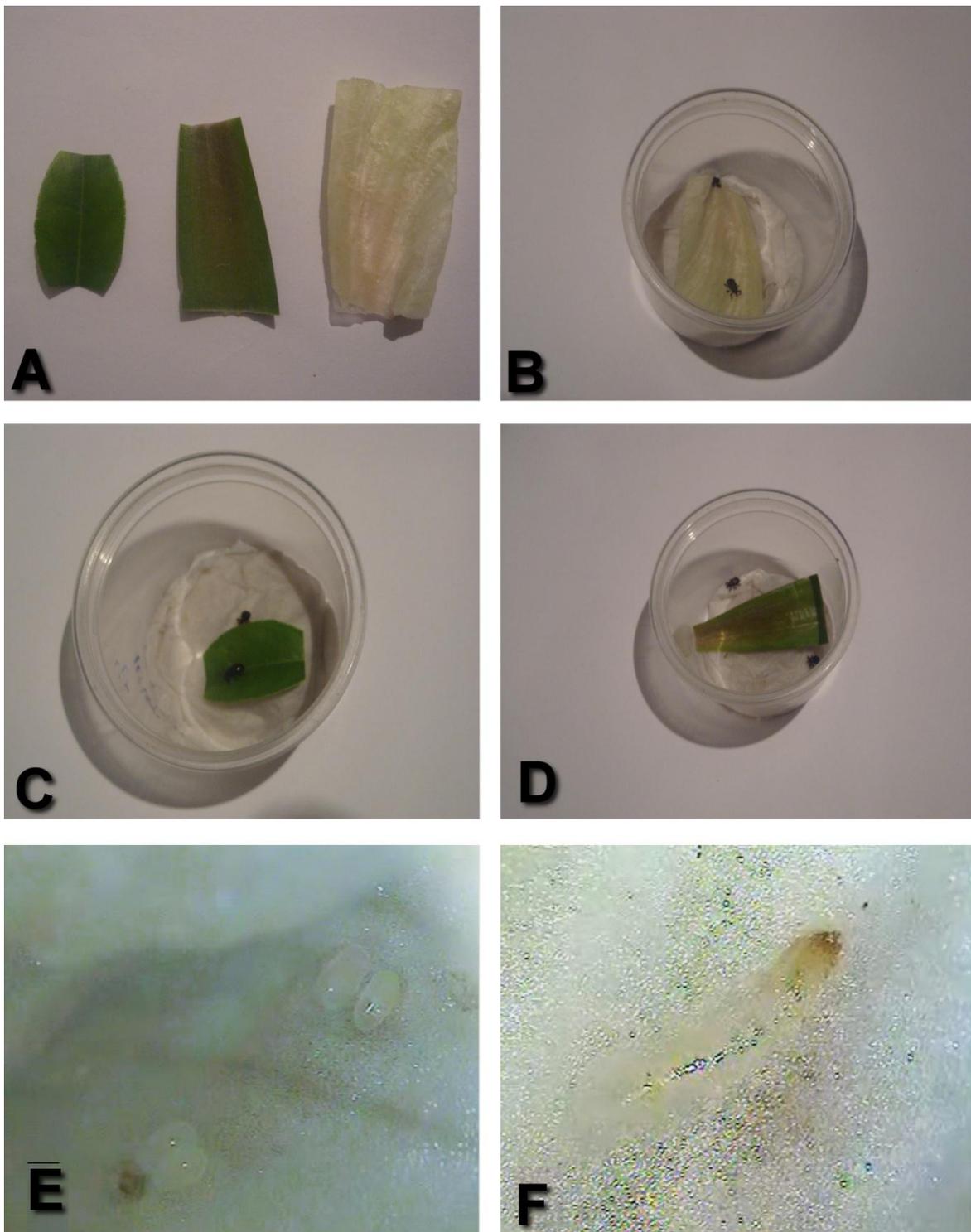
Para los tratamientos de naranja y piña no se observaron marcas sobre la lámina foliar, a pesar de que los picudos se encontraban sobre ella. En la segunda prueba (Cuadro 2) se obtuvieron resultados semejantes a la primera, en los tratamientos de lirio acuático se encontraron marcas de alimentación y un total de 8 huevos los cuales se dejaron hasta eclosionar, las larvas murieron en una semana. En el caso del tratamiento con hojas de lechuga se observaron las marcas de alimentación y un total de 4 huevos (Figura 2E). Estos se dejaron también para ver si era posible el desarrollo de la larva, solo dos larvas emergieron de los huevos una de ellas murió en el fondo del vaso, mientras que la otra se encontró dentro del tejido de la hoja en donde se observó inmóvil, con una aguja de disección se cortó la hoja para extraer la larva que murió asfixiada ya que el tejido de la lechuga es muy acuoso y no existen espacios para poder respirar como en el caso del aerénquima del lirio (Figura 20F). Woomer en 1997 mencionó que *N. eichhorniae*, puede ovipositar en otro tipo de plantas, incluyendo algunas de importancia económica. Realizó pruebas en laboratorio con banana, col y vainilla en los cuales *N. eichhorniae* no depositó huevos.

**Cuadro 2.** Muestra la preferencia de *Neochetina eichhorniae* por el lirio y lechuga

Plantas	Marcas de alimentación	Desarrollo
<i>Eichhornia crassipes</i>	P	Todos los adultos vivos, 8 huevos (Larvas muertas)
Naranja	A	Todos los adultos vivos
Piña	A	Todos los adultos vivos
<i>Lactuca sativa L.</i>	P	Todos los adultos vivos, 4 huevos (2 Larvas muertas)

P (presente), A (ausente) para las marcas de alimentación

De manera general los tratamientos con hojas de naranja y de piña no presentaron daños en su tejido. Se observó a los picudos sobre la lámina foliar, en donde realizaron movimientos con su rostro y mandíbulas, sin embargo no quedaron marcas. Esto puede deberse a que la cutícula de estas plantas es muy gruesa, y resistente, que las mandíbulas de los organismos no lograron atravesarlas. Por el contrario a la del lirio y la lechuga, cuyas cutículas son muy delgadas y debido a ello más fáciles de cortar; aunque como se observó la lechuga no permite el desarrollo de las larvas. Julien *et al.* (1999), menciona que en pruebas realizadas en argentina *N. bruchi* depositó un huevo en lechuga por 749 que colocó en lirio acuático, también presenta una lista de familias de plantas de que se han probado para su especificidad. El mismo autor nos presenta que para países como Argentina, Egipto e India no hubo elección de lechuga, para ovipositar, aunque en algunos casos existen marcas de alimentación, sin embargo, en Australia menciona una oviposición múltiple sin detallar más al respecto. En el caso de la Piña en E.U.A., India y Zimbawe no se presentó oviposición en las plantas aunque si se observaron adultos alimentándose. Para naranja no hubo registros sobre pruebas.



**Figura 2.** Pruebas de especificidad. A) Hojas de Naranja, piña y lechuga. B, C y D) Picudos en hojas de lechuga, naranja y piña. E) Huevos en lechuga. F) Larva en lechuga.

### **4.3.3. Condiciones de mantenimiento de *Neochetina eichhorniae* durante el estudio**

#### **4.3.3.1. Comportamiento con relación al tipo de luz**

Uno de los principales problemas fue la observación en el microscopio estereoscópico, porque estos organismos son de hábitos nocturnos y al percibir la luz se ocultaban en el tejido vegetal (un trozo de pecíolo) en el caso de los adultos. Cuando ocurrió esto se dejó a los picudos hasta que salieran por sí mismos para evitar dañarlos con las agujas de disección o estresarlos, ya que en ocasiones se interrumpió su alimentación y cópula por la presencia de la luz.

Después de varias observaciones se obtuvo mejores resultados con la utilización de la luz fría, ya que ésta es tolerable por los picudos, los cuales no se inquietan tanto como con la luz amarilla. En algunas de las imágenes sobre todo en algunas como las de oviposición se observa la se subió la intensidad de la luz blanca para poder apreciar las estructuras a detalle y no quedara oscura la imagen.

Los huevos debido a su contenido y el tipo de luz, presentaba diferentes tonalidades, pero una vez mezclando luz blanca y amarilla en baja intensidad se obtuvo mejor resultado, se logró observar a detalle el desarrollo de su contenido a través del corion, siguiendo más de cerca el período de incubación hasta observar la larva bien desarrollada al interior, hasta el momento de su emergencia (Figuras 3A y 3B).

En el caso de las larvas también se tomaron precauciones con el tipo de luz y su intensidad para evitar daños, como quemar su epidermis o que el tejido vegetal se pegará a su cuerpo y le impidiera desplazarse con facilidad dentro del tejido del pecíolo. Algunas de las observaciones se agregaba agua destilada en el papel o algodón para mantener la humedad dentro de los vasos para evitar la deshidratación del el lirio y al organismo, pero se procuró que fuera lo menos posible ya que se podría dañar al organismo con el exceso de humedad, calor y excretas de la larva o el tejido necrótico del pecíolo. La luz blanca también fue de gran utilidad.

#### 4.3.3.2. Comportamiento con el tipo de alimento

Otro de los puntos a tratar fue como mantener a los organismos, en este caso larvas y adultos de manera que se siguiera de cerca y poder observar su comportamiento, durante su ciclo biológico. Dentro del laboratorio, se ocupó un área en donde reproducir el lirio acuático para contar con el material de mantenimiento de nuestra especie.

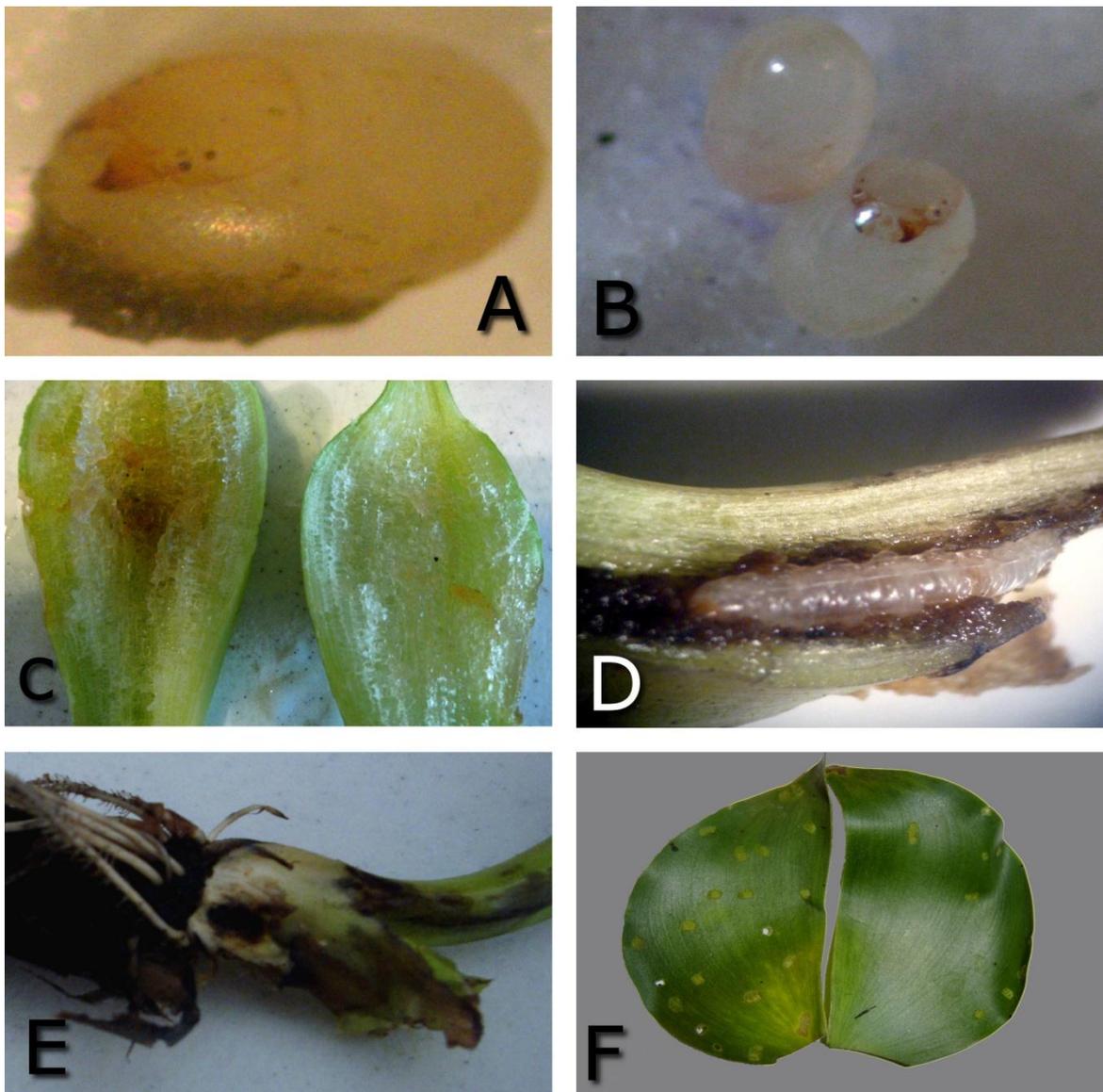
En este caso, después de la incubación del huevo la segunda fase de desarrollo es la larva, la cual en esta especie pasa por tres instares, y el primero utiliza los peciolos jóvenes en la planta de lirio acuático (Center *et al.*, 2002, Oberholzer, 2001) por lo que se colocaron trozos de lirio para que la larva se refugiara y alimentara al mismo tiempo.

Una vez terminado el primer instar, se pensó en colocar el tejido de la base de los peciolos o la corona de la planta que son los tejidos preferidos por el segundo y tercer instar larval del picudo De acuerdo con (Julien *et al.*, 1999 Center *et al.*, 2002, Oberholzer, 2001 y Martínez, 2005), sin embargo los trozos de pecíolo resultaron ser más convenientes por el manejo del tejido, ya que si la larva se ocultaba en el tejido, éste podía abrirse con facilidad (figura 3C), en cambio con la corona y la base del pecíolo son tejidos más sólidos y con mayor cantidad de agua lo cual provocaría con facilidad la presencia de bacterias por la descomposición del tejido y las excretas de las larvas (Julien *et al.*, 1999 Center *et al.*, 2002, Oberholzer, 2001 y Martínez, 2005) (Figuras 3D y 3E). A pesar de que el parénquima aerífero no es el tejido preferido por estos dos instares (Burton, 2005; Julien *et al.*, 1999 y Land Protection, 2001), se obtuvieron resultados favorables en las observaciones; se encontró a las larvas comiendo en las capas cerca de la epidermis dejando un rastro vertical de tejido necrótico al interior del pecíolo, además se logró completar su fase al interior de éstos solamente en la pupa se utilizaron las plantas completas.

En el caso de los adultos los trozos de pecíolo fueron útiles y de fácil manipulación para observar eventos que conforman su biología, como la cópula, oviposición y alimentación, sin embargo aunque se observó al adulto alimentarse de la cutícula, epidermis y parénquima aerífero del pecíolo, tal vez resintieron el no alimentarse de la lámina foliar que es su tejido preferido (Burton, 2005; Julien *et al.*, 1999; Land Protection, 2001 y Morán

2004) y es esta parte de la planta la contiene la mayor cantidad de nutrientes de la planta (Figura 3F). Por lo que la oviposición fue baja, debido al gasto energético que requiere la hembra para este evento.

En este aspecto se trató de hacer una dieta artificial, sin embargo no se obtuvo éxito, por lo que se siguió utilizando el trozo de pecíolo. Si se logrará tener una dieta artificial y conseguir la reducción del desarrollo de los instares larvales manteniéndose con esta dieta, se podría reproducir esta especie en grandes cantidades y se liberarían estas larvas junto con los adultos. Hasta la fecha no se conoce una dieta para la cría del género *Neochetina* (Martínez, 2005).



**Figura 3.** Comportamiento de *Neochetina eichhorniae* con el tipo de luz y alimentación. A) Huevo observado con luz amarilla. B) Huevos observados con luz blanca. C) Pecíolos con rastros de alimentación de las larvas. D) Larva de segundo ínstar en la base del pecíolo como se alimenta de forma natural. E) Daño en corona y base de pecíolos realizados por el segundo y tercer ínstar larval. F) Marcas de alimentación de una pareja de adultos en un día.

## CONCLUSIONES

### **Ciclo biológico**

La importancia económica y ecológica de *Neochetina eichhorniae* es atribuida por el daño ocasionado a la planta de lirio acuático *Eichhornia crassipes*. El estudio de su biología, comportamiento y morfología, permitió conocer aspectos que no realizan en el ciclo biológico de manera natural, durante el tiempo que se mantuvieron en los trozos de lirio acuático.

El ciclo biológico presentó una duración similar (de  $127.769 \pm 2.127$  y  $128.052 \pm 1.778$ ) en los experimentos realizados a una temperatura de 26-28 °C y 28-30 °C. No se encontró un acortamiento en el ciclo biológico de *Neochetina eichhorniae*, en la temperatura de 28-30 °C, como se menciona en la literatura.

Las técnicas utilizadas para mantener a los diferentes estados de desarrollo de *Neochetina eichhorniae*, resultaron ser eficaces para la obtención del ciclo biológico, aunque una desventaja podría ser la constante manipulación por el cambio de pecíolo y manejo de los organismos.

Este estudio permitió conocer que se pueden mantener huevos, larvas y adultos, sin utilizar las plantas completas de lirio acuático. Las larvas de 2do y 3er ínstar sobrevivieron alimentándose de parénquima aerífero cuando se alimentan de la corona de la planta. El adulto tal vez resintió la falta del clorénquima de la lámina foliar, por los nutrientes que éste provee, lo cual se reflejó al momento de la oviposición.

Se detallaron eventos como el periodo de incubación, eclosión, alimentación, desarrollo de la pupa, emergencia del adulto, alimentación, copula y oviposición que están relacionados con el comportamiento de la especie.

Este trabajo es el primero en México, dedicado a la biología y comportamiento de *Neochetina eichhorniae* (Warner 1970).

## **Morfología**

Se considera que este estudio representa un aporte, para el conocimiento de aspectos morfológicos, de los diferentes estados de desarrollo de *Neochetina eichhorniae*, así como un complemento de lo que existe en la literatura, lo cual puede ser de utilidad, en el reconocimiento de la especie; así como ayudar en el manejo de la misma.

Se proporcionó una descripción del desarrollo del huevo, durante el período de incubación.

En larvas se observó la presencia de tres instares larvales, midiendo la anchura de la cápsula cefálica, ya que si se tomará en cuenta el tamaño del cuerpo, existe variabilidad en el tamaño del segundo ínstar.

Las características que pueden tomarse en cuenta para el reconocimiento de la larva se encuentra la microescultura de la superficie de la cápsula cefálica con los tipos de setas (des, les y fs) que hay en ésta. También la microescultura del cuerpo de la larva con la disposición de las microespinas en el cuerpo. Además de las características de los espiráculos abdominales.

Las características morfológicas del adulto en esta especie coinciden con la descripción taxonómica de Warner (1970), y algunas mencionadas por Center *et al.* (2002) y Julien *et al.* (1999)

Las aportaciones para este trabajo son las descripciones del cuerpo del adulto, así como el ala, proventrículo y genitalia.

## **Comportamiento**

El hábito nocturno de los adultos dificultó algunos de los eventos de su biología, ya que el picudo al percibir la luz interrumpía su actividad.

En la prueba de inundación, el 50% de los huevos logró eclosionar, las larvas sobrevivieron alrededor de 8 días, tiempo que le confiere su condición de especie subacuática.

El comportamiento de las larvas (2º y 3er ínstar) y adultos en los pecíolos, ayudo a que los organismos completaran su fase, a pesar que éste no es el órgano vegetal que prefieren naturalmente

La prueba de especificidad muestra la preferencia por *Eichhornia crassipes*, Naranja (*Citrus sinensis*), Piña (*Ananas comosus* (L.) y lechuga (*Lactuca sativa* (L.)), aunque en esta última se observó oviposición, pero no desarrollo de la larva.

Los picudos no pueden dañar hojas con cutícula gruesa.

## LITERATURA CITADA

- Aguilar, J. A., O. M. Camarena, and T. D. Center. 2003. Biological control of water hyacinth in Sinaloa, Mexico with the weevils *Neochetina eichhorniae* and *N. bruchi*. *BioControl*.48: 595-608.
- Barrera, G. J. F. 1999. El entomófago. Boletín de la sociedad Mexicana de Control Biológico. 8(1):3-4pp.
- Bennett, F. D. 1984. Biological control of aquatic weeds. *In: Proc. Int. Conf. Waterhyacinth*. G. Thyagarajan, ed. UNEP Res. and Proc. Series 7. Nairobi, Kenya. pp. 14-40.
- Borror, D. J., C. A. Triplehorn and N. F. Johnson. 1989. Study of insects. Saunders College Publishing. 6a Ed. United states of America. 875p.
- Burton, J. 2005. Water hyacinth *Eichhornia crassipes*. Project officer, Pastures and Rangelands, Orange. Agfact P7.6.43, third edition. NSW DEPARTMENT OF PRIMARY INDUSTRIES. 6 P.
- Castañeda, V. A, C. J. Valdez, M. A. Equihua, H. H. González, N. J. Romero, A. J. F. Solís y A. S. Ramírez. 2007. Genitalia de Tres Especies de *Hellipus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) que dañan frutos de Aguacate (*Persea americana* Mill) en México y Costa Rica. *Systematics, Morphology and Physiology, Neotropical Entomology*. 36(6): 914-918.
- Carlos, H. G. 1988. Efecto del lirio acuático en la fauna microartrópodos edáficos en una zona de Xochimilco, D.F. Tesis de Licenciatura. Biología. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 108 pp.
- Center, T. D. 1987. Do water hyacinth leaf age and ontogeny affect intra-plant dispersion of *Neochetina eichhorniae* (Coleoptera: Curculionidae) eggs and larvae? *Environmental Entomology*. 16: 699-707.
- Center, T. D., F. A. Dray and V. V. Jr. Vandiver. 1988. Biological control with insects: The Waterhyacinth Weevils. University of Florida. Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences. Fact Sheet AGR 88.
- Center, T. D and A. D. Wright. 1991. Age and phytochemical composition of water hyacinth (Pontederiaceae) Leaves determine their acceptability to *Neochetina eichhorniae* (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.* 20(1): 323-334.
- Center, T. D. 1994. Biological control of weeds: Waterhyacinth and Waterlettuce, pp 481-521. In Rosen, D. F., D. Bennet and J.L., Capinera (eds). Pest management the subtropics: Biological Control- A Florida perspective. Intercept Publishing Company, Andover, United Kingdom.

- Center, T. D., M. P. Hill, H. Cordo and M. H. Julien. 2002. Water Hyacinth, In: Van Driesch, R., *et al.*, 2002, Biological control of invasive Plants in the Eastern United States, USDA Forest Service Publication FHTET-2002-04. 413p.
- CICLOPLAFEST. 1996. Catálogo Oficial de Plaguicidas. Comisión Intersecretarial para el Control y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. (CICOPLAFEST).
- Clark, W. E. 1993. The weevil genus *Neomastix* Dietz (Coleoptera: Curculionidae, Anthonomini) The Coleopterists Bulletin. 47(1):1-9.
- Del Fosse, E. S. 1977. Temperature optima for development of *Neochetina eichhorniae* y and *Orthogalumna terebrantis*. *The Florida Entomologist*. 60(2):109-113.
- Deloach, C. J. 1975. Identification and biological notes on the species of *Neochetina* (Coleoptera: Curculionidae: Bagoini). that attack Pontederiaceae in Argentina *Coleopt. Bull.* 29: 257-265.
- Deloach, C. J. and H. A. Cordo. 1976. Ecological Studies of *Neochetina bruchi* and *N. eichhorniae* on Waterhyacinth in Argentina. *Journal of Aquatic plant Manegment*. Vol. 14: 53-59.
- Ding, J. W., W. Ren, W. Fu, and G. Zhang. 2001. Water hyacinth in China: its distribution, problems and control status: In: M.H. Julien, M.P. Hill, T.D. Center and J. Ding (eds.). Biological control and Integrated control of Water hyacinth *Eichhornia crassipes* (Proceedings PR102 2001). 29-32p.
- Domínguez, J. V. 2006. Morfología del Barrenador pequeño de la semilla *Conotrachelus perseae* (Barber) (Coleoptera: Curculionidae). Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Pp 13-15.
- Domínguez, R.R. 1990. TAXONOMIA. Neuroptera a Coleoptera. Claves y diagnosis 2. Departamento de Parasitología Agrícola. UACH. México. Pp 463 y 471.
- Fayad, Y. H., Ibrahim, A. A., El-Zoghby, A. A. and Shalaby, F. F. 2001 Ongoing Activities in the Biological Control of Water Hyacinth in Egypt. 43-46. In M.H. Julien, M.P. Hill, T. D. Center and Ding Jianquig (eds.). Biological and integrated control of the Water Hyacinth *Eichhornia crassipes* (Proceedings PR102 2001).
- Fernández, S. y Cordero, J. 2007. Biología de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en condiciones de laboratorio. *Bioagro*. 19(001): 35-40pp.
- Gaiger, F. and Vanin, S. A. 2008. On utility of female genitalia in the sistematics of Curculionidae: examples from Entimini and Hylobiina (Coleoptera: Curculionidae). 44(1): 47-57.

- Gómez, M. A., L. A. Coronado, F. J. Landeros y E. A. Cárdenas. 2000. Control químico y biológico del lirio acuático *Eichhornia crassipes* (MART.) SOLMS en el río Molola, Nay., México. *AGRARIA UAAN*. 16(2):13-33pp.
- González-Hernández, A. y J. I. López-Arrollo. 2007. Importancia de la sistemática en control biológico, pp. 36-47: En L.A. Rodríguez del Bosque y H C Arredondo-Bernal (eds.), *Teoría y Aplicación del control biológico*. Sociedad Mexicana del Control Biológico, México. 303 p.
- Gosik, R. 2009 Description of the larva and pupa of *Tapeinotus sellatus* (Fabricius) with comments on its biology (Coleoptera: Curculionidae). *Wroclaw*. 20 (1): 137-147
- Gopal, B. 1987. *Waterhyacinth, Aquatic Plant*, Elsevier Science Publishers, B. V. Amsterdam, The Netherlands. 471 pp.
- Gutiérrez, E., R. Rangel, F. Arreguín, R. Huerto, E. Uribe, E. Ruiz, O. Mata, L. Tamariz, M. Martínez. 1998. Resultados de Control Biológico de Lirio Acuático en México (1993-1998). En AMH XV Congreso Nacional de Hidráulica. Oaxaca, México Octubre. 289-295
- Harley, K. L. S. 1990. The Role of Biological Control in the Management of Water hyacinth. *Biocontrol News and Information*. 11(1): 11-22.
- Hagg, K. H. 1986. Effective Control of Waterhyacinth Using *Neochetina* and limited Herbicide Application *J. Aquat plant manage.* 24: 70-75
- Holm, L. G., D. L. Plucknett, J. V. Pancho and J.P. Herberger. 1977. *The World's Worst Weeds: Distribution and Biology*. University Press, Honolulu, Hawaii. 601pp.
- Howden, A. T. 1995. Structures related to oviposition in Curculionoidea. *Memor. Entomol. Soc. Wash.* 14: 53-100
- IITA (International Institute for Tropical Agriculture). 2000. Annual Report of the IITA for 2000, Cotonou, Benin 20.
- Julien, M. H. and J. Stanley. 1998. Recent research on biological control for water hyacinth in Australia. *Proc. Ist IOBC Water Hyacinth Working Group*. Pp 52-61
- Julien, M. H., M. W. Griffiths and A. D. Wright. 1999. Biological control of Waterhyacinth. The weevils *Neochetina bruchi* and *N. eichhorniae*: biologies, host ranges, and rearing, realizing and monitoring techniques for biological control of *Eichhornia crassipes*. *ACIAR Monograph No. 60*. 87 pp
- Julien, M. H. 2001. Biological control of Water Hyacinth with Arthropods: a Review to 2000. In: M.H. Julien, M.P. Hill, T.D. Center y Ding Jianqing (Eds.). *Biological and*

- Integrated Control of Water Hyacinth Eichhornia crassipes* (Proceedings PR102 2001). 8-19 p.
- Lancar, L. and K. Krake. 2002. Aquatic weeds and their management. International Commission on Irrigation and Drainage. 65pp.
- Land Protection. 2001. Water hyacinth *Eichhornia crassipes*. NRM facts, Pest series. PP6 June 2001, QNRM01223. The State of Queensland (Department of Natural Resources and mines). 4 p
- Mack, R. N. and M. Lonsdale. 2002. Eradicating invasive plants: Hard won lessons for islands. In *Turning the tide: the eradication of invasive species*:311-318. Vietch, C.R. and Clout, M.N. (eds.). IUCNSSC invasive species Specialist Group. IUCN. Gland Switzerland and Cambridge, UK.
- Martínez, J. M. y R. M. Corona 1997. Control Integral del lirio Acuático. Informe interno. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Subdirección de Hidrobiología y Evaluaciones Ambientales. 46 p.
- Martínez, J. M. and R. Charudattan. 1998. Survey and Evaluation of Mexican Native Fungi for Potential Biocontrol of Waterhyacinth. *J. Aquat. Plant Manage.* 36: 145-148
- Martínez, J. M. 2005. Manual para la cría masiva de *Neochetina* spp utilizado en el control biológico de lirio acuático. IMTA. México.45pp
- Martínez J. M., L. E. Gutiérrez, D. E. Huerto and F. Ruíz. 2001. Importation, rearing, release and establishment of *Neochetina bruchi* (Coleoptera: Curculionidae) for the biological control of waterhyacinth in México. *J. Aquat. Plant Manage.* 39:140-143 pp.
- Marvaldi, A. E. 1997. Higher Level Phylogeny of Curculionidae (Coleoptera: Curculionoidea) based mainly on Larval Characters, with Special Reference to Broad-Nosed Weevils. *Cladistics.* 13:285-312 pp.
- Marvaldi, A. E. 2003. Key to larvae of the South American subfamilies of weevils (Coleoptera, Curculionoidea). *Rev. Chil. Hist. Nat.* Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas (IADIZA). 76: 603-612
- Marvaldi, A. E. and A. A Lanteri. 2005. Key to higher taxa of South American weevils based on adult characters (Coleoptera, Curculionoidea). *Rev. Chil. Hist. Nat.* v.78 (1)
- Masifwa, W. F, T. Twongo and P. Denny 2001. The impact of *Eichhornia crassipes* (mart.) Solms on the abundance and diversity of aquatic macroinvertebrates along the shores of Northern Lake Victoria, Uganda. *Hydrobiology.* 452:79-88pp.

- May, B. M. and D. P. A. Sands. 1986. Descriptions of larvae and Biology of Cyrtobagous (Coleoptera: Curculionidae): Agents for Biological Control of Salvinia. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 88(2):303-312 pp.
- Miranda, A. M. G. y H. A. Loth. 1999. El lirio acuático, ¿Una planta nativa de México? *Ciencias.* 53: 50-54p
- Moran, P. J. 2004. Feeding by Water hyacinth Weevils (*Neochetina* spp.) (Coleoptera:Curculionidae) in relation to site characteristics, plant size and biochemical factors. *Environmental Entomology.* 33:346-355.
- Navaro, L.A. 2001 Water hyacinth Information Partnership for Africa and the Middle Mack, R. N. and M. Lonsdale. 2002. Eradicating invasive plants: Hard won lessons for islands. In *Turning the tide: the eradication of invasive species:311-318.* Vietch, C.R. and Clout, M.N. (eds.). IUCNSSC invasive species Specialist Group. IUCN. Gland Switzerland and Cambridge, UK.
- Novelo, R.A. y Gallegos M-M. 1988. Estudio de la flora y la vegetación acuática relacionada con el sistema de chinampas en el Sureste del Valle de México. *Biótica.* 13(1-2): 121-139.
- Oberholzer, H. 2001. The Water Hyacinth Weevils (*Neochetina eichhorniae* and *Neochetina bruchi*). A Natural enemy of the Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in South Africa. Agricultural Research Council. PPRI. Weeds Research Division. Private Bag X 134 pretoria, 001
- O'Brien, C. W. 1976. A taxonomic revision of the new world subaquatic genus *Neochetina*. *Annals of the Entomological Society of America.* 69:165–174
- Oke, O. A. 2007. Determination on of longevity of adult *Neochetina eichhorniae* warner (Coleoptera: Curculionidae) waterhyacinth. *European Journal of Scientific Research.* 22(3): 396-398pp
- Oke, O. A and Adekoya B. B. 2007. Life cycle and pupation site preference of *Neochetina eichhorniae* Warner (Coleoptera: Curculionidae) on water hyacinth. *European Journal of Scientific Research.* 17(3): 291-295.
- Ouedraogo, R. R, J. Dabire, M. Ouedraogo, M. Belem and O. Bognounou. 2001. Integrated management of waterhyacinth in Burkina Faso. In: M.H. Julien, M.P. Hill, T.D. Center and J. Ding (eds.). *Biological control and Integrated control of Water hyacinth Eichhornia crassipes* (Proceedings PR102 2001). 153-159 pp.
- Snodgrass R.E. 1935.Principles of Insect Morphology. McGraw-Hill Book Company. Inc. New York and London.

- Pacific Pest Info No. 51, August 2004. ISSN:1728-5291. Secretariat of Pacific Community, Plant Protection Service. [www. Spc.int/pps/pestinfos51\\_Aug04.pdf](http://www.Spc.int/pps/pestinfos51_Aug04.pdf).
- Perkins, B. D. 1972. Host Specificity and Biology studies of *Neochetina eichhorniae* Warner, an insect for the biological Control of the Water Hyacinth. Tech. Rep., U.S. Army Corps of Engineers. 35p.
- Perkins, B. D. 1974. Arthropods, that's stress water hyacinth. *PANS*. 20(3): 304-314.
- Phiri, P. M. R. K. Day, S. Chimatiro, M. P. Hill, M. J.W. Hill, M. G. Cock and E. Nyando. 2001. Progress with biological control of water hyacinth in Malawi. In: M.H. Julien, M.P. Hill, T.D. Center and J. Ding (eds.). Biological control and Integrated control of Water hyacinth *Eichhornia crassipes* (Proceedings PR102 2001). 47-52 pp.
- Pichidswanchai, S. 1996. Comparative studies on biology of *Neochetina eichhorniae* warner and *Neochetina bruchi* Hustache (Coleoptera: Curculionidae), biological control agents of waterhyacinth, *Eichhornia crassipes* (Martius) Solms-Laubach (Liliales: Pontederiaceae, in Thailand Weeds Kasetsart Univ., Bangkok (Thailand). Graduate School. Bangkok (Thailand).
- Quiroz, R. M. C. J. Valdez, G. J. Vera, M. A. Castillo. 2000. Identificación de los ínstares larvales de *Zabrotes subfasciatus* (BOH) (Coleoptera:Bruchidae) mediante las dimensiones de su cápsula cefálicas. *Agrociencia*. 34(001): 83-90 pp
- Vallejo, F. M., A. Morón, S. Orduz. 2007. Biología de *Phylophaga obsoleta* Blanchard (Coleoptera:Melolontidae), especie rizófaga del complejo "Chisa" de Colombia. *Boletín científico-Centro de Museos- Museo de Historia Natural*. 11: 188-204.
- Van Emden, F. I. 1957. The taxonomic Significance of the characters of Inmature Insects. *Ann. Rev. Ent. Vol. 2*. Pp 91-106.
- Warner, R. E. 1970. *Neochetina eichhorniae*, a new species of weevil from waterhyacinth, and biological notes on it and *N. bruchi* (Coleoptera: Curculionidae: Bagoini). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 72: 487-496.
- Wilcox, C. D, S. B. Done, W.D. McDavid and D.B. Greer. 2002. Image tool for Windows ver. 3.0. The University of Texas, Health Science Center, Department of Dental Diagnostic Science, San Antonio Texas, U.S.A.
- Woomer, P. L. 1997. Forum - Managing waterhyacinth invasion through integrated control and utilization: perspectives for Lake Victoria. *African Crop Science Journal*. 5(3): 309-324.

## Anexo

Análisis de varianza de la duración del ciclo biológico entre tratamientos de este estudio (de 26-28 °C y 28-30 °C).

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.61993927	1	0.61993927	0.16716703	0.68554609	4.17087676
Dentro de los grupos	111.255061	30	3.70850202			
Total	111.875	31				