



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

Identificación de *Sphenophorus venatus vestitus*, su
distribución y asociación con *Paspalum vaginatum* Swartz
en México

EDITH LORENA ORDAZ GONZÁLEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

La presente tesis titulada **Identificación de *Sphenophorus venatus vestitus*, su distribución y asociación con *Paspalum vaginatum* Swartz en México**, realizada por la alumna **Edith Lorena Ordaz González**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

DR. ARMANDO EQUIHUA MARTÍNEZ

ASESORA

DRA. IMELDA LEÓN GARCÍA

ASESOR

DR. ROBERT W. JONES

ASESOR

DR. AGUSTÍN ARAGÓN GARCÍA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril de 2014.

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento para la realización de mis estudios de posgrado.

Al Colegio de Postgraduados por la oportunidad de realizar los estudios de Maestría.

A Puerto Los Cabos Golf Club, Punta Sur Golf Course, Club Campestre San José Golf Course, Club Campestre Monterrey, El Molino Residencial & Club, El Campanario Residencial & Golf, Club de Golf Zibatá, Vista Verde Country club, The Fairmont Acapulco Princess, Turtle Dunes Princess, Mayan Palace Acapulco, La Vista Country Club y Punta Tiburón Residencial Marina & Golf, por las facilidades otorgadas para la realización del presente trabajo.

Con respeto y admiración a la Dra. Imelda León García por su apoyo, paciencia y por permitirme contar con su amistad a lo largo de todos estos años.

A los Doctores Armando Equihua, Robert Jones y Agustín Aragón, por los consejos y el apoyo para la culminación de este trabajo.

Al M.C. Raciél Hernández Hernández por su ayuda y consejos para concretar este proyecto.

Al M.C. Jorge Valdez Carrasco por su valiosa asesoría y consejos.

Al Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario (LADIFIT), a la M.C. Judith, Ing. María Elena e Ing. Alicia, por el espacio y apoyo para la realización de un parte de este proyecto.

A Daniela, Sara, Gabriela, Ana Lilia, Edgar, Norma, Isabel, y Briza porque han hecho más agradable y llevadera esta fase de mi vida.

DEDICATORIA

A mi pedacito de universo que me ha elegido para crecer y ayudarme a encontrar una parte del camino, ese ser que da luz a mi vida...MI HIJA....TE AMO SOFIA.

A mis padres Ma. Luisa González Deanda y J. Natividad Ordaz Ponce por su amor, por ser mi ejemplo de paciencia y sencillez. Gracias por su confianza.

A mis ángeles Alan, Leonardo, Orlando y María José por ser mis compañeros favoritos de vida.

A mis sobrinas Natalia, Zuria y Frida, por alegrar la vida con sus sonrisas.

A Humberto Castañeda Cruz por formar parte de este proyecto de vida, por tu apoyo y amor. Te Amo.

A Barbara, Marta, Gustavo, Edith Moreno y Edith Vargas, porque aún en la distancia están siempre presentes y por hacerme sentir como en familia.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. OBJETIVOS.....	5
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
3.1 El género <i>Sphenophorus</i> en México.....	6
3.2 Daños causados por <i>Sphenophorus</i>	10
3.3 Impacto y desarrollo de los campos de golf en México.....	12
4. MATERIALES Y METODOS.....	13
4.1.1 Colecta de campo.....	13
4.1.2 Estudio morfológico.....	14
4.1.3 Estudio molecular.....	16
4.1.3.1 Extracción de ADN.....	16
4.1.3.2 Electroforesis en gel de agarosa.....	16
4.1.3.3 PCR de ADN de insectos.....	17
4.2 Uso de satélites en determinación de presencia y distribución de <i>Sphenophorus</i> en campos de golf.....	18
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
5.1 Especies de <i>Sphenophorus</i> en México asociados a campos de golf... 19	19
5.1.1 <i>Sphenophorus arizonensis</i> (Horn).....	20
5.1.1.1 Cabeza.....	20
5.1.1.2 Tórax.....	21
5.1.1.3 Élitros.....	21
5.1.2 <i>Sphenophorus cicatristriatus</i> (Fahraeus).....	21
5.1.2.1 Cabeza.....	22
5.1.2.2 Tórax.....	23
5.1.2.3 Élitros.....	24
5.1.2.4 Genitalia.....	24
5.1.3 <i>Sphenophorus rectus</i> (Say).....	25
5.1.3.1 Cabeza.....	26
5.1.3.2 Tórax.....	26
5.1.3.3 Élitros.....	28

5.1.3.4 Genitalia	28
5.1.4 <i>Sphenophorus venatus vestitus</i> (Chittenden).....	29
5.1.4.1 Cabeza.....	29
5.1.4.2 Tórax.....	31
5.1.4.3 Élitros.....	31
5.1.4.4 Genitalia	31
5.1.5 <i>Sphenophorus incurrens</i> (Gyllenhal).....	32
5.1.5.1 Cabeza.....	32
5.1.5.2 Tórax.....	33
5.1.5.3 Élitros.....	34
5.1.5.4 Genitalia.....	34
5.2 Análisis molecular.....	37
5.3 Distribución geográfica de las especies.....	39
6. CONCLUSIONES.....	42
7. LITERATURA CITADA.....	44

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Especies de <i>Sphenophorus</i> reportadas para México.....	8
Cuadro 2.	Especies de <i>Sphenophorus</i> y sus hospederos registradas en el presente trabajo en campos de golf de México.....	19

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Ubicación de los campos de golf visitados durante el presente estudio en México.....	13
Figura 2.	Muestreo y colecta de <i>Sphenophorus</i> sp.....	14
Figura 3.	Genitalia masculina del género <i>Sphenophorus</i> . Vista dorsal, Ede: edeago; Teg: tegmen; Esp: Espiculum gastrale; Ape: Apodema del edeago; Apt: apodema del tegmen; Pb: pieza basal.....	15
Figura 4.	A) Vista dorsal de <i>S. arizonensis</i> (♀), B) Vista lateral de <i>S. arizonensis</i> (♀).....	20
Figura 5.	A) Vista dorsal de <i>S. cicatristriatus</i> (♀), B) Vista lateral de <i>S. cicatristriatus</i> (♀).....	22
Figura 6.	A) Pronoto y B) élitros de <i>S. cicatristriatus</i> (♀).....	23
Figura 7.	Tibia frontal de <i>S. incurrens</i> . Escala 1mm.....	24
Figura 8.	A) Vista dorsal y A) lateral de <i>S. rectus</i> (♂). Escala 1 mm.....	25
Figura 9.	A) Vista dorsal y A) lateral de <i>S. rectus</i> (♀). Escala 1 mm.....	26
Figura 10.	Pronoto de <i>S. rectus</i> . A) hembra, B) macho.....	27
Figura 11.	Tibia anterior de <i>S. rectus</i> (♂) Escala 1mm.....	27
Figura 12.	Élitros de <i>S. rectus</i> . A) hembra, B) macho. Escala 1 mm.....	28
Figura 13.	A) Vista dorsal y B) lateral de <i>S. venatus vestitus</i> (♂).....	30
Figura 14.	A) Vista dorsal y B) lateral de <i>S. venatus vestitus</i> (♀).....	30
Figura 15.	A) Vista dorsal y B) lateral de <i>S. incurrens</i> (♂) Escala 1mm..	32
Figura 16.	A) Vista dorsal y B) lateral de <i>S. incurrens</i> (♀).....	33
Figura 17-20.	Genitalia masculina de cuatro especies de <i>Sphenophorus</i> . 17, <i>S. cicatristriatus</i> ; 18, <i>S. rectus</i> ; 19, <i>S. venatus vestitus</i> ; 20, <i>S. incurrens</i> . Vista (a) ventral, (b) lateral y (c) dorsal.....	35
Figura 21.	Árbol filogenético de las secuencias de ADN del presente trabajo.	38
Figura 22.	Ubicación geográfica de los campos de golf en México.....	39
Figura 23.	Polígono de Campo de golf Mayan Palace, Acapulco, Guerrero...	39
Figura 24.	Campos de golf en Los Cabos, Baja California Sur, ubicados mediante el programa QGIS.....	40

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la identificación de cinco especies de *Sphenophorus* (Coleoptera: Dryophthoridae) asociadas a campos de golf en siete estados de México en varias plantas hospederas; *Sphenophorus arizonensis* Horn en el estado de Puebla en *Paspalum vaginatum* Swartz (nuevo registro estatal y de hospedero); *Sphenophorus cicatristriatus* Fahraeus se colectó en Puebla en *Cynodon dactylon* (L.) Pers.; *Sphenophorus incurrens* Gyllenhal fue colectado en Querétaro en *Pennisetum clandestinum* Hochst. (Nuevo registro estatal); *Sphenophorus rectus* (Say) se colectó en Veracruz en *P. vaginatum* (Nuevo hospedero); y *Sphenophorus venatus vestitus* Chittenden que fue colectado en Puebla, Veracruz, Guerrero, Baja California Sur y Nuevo León en *C. dactylon* y en Guanajuato en *Lolium perenne* L. (nuevo hospedero). Se realizó la comparación de sus caracteres morfológicos externos y de genitalia masculina para su identificación. Además de realizar un ensayo molecular usando el gen COI, para obtener la secuencia de ADN, de las especies del género. La información generada contribuye con las bases de la distribución y diversidad de las especies del género *Sphenophorus* en el país; con lo cual se busca a mediano plazo el mejoramiento de las técnicas de manejo de las especies de este género que atacan pastos en los campos de golf en México.

Palabras clave: *Sphenophorus*, pastos de campos de golf, plaga, distribución, México.

ABSTRACT

In this study five species *Sphenophorus* (Coleoptera: Dryophthoridae) were found associated to golf courses in seven states of Mexico on several host plants; *Sphenophorus arizonensis* Horn in the state of Puebla in *Paspalum vaginatum* Swartz (new state record and host); *Sphenophorus cicatristriatus* Fahraeus was collected in Puebla in *Cynodon dactylon* (L.) Pers; *Sphenophorus incurrens* Gyllenhal was collected in Querétaro in *Pennisetum clandestinum* Hochst. (new state record) ; *Sphenophorus rectus* (Say) was collected in Veracruz in *P. vaginatum* (New host) and *Sphenophorus venatus vestitus* Chittenden was collected in Puebla , Veracruz, Guerrero, Baja California Sur , and Nuevo Leon in *C. dactylon* and Guanajuato in *Lolium perenne* L. (new host). External morphological characters and male genitalia were studied for identification. In addition, a molecular assay using the COI gene to obtain the DNA sequence of the genus was done. The information contributes to the knowledge of the distribution and diversity of species in the genus *Sphenophorus* in the country, which seeks to medium term, improved management of the species of this genus that attack grass in golf courses in Mexico.

Keywords: *Sphenophorus*, grass golf courses, pest, distribution, Mexico

1. INTRODUCCIÓN

Los seres humanos han utilizado céspedes para mejorar su ambiente durante más de 1,000 años. La industria del césped ha crecido rápidamente desde la década de 1970 cuando se desarrollaron grandes extensiones de tierra para dar cabida a la expansión poblacional. Los céspedes suburbanos proporcionan beneficios para la salud, recreación, valor agregado a las propiedades, atracción para el turismo del golf, servicios importantes al ecosistema, por ejemplo: disipación de calor, captura de carbono, control de la erosión del suelo, reducción de ruido, el deslumbramiento y el escurrimiento de agua, en comparación con superficies sin césped (Beard y Green, 1994; Zhiquiang, 2007).

El césped, como un ecosistema bajo manejo, constituye una diversidad de macro y microorganismos, que incluyen una variedad de plantas, artrópodos, nematodos, bacterias y hongos en constante estado de interacción entre cada uno de ellos y su ambiente físico. Se estima que al menos el 1% de estos organismos adquieren el estatus de plaga en algún momento (Grewal, 1999).

En comparación con la agricultura, donde las decisiones del manejo de plagas están basadas en la relación entre la abundancia de la plaga y la pérdida económica en el rendimiento del cultivo, las decisiones de manejo de plagas en el césped son impulsadas principalmente por la estética, en la idea del césped “perfecto”. Para satisfacer esta demanda de alta calidad en césped, a menudo el manejo se basa en el uso de plaguicidas químicos, riego y fertilización (Austin, 1999).

El daño potencial de insectos en el césped de campos deportivos es variable debido a factores como fertilidad, riego, altura de corte, edad del césped, clima, disponibilidad de alimento, respuesta del césped, enemigos naturales y el uso del área. Así mismo los daños causados por las plagas de artrópodos se pueden confundir con daños por enfermedad, el estrés por sequía o invierno, entre otros (Shetlar, 1991; Fresenburg *et al.*, 2003; Buss y Huang, 2009; Reinert *et al.*, 2011).

Dentro de las plagas comunes en los campos de golf se encuentran, los gusanos (*Spodoptera frugiperda*) grillotopos (Gryllotalpidae), gallinas ciegas (*Phyllophaga* spp.), picudos (Curculionidae), entre otros, siendo los picudos del género *Sphenophorus* uno de los más dañinos para el césped (Buss y Huang,

2009), este género es considerado de origen americano y la mayoría de las especies conocidas se han citado de Norteamérica (Vaurie, 1951; Kuhn *et al.*, 2010).

En México, la importación de pasto en rollo procedente de Alabama, California, Georgia y Florida, EUA; durante las últimas dos décadas y la creciente actividad en la construcción de campos de golf en el país, han dado la pauta para la distribución y establecimiento de especies de *Sphenophorus* como plaga, siendo problema principalmente en los sitios de clima tropical. El daño que causa este insecto es más serio en las raíces, donde las larvas se alimentan (Woodruff, 1966; Kuhn *et al.*, 2010), lo que hace difícil su observación, sin embargo existen métodos de muestreo como la inundación de áreas aleatorias dentro del campo, donde ha habido antecedentes de daños o bien, se pueden realizar muestreos mediante el uso de trampas “pitfall” las cuales son enterradas en la superficie del suelo, donde los insectos son capturados al ser atraídos por la trampa (Laub *et al.*, 2009).

León-García *et al.*, 2012 reportaron la presencia de la especie *Sphenophorus venatus vestitus*, en el estado de Quintana Roo, como primer reporte de la especie como plaga de césped en campos de golf en México. No obstante, no se sabe si ese reporte representa una introducción única a México de *S. v. vestitus* o si existe en otras regiones del país donde sea plaga de césped. Tampoco, se sabe si hay otras especies de *Sphenophorus* que son plagas de césped en campos de golf en México y la distribución en el territorio nacional.

En el presente trabajo se utilizó la técnica de percepción remota, es decir; un conjunto de técnicas que permite medir y registrar la energía electromagnética reflejada o emitida por la superficie de la Tierra, y relacionar tales mediciones con su naturaleza y distribución (SEMAR, 2012). En la agricultura, por ejemplo, se utiliza esta herramienta para reducir tiempo en la búsqueda de problemas fitosanitarios. Con la finalidad de cubrir las principales zonas geográficas del país, y ubicar los puntos de muestreo y la identificación de la o las especies de *Sphenophorus* presentes. Además se realizó un ensayo molecular para la obtención de la secuencia del ADN de estos insectos, basándose en la extracción del ADN mitocondrial y el uso del gen COI (citocromo oxidasa); tomando en cuenta que este gen codifica una región bastante conservada presente en los insectos. De acuerdo a lo anterior, se plantearon los siguientes objetivos:

2. OBJETIVOS

- Conocer y delimitar la distribución de las especies de *Sphenophorus* (Coleoptera: Dryophthoridae) asociadas a campos de golf en México.
- Reconocer áreas cubiertas por *Paspalum vaginatum* utilizando técnicas de percepción remota, para delimitar la distribución potencial de *Sphenophorus venatus vestitus*, en México.
- Pruebas moleculares para apoyar la identificación de especies de *Sphenophorus* de acuerdo a varias regiones del país

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 El género *Sphenophorus* en México

Reino Animalia

Phylum Arthropoda

Subphylum Hexapoda

Clase Insecta

Orden Coleoptera

Suborden Polyphaga

Superfamilia Curculionoidea

Familia Dryophthoridae

Género *Sphenophorus* Schönherr, 1838

Especie *Sphenophorus* sp.

(Alonso-Zarazaga y Lyal, 1999)

Los picudos del género *Sphenophorus* (Coleoptera: Curculionidae: Dryophthorinae) fueron caracterizados por Vaurie (1951), como insectos de color predominantemente negro a rojo oscuro, aunque algunos especímenes también pueden presentar coloraciones amarillentas, grises, ocres o cafés. La longitud del cuerpo va de los 4 a 20 milímetros de longitud, con el rostrum curvado, el cual mide por lo menos la mitad de la longitud del pronoto, y presenta escasas puntuaciones. El extremo del abdomen se expone más allá de los élitros. Las antenas son geniculadas y se insertan en la base del rostrum, sin un escrobo como en Curculionidae. Los adultos de varias especies de este género se pueden distinguir por las puntuaciones en el pronoto, élitros, abdomen y algunas características de las patas.

En 1953, se describen dos especies más para México, para sumar un total de nueve especies endémicas (Vaurie, 1954), descritas por el autor junto a las especies ya anotadas en la revisión del género en 1951. Aunque en ambos trabajos el autor no describe hospedantes, solo menciona los lugares de colecta; sin embargo

representa a la fecha el trabajo de referencia para estudios del género en el país. Otros autores en décadas posteriores han reportado nuevo lugares de colecta y/o nuevas especies para el país. Las especies reportadas a la fecha en trabajos anteriores se observan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Especies de *Sphenophorus* reportadas para México.

		Referencias				
		Vaurie, 1951	O'Brien y Wibmer, 1986	Salas-Araiza et al. 2001	Jones & Luna, 2007	León et al. 2012
Espece	Lugar de colecta y Hospedero					
<i>Sphenophorus simplex</i>	Purísima Baja California, México					
<i>S. subulatus</i>	Paso del norte, Chihuahua					
<i>S. imus</i>	Durango, Guanajuato; Izúcar, Puebla, y Toluca, Estado de Mex.					
<i>S. augustus</i>	Chihuahua, Durango; Real del Monte y Pachuca, Hidalgo					
<i>S. quadrivittatus</i>	Otinapa, Durango, Puebla y Distrito Federal			Huimilpan, Qro. San Juan del Río, Qro.		
<i>S. lineatus</i>	Amula, Guerrero					
<i>S. vumerinus</i>	Sonora					
<i>S. memnonius</i>	Distrito Federal, Guanajuato y Yucatán			San Juan del Río, Querétaro.		
<i>S. championi</i>	Chihuahua, Durango, Aguascalientes					
<i>S. arizonensis</i>	Distrito Federal					
<i>S. ciciatristriatus</i>	Ciudad de México, Veracruz, Yucatán, Chihuahua, Durango, Aguascalientes Tuxpan,			Villagrán, Guanajuato (Maleza)	Querétaro, Querétaro	

Continuación del cuadro 1

	Jalisco; Irapuato, Guanajuato; Toluca, México; Morelia, Michoacán; Puebla, Hidalgo y Guerrero		
<i>S. terrícola</i>	Sonora		
<i>S. coesifrons</i>	Durango, Chihuahua, Coahuila y Veracruz		
<i>S. sayi</i>	Delicias, Chihuahua		
<i>S. venatus</i>	México	El Dorado, Irapuato, Guanajuato (C. <i>dactylon</i>)	Huimilpan, Querétaro
<i>S. venatus vestitus</i>			Cancún, Quintana Roo. (<i>Paspalum vaginatum</i>)
<i>S. phoeniciensis</i>		El Dorado, Irapuato, Guanajuato (C. <i>dactylon</i>)	
<i>S. incurrens</i>	San Luis Potosí, S.L.P.; Pátzcuaro, Michoacán		
<i>S. rectus</i>	Córdoba, Veracruz		

*(Vaurie, 1951; O'Brien y Wibmer, 1986; Salas-Araiza et al. 2001; Jones & Luna, 2007 y León-García *et al.*, 2012).

En estos estudios anteriores solo Salas-Araiza et al. (2001) y León-García et al., (2012) mencionan como hospedero a *Cynodon dactylon*, y a *Paspalum vaginatum*, respectivamente, donde fueron colectados los ejemplares de las especies mencionadas.

La especie *Sphenophorus incurrens* ha sido reportada en el cultivo de caña de azúcar para los estados de Puebla, Morelos, Michoacán y Veracruz, causando severos daños y pérdidas económicas (Segura-León et al., 2013; Pérez de la O et al., 2014).

3.2 Daños causados por *Sphenophorus*

Las plagas del césped incluyen enfermedades causadas por patógenos, insectos y malezas. Algunas de estas plagas pueden estar presentes siempre, sin embargo; su presencia está sujeta a los niveles de aceptación de la plaga, los cuales van a variar según sea el objetivo de mantenimiento del campo (Toth, 2004).

Se tiene que cada especie de césped tiene características propias, por ejemplo; el bluegrass (*Poa annua*) es buena opción para lugares abiertos, pero es relativamente susceptible al ataque de enfermedades e insectos, el ryegrass perenne cubre rápidamente el terreno, pero su hábito de crecimiento en racimos disminuye su capacidad para llenar espacios rápidamente (Boehm et al., 2011); mientras que el pasto *Paspalum* (*Paspalum vaginatum*) es usado tanto en jardines industriales y residenciales como en campos deportivos, en los Estados Unidos; como controlador de la erosión de las zonas costeras en Sudafrica, Australia y Nueva Zelanda; y en campos de golf en Argentina, China, Tailandia, Indonesia, Filipinas y varios estados en los Estados Unidos (Casler y Duncan, 2003); en México es una especie relativamente nueva en los campos de golf (Salinas, 2009, com pers.); ya que se comenzó a importar de los Estados Unidos a principios de los años 2000, principalmente de Georgia. Algunas de las características relevantes del césped *Paspalum* son: la reproducción principalmente por medios vegetativos, se considera un césped con bajo requerimiento de agua de riego, tolerante a suelos salinos y ocasionalmente a inundaciones con agua salada, y buena adaptación a las zonas costeras de los trópicos y los subtrópicos (Raymer et al., 2008). En México existen alrededor de 220

campos de golf, sembrados con céspedes como *Lolium perenne*, *Pennisetum clandestinum* y *Cynodon dactylon* principalmente, mientras que *Paspalum vaginatum* ha tomado auge y hoy en día se han construido campos con este césped en Baja California Sur, Veracruz, Guerrero, Puebla, Morelos, Quintana Roo y Nayarit.

El cultivo de césped presenta problemas fitosanitarios, siendo los picudos una plaga que está causando serios daños en las zonas costeras. El principal problema con el daño causado por picudo es que se parece a una variedad de problemas y es comúnmente una plaga mal diagnosticada en los campos de golf (Shetlar, 2003). Fácilmente puede confundirse los síntomas con los causados por un estrés por sequía, enfermedades, aquellos causados por chinches, gusanos o grillo topos (Cox, 2006; Reinert *et al.*, 2011).

A menudo las infestaciones ligeras de *Sphenophorus* en el césped producen pequeños puntos muertos que se parecen a los síntomas de enfermedades del césped. A veces, el daño aparece como un moteado irregular y de color dorado (Shetlar, 1991; Fresenburg *et al.*, 2003; Alston y Kopp, 2010). Mientras que el suelo mantiene una estructura sólida, no es esponjoso como en el caso de ataques de larvas de gallina ciega. (Shetlar, 1991; Buss, 2002; Hodgson, 2007).

El primer tipo de daño lo realiza en la primavera cuando la hembra oviposita un huevo en la base del tallo dentro de las hojas jóvenes (Umble *et al.*, 2005), donde los signos son evidentes como perforaciones que van de una longitud de 1/16 a 1/8 de pulgada (Kuhn, 2010).

El segundo tipo de daño ocurre cuando las larvas se alimentan dentro del tallo, lo que se identifica por la presencia de excremento. Este insecto al alimentarse de las raíces del césped, eventualmente puede destruir por completo el sistema radicular (Woodruff, 1966; Cranshaw y Zimmerman, 1998; Hodgson, 2007; Kuhn, 2010).

La confirmación del ataque de picudo se puede sujetar un área de césped afectado y se debe tirar hacia arriba, si los tallos se rompen con facilidad a nivel del suelo, además de ser huecos o estar rellenos de material parecido al aserrín. (Shetlar, 1991).

Aunque los picudos han sido encontrados en varios pastos, en México el daño es más aparente en pasto del género *Paspalum vaginatum*. Se ha reportado que

puede causar graves daños en pasto bermuda (*Cynodon dactylon*), especialmente cuando las plantas están estresadas, pero el rápido crecimiento del pasto bermuda permite una rápida reparación, enmascarando los síntomas de la presencia de picudo (Young, 2002).

3.3 Impacto y desarrollo de los campos de golf en México

Según datos de la Federación Mexicana de Golf (FMG, 2014) se tienen registros de la llegada del golf a mediados del siglo XIX, empezándose a jugar por los ocupantes de las embarcaciones británicas que arribaron a puertos del Golfo de México.

En la actualidad, los campos de golf son una de las principales atracciones que se están agregando a las zonas turísticas; lo cual plantea un reto para garantizar el aprovechamiento sustentable y la conservación de los recursos naturales; ya que los principales centros turísticos se han establecido en corredores costeros, bosques o zonas con gran belleza natural distinguidas por la gran biodiversidad y riqueza cultural. Lo anterior, hace que sea un reto el mantenimiento para conservar el equilibrio entre el ambiente natural y las grandes zonas modificadas por estos espacios y la influencia generada en el ambiente –entre otras cosas– por efecto de fertilizantes y agroquímicos en el manejo de plagas.

Por ello resulta de gran importancia el estudio de la diversidad de plagas que afectan a estas áreas convertidas en grandes zonas de manejo agronómico, y que van en aumento a la par del desarrollo económico del país.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.1 Colecta de campo

Se realizaron 12 visitas a campos de golf en los estados de Baja California Sur, Guanajuato, Guerrero, Nuevo León, Puebla, Querétaro y Veracruz entre julio de 2012 y marzo de 2013. De acuerdo a condiciones de cada zona visitada y tomando en cuenta condiciones climáticas y ubicación geográfica, se obtuvieron muestras de la costa del pacífico, zona del golfo de México, Península de Baja California, centro y norte del país. (Figura 1).



Figura 1. Ubicación de los campos de golf visitados durante el presente estudio en México.

El muestreo consistió en la inundación de una superficie aproximada de 5m² de césped por un periodo de tiempo de 3-5 minutos, hasta observar los insectos adultos en la superficie del pasto, para proceder a la colecta manual y preservación en alcohol 70% (Figura 2). Se revisaron al menos 5 puntos de muestreo en cada uno de los campos visitados. Llevándose a cabo principalmente en las áreas de pistas y mesas de salida; ya que en estas áreas el daño es más notable.



Figura 2. Muestreo y colecta de *Sphenophorus* sp.

Además, se revisaron especímenes depositados en la colección del área de Zoología de la Universidad de Querétaro colectados por el Dr. Robert W. Jones. Las identificaciones se realizaron con ayuda de las claves de Vaurie (1951) y la confirmación de las mismas por el Dr. Robert Jones.

4.1.2 Estudio morfológico

Los ejemplares colectados en cada sitio de muestreo fueron separados por sexo, tomando en cuenta la terminación del pigidio; el cual resulta ser de forma cónica en las hembras, y redondeado en los machos, lo cual se observa con ayuda del microscopio estereoscópico.

Para la identificación morfológica se tomaron en cuenta las características morfológicas mencionadas por Vaurie (1951) en la clave de identificación de especies del género *Sphenophorus* (= *Calendra*) para las especies mexicanas, haciendo énfasis en la abundancia y/o presencia de puntuaciones en pronoto, élitros, vittae y prosterno. Además se revisaron las características de las tibias de patas frontales y las puntuaciones y setas presentes en el pigidio.

Posterior a su identificación, algunos ejemplares se limpiaron con alcohol absoluto y un pincel fino, para eliminar impurezas adheridas a la cutícula y les fueron tomadas fotografías en vista lateral y dorsal, con ayuda de un fotomicroscopio III (Carl Zeiss) y cámara digital para microscopio PaxCam III.

Una vez separados los ejemplares por sexos, se tomaron al azar insectos machos para extraer la genitalia, separando el tergito y el esternito del último segmento abdominal del ejemplar, con el fin de dejar al descubierto el ápice del edeago, el cual se sustrae cuidadosamente con unas pinzas entomológicas de punta fina, hasta obtener la estructura completa.

Una vez obtenida la genitalia se llevó a cabo el macerado en una solución de KOH, durante 30 minutos para eliminar el exceso de grasa. Posterior a este paso se realizó un lavado con agua destilada para detener el proceso KOH. Una vez hecho el proceso en el KOH, se procedió a la limpieza total de las muestras con un pincel fino, para eliminar residuos de músculos y grasa. Para la observación al microscopio se realizó el montaje de la genitalia en una gota de gel estilizador para cabello, y se cubrió con un cubreobjetos, posterior a la observación se tomaron fotografías con el equipo como se llevó a cabo para los adultos. Se tomaron fotografías en vista dorsal, lateral y ventral de cada muestra. Para la descripción de la genitalia se tomaron en cuenta las partes de la estructura: longitud del edeago, anchura máxima del edeago, longitud de los apodemas del edeago, anchura del tegmen, longitud de la espícula, y la longitud total de la genitalia (Figura 3). Además se realizaron observaciones en las variaciones presentes en las estructuras mencionadas, en las diferentes especies.

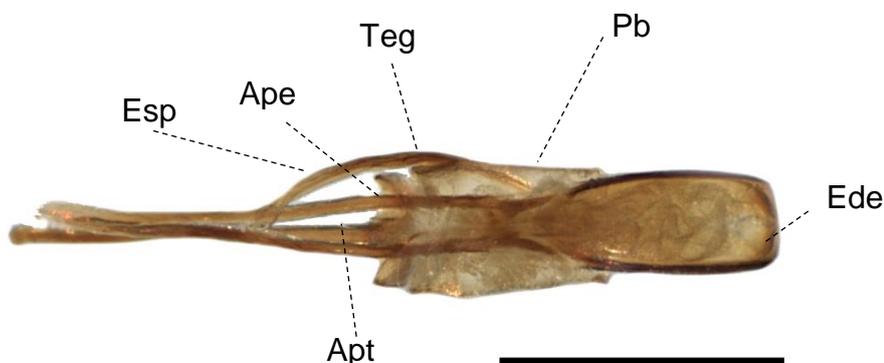


Figura 3. Genitalia masculina del género *Sphenophorus*. Vista dorsal, Ede: edeago; Teg: tegmen; Esp: Espiculum gastrale; Ape: Apodema del edeago; Apt: apodema del tegmen; Pb: pieza basal. Escala 1mm.

Posterior a la observación y descripción de las muestras, las estructuras fueron conservadas en cápsulas de glicerol.

4.1.3 Estudio molecular

4.1.3.1 Extracción de ADN

Método CTAB

El ADN se extrajo de los tergitos de los insectos, bajo el siguiente protocolo:

- a) Macerado de tergitos, en mortero, en 100µl de CTAB al 2%.
- b) Incubación durante 60 minutos a 65°C, en baño maría, mezclando de vez en cuando, a intervalos 10 minutos.
- c) Agregar 100µl cloroformo alcohol isoamílico (24:1) y mezclar por inversión.
- d) Centrifugar durante 10 minutos a 13,200 rpm.
- e) Tomar fase acuosa a un tubo nuevo y agregar 50µl de isopropanol frío, mezclar por inversión un máximo de siete veces.
- f) Incubar a -20°C, durante una hora.
- g) Centrifugar durante 10 minutos a 13,200 rpm.
- h) Decantar el isopropanol.
- i) Dejar secar el tubo sobre una toalla de papel estéril, aproximadamente 30 minutos.
- j) Hidratar en 25µl de agua destilada estéril.
- k) Conservar en congelador a -20°C para análisis posterior.

4.1.3.2 Electroforesis en gel de agarosa

La electroforesis en gel de agarosa es un método utilizado para separar, identificar y purificar fragmentos de ADN. La agarosa es un polímero lineal, extraído de algas marinas, en el cual las moléculas de ADN de doble cadena migran e manera inversamente proporcional al logaritmo en base 10 (log10) de sus tamaños moleculares. Dado que el ADN está cargado negativamente debido a los grupos fosfatos de la molécula, la migración en la cámara de electroforesis ocurre del polo

positivo hacia polo negativo, de modo que a menor tamaño mayor velocidad de migración (Puerta y Urueña, 2005).

Para la corroboración de ADN mitocondrial extraído de los especímenes de este trabajo se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1%, (0.5 gr de agarosa ultrapura de Invitrogen, 50ml de TAE1x y 0.5µl de Bromuro de Etidio). Se usaron y 2µl de muestra de extracción + 1µl de colorante. El gel se reveló en una cámara de electroforesis a 87 volts durante 30 min. El gel se analizó en un fotodocumentador Bio-Rad, bajo luz ultravioleta (UV).

El ensayo molecular se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario (LADIFIT).

4.1.3.3 PCR de ADN de insectos

El gen COI mitocondrial se amplificó con los iniciadores universales LCO-1490 5' GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G 3' y HCO-2198 - 5' TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA 3', los cuales amplifican 710 pares de bases (pb) (Folmer et al. 1994). La mezcla de reacción de PCR se preparó en un volumen final de 20µl, con 4µl de ADN mitocondrial, 2µl de PCR buffer, 1µl de MgCl₂, 0.5µl de dNTP's, 0.5µl de cada iniciador y 0.2µl de Taq Polimera, por muestra. La amplificación se realizó con un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 1 min, seguido del alineamiento en 5 ciclos a 94°C por 30 seg, 45°C por 90 seg, 72°C por 1 min; una extensión final se llevó a cabo en 35 ciclos de 94°C por 30 seg, 57°C por 90 seg, 72°C por 1 min, y una amplificación a 72°C por 5 min. El proceso de PCR se realizó en un termociclador Mycycler de Bio-Rad. Los productos amplificados fueron enviados a Macrogen Inc. (Seul, Corea) para su purificación y secuenciación.

Para el análisis de la secuencia obtenida de las muestras de ADN de los insectos, se utilizó el programa de software libre META6.

4.2. Uso de sistemas satelitales en la determinación de presencia y distribución del género *Sphenophorus* en campos de golf

Para definir las zonas de colecta y poder asociar a los insectos con el césped, se utilizaron herramientas como el Sistema de Información Geográfica (SIG o GIS, en su acrónimo inglés [Geographic Information System]) el cual es una integración organizada de hardware, software y datos geográficos diseñada para capturar, almacenar, manipular, analizar y desplegar en todas sus formas la información geográficamente referenciada con el fin de resolver problemas complejos de planificación y gestión; esta herramienta funciona a través de un sistema automatizado capaz de coleccionar, almacenar, manejar, analizar y visualizar información que se encuentra asociada por un identificador común a los objetos gráficos de un mapa digital. De esta forma, señalando un objeto se conocen sus atributos e, inversamente, preguntando por un registro de la base de datos se puede saber su localización en la cartografía.

Durante los meses de julio de 2012 a agosto del 2013 se recabo información referente a los campos de golf en México, además de obtener la huella espectral del césped *Paspalum vaginatum*, posteriormente se elaboró una base de datos con la información obtenida. Con ayuda del programa Quantum GIS se construyó un mapa digital, ubicando cada campo de golf, tomando en cuenta imágenes satelitales disponibles en LandSat 5 y 7.

Una vez obtenidos los datos de la ubicación de los campos de golf en el país, se procedió a realizar un mapa de la República Mexicana donde se ubicaron todos los campos de golf, usando el programa Quantum GIS, con la finalidad de determinar su ubicación geográfica en un plano.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Especies de *Sphenophorus* en México asociados a campos de golf

En el presente estudio se identificaron cinco especies de *Sphenophorus* (*Sphenophorus arizonensis* (Horn), *S. cicatristriatus* (Fahraeus), *S. rectus* (Say), *S. venatus vestitus* (Chittenden) y *S. incurrens* (Gyllenhal). De las especies encontradas, *Sphenophorus venatus*, fue la más común con mayor distribución, se encontró en seis poblaciones en el país Cuadro 2.

Cuadro 2. Especies de *Sphenophorus* y sus hospederos, registradas en el presente trabajo en campos de golf de México.

Espece	Hospedero	Coordenadas
<i>S. venatus</i> <i>vestitus</i>	<i>Paspalum vaginatum</i>	Tehuacán, Puebla
<i>S. venatus</i>	<i>Paspalum vaginatum</i>	Boca del Río, Veracruz
		Acapulco, Guerrero
		San José del Cabo, Baja California Sur
	<i>Cynodon dactylon</i>	Acapulco, Guerrero
		San José del Cabo, Baja California Sur
		San Pedro Garza García, Nuevo León
	<i>Lolium perenne</i>	León, Guanajuato
<i>S. incurrens</i>	<i>Pennisetum clandestinum</i>	Querétaro, Querétaro
<i>S. cicatristriatus</i>	<i>Cynodon dactylon</i>	Puebla, Puebla
<i>S. arizonensis</i>		Tehuacán, Puebla
<i>S. rectus</i>	<i>Paspalum vaginatum</i>	Boca del Río, Veracruz

5.1.1 *Sphenophorus arizonensis* (Horn)

Especie reportada para los Estados Unidos y México, D. F. (Vaurie, 1951 y O'Brien y Wibmer, 1982). El espécimen analizado es un hembra y se reporta presente en césped *Paspalum vaginatum* en el estado de Puebla (18° 28' 58.83" N, 97° 24' 34.99" O), con ello se amplía su distribución en México y representa un nuevo registro estatal y de hospedante en el país.

5.1.1.1 Cabeza

Sphenophorus arizonensis presenta una coloración uniforme en todo el cuerpo, presentando un color negro brillante. El rostrum (vista lateral) más ancho en el ápice, y su base no está hinchada cerca de la inserción antenal, y no presenta fovea delante del ojo. El margen del pronoto se observa recto detrás del ojo. Esquina inferior del ojo por debajo de la inserción del rostrum (Figura 4 B).

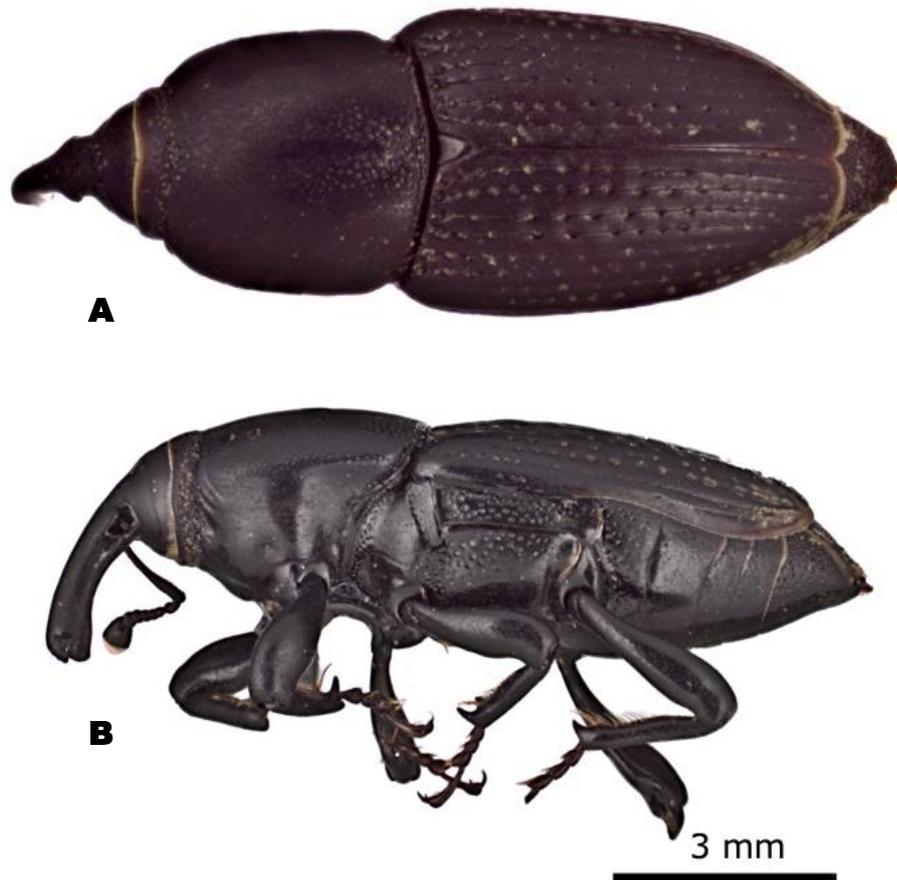


Figura 4. A) Vista dorsal de *S. arizonensis* (♀), B) Vista lateral de *S. arizonensis* (♀)

5.1.1.2 Tórax

Esta especie no presenta el lóbulo torácico. El pronoto con puntuaciones en la parte media apical y en la parte media basal, pero sin cavidad media apical, el resto con puntuaciones finas y presentes de manera uniforme (Figura 4A). No presenta vittae, ni puntuaciones finas en el prosterno; lo anterior coincide con lo descrito por Vaurie (1951). Presenta puntuaciones en el metapisterno y metasterno más grandes y en mayor cantidad que aquellas presentes en el mesepímeron. Las patas presentan una hilera de setas largas dispuestas a lo largo de la cara interna de las tibias.

5.1.1.3 Élitros

Los élitros con intervalos aplanados y aproximadamente del mismo ancho, con puntuaciones finas. Las estrías presentan grandes puntuaciones redondas tan anchas como la mitad de un intervalo, separadas por a una distancia de una o dos veces su diámetro (Figura 4A). El pigidio está expuesto y presenta una ligera elevación en la parte distal dorsal, además de puntuaciones densas y profundas.

5.1.2 *Sphenophorus cicatristriatus* (Fahraeus)

La distribución de la especie se reporta en parte de Canadá, Estados Unidos y México. En México se reporta previamente de Chihuahua, Aguascalientes, el sur de la Ciudad de México, Estado de México, Guanajuato, Michoacán, Puebla, Hidalgo, Jalisco, Durango, Veracruz, Yucatán y Sonora (Champion 1910, Vaurie 1951, 1954 y O'Brien y Wibmer, 1982). En el 2001 se reportó en *Cynodon dactylon* en el estado de Guanajuato (Salas-Araiza et al. 2001), y Jones & Luna (2007) lo reportan para el estado de Querétaro. En el presente trabajo los insectos fueron colectados sobre césped *C. dactylon* en Puebla, Puebla (19° 00' 46.05" N, 98° 14' 54.44" O) (Figura 5A y 5B).

5.1.2.1 Cabeza

El rostrum es más ancho hacia el ápice y ligeramente curvado hacia el cuerpo, corto, y sin fovea en la inserción antenal, se inserta por encima del margen del ojo. En vista dorsal en aplanado y presenta una canaladura en la parte media basal (Figura 5B). La coloración del cuerpo es negro opaco, con la presencia de recubrimiento café sobre las puntuaciones en pronoto y élitros.



Figura 5. A) Vista dorsal y B) Vista lateral de *S. cicatristriatus* (♀)

5.1.2.2 Tórax

El pronoto presenta una ligera línea media, la cual tiene puntuaciones en la parte media basal, que asemejan una “V”, y está ligeramente deprimida, además presenta puntuaciones grandes y profundas en la parte apical que forman un anillo alrededor del margen. El resto del pronoto con puntuaciones finas. No presenta lóbulo torácico. (Figura 6A). El margen anterior de pronoto presenta una línea de puntuaciones densas y profundas que continua alrededor del tórax (Figura 6A).

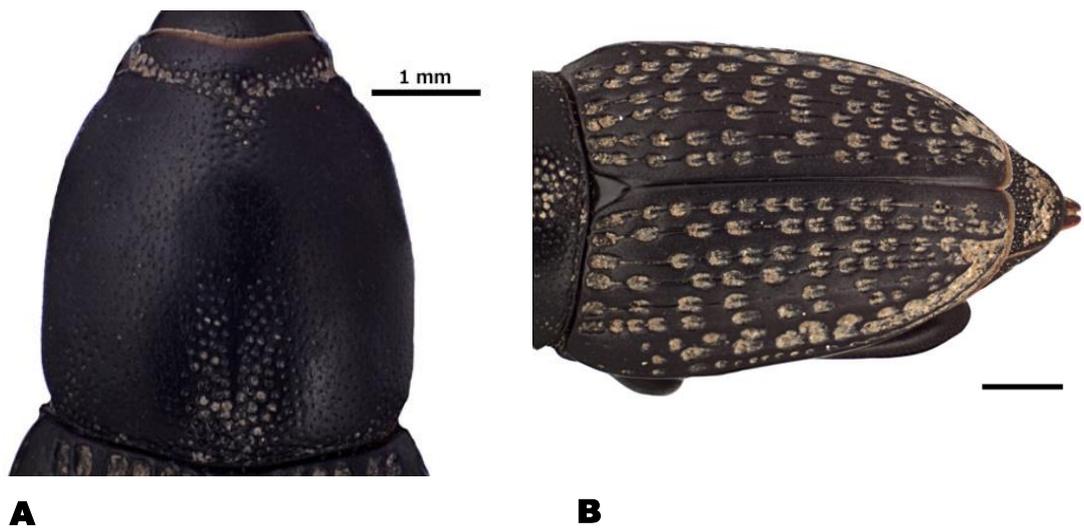


Figura 6. A) Pronoto y B) élitros de *S. cicatristriatus* (♀).

Las tibias de patas frontales presentan una canaladura profunda a lo largo de la parte interior de la tibia, con setas a lo largo de ella. Además presenta un par de espinas asimétricas en la parte distal de las tibias en todas las patas. Las espinas están separadas por una distancia de una vez el tamaño de la espina distal, y terminan en una punta ligeramente roma (Figura 7).



Figura 7. Tibia frontal de *S. incurrens*. Escala 1mm.

5.1.2.3 Élitros

Las puntuaciones de los élitros son aparentemente lobuladas, aplanadas y están distribuidas a lo largo de las estrías, son más largas que anchas, sin llegar a unirse entre ellas a lo largo de las estrías, excepto en el declive lateral de cada élitro. Su diámetro no abarca más de la mitad del intervalo, donde las puntuaciones son finas. Además presentan un recubrimiento de color café. No se aprecian setas en las puntuaciones.

El pigidio está expuesto y presenta una concentración de puntuaciones que aumentan en cantidad y son más profundas hacia la parte media distal (Figura 6B), además se observa una pequeña seta en cada puntuación.

5.1.2.4 Genitalia

El edeago es $\frac{1}{2}$ del tamaño total de la estructura, es fuertemente esclerotizado y pigmentado, excepto hacia la parte media apical, donde es ligeramente membranoso, traslúcido y presenta pigmentación en forma ovalada. El tegmen es traslúcido oscuro y cubre la base posterior del edeago, y presenta una esclerotización en su base media distal, donde nace el apodema del tegmen, el cual es esclerosado. Los apodemas del edeago nacen en la base del mismo, estos son

completamente esclerosados y su tamaño es $\frac{2}{3}$ de la estructura de la genitalia. La espícula es $\frac{1}{2}$ del tamaño de los apodemas del edeago, es fuertemente esclerotizado y está curvado hacia los apodemas, termina en punta roma. Todas las estructuras esclerosadas presentan un color café oscuro a negro (Figura 17 a y b).

5.1.3 *Sphenophorus rectus* (Say)

Vaurie (1951) reporta la distribución de esta especie para Estados Unidos y el Estado de Veracruz en México, este último lugar coincide con lo reportado por O'Brien y Wibmer (1982) quienes solo lo mencionan para México; aunque en ninguno de los trabajos existe reporte de hospedante. Esta especie fue colectada en césped *Paspalum vaginatum* en la costa de Veracruz ($19^{\circ} 03' 56.91''$ N, $96^{\circ} 05' 32.80''$ O), lo cual constituye un nuevo registro del hospedante para esta especie en el estado (Figura 8 A y B).

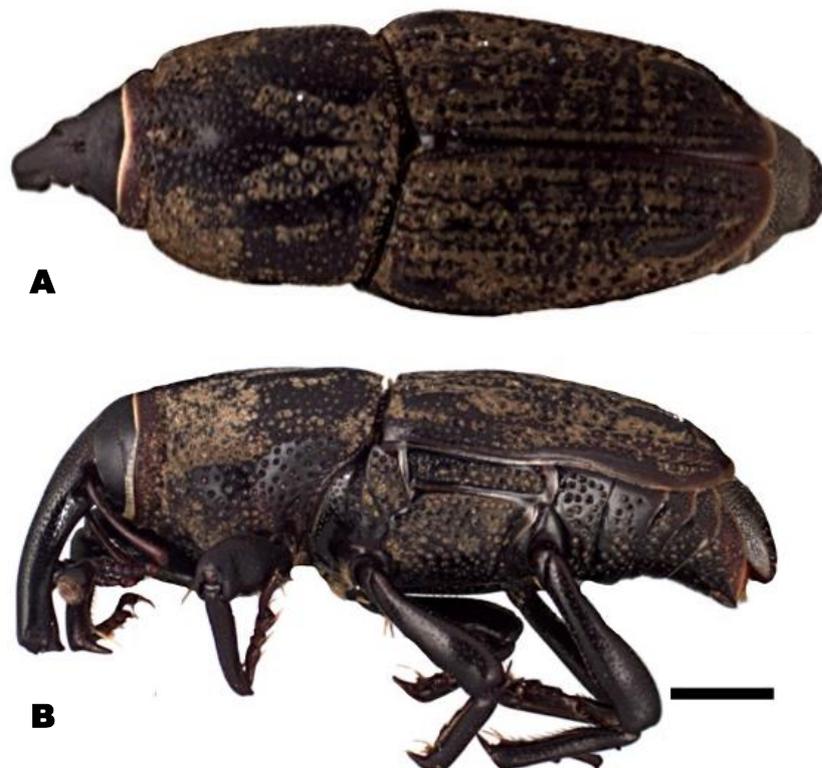


Figura 8. A) Vista dorsal y B) lateral de *S. rectus* (♂). Escala 1 mm.

5.1.3.1 Cabeza

El rostrum es largo, comprimido y curvado hacia el cuerpo, más ancho hacia el ápice. No está hinchado hacia la inserción de la antena, no presenta fovea delante del ojo. El ojo se extiende por debajo de la inserción del pico. En vista dorsal se aprecia una canaladura en la parte media basal. En ambos sexos la cabeza y el pico presentan puntuaciones (Figura 8B y 9B). El cuerpo es de coloración negra a café oscuro, incluso en algunos especímenes con tonalidades rojizas.

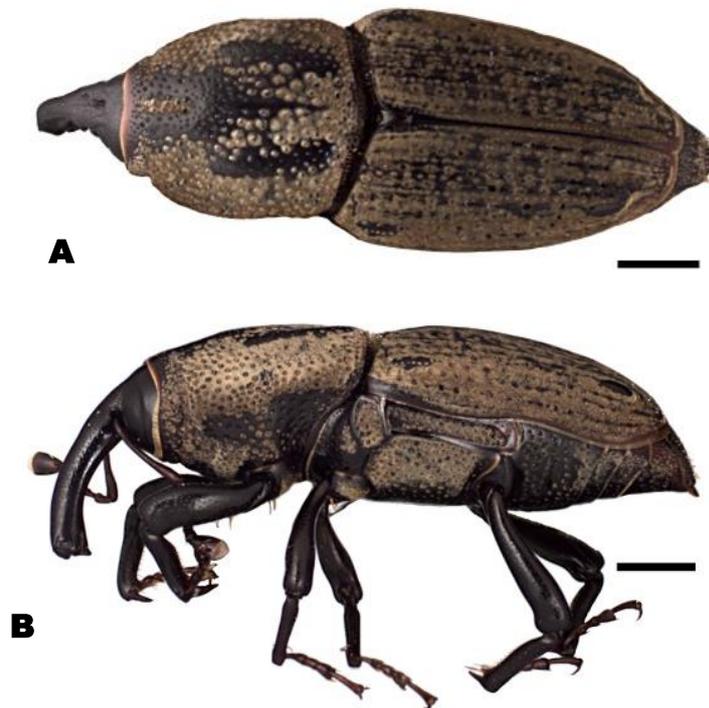


Figura 9. A) Vista dorsal y B) lateral de *S. rectus* (♀). Escala 1 mm.

5.1.3.2 Tórax

El margen apical del pronoto es sinuoso detrás del ojo. Sin lóbulo torácico, pero presenta tres líneas a lo largo del pronoto, que en el centro forman una “V” en la parte media apical (Figura 9A), la cual presenta puntuaciones del mismo tamaño en

la parte central y en los laterales. Las puntuaciones del ápice son aproximadamente del mismo tamaño. El resto del pronoto con puntuaciones densas, y algunas aparentemente fusionadas, en ambos sexos (Figura 10 A y B). La mayor parte del pronoto presenta un recubrimiento de color café a café oscuro (Figura 9 A y B). El prosterno es densamente puntuado al igual que la parte ventral del abdomen.

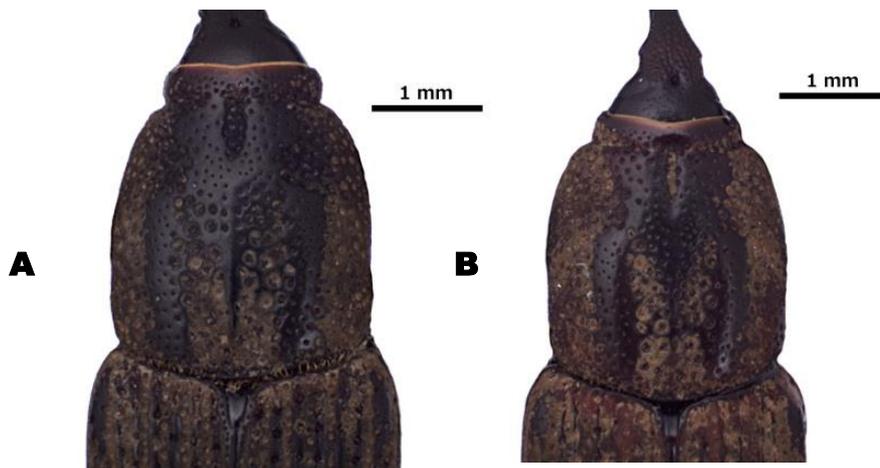


Figura 10. Pronoto de *S. rectus*. A) hembra, B) macho.

Las tibias frontales presentan un par de espinas terminales, donde la espina distal es tres veces más larga que la espina proximal. Estas espinas están separadas entre sí por una distancia menor al tamaño de la espina proximal. La canaladura en la parte interior de la tibia es ligeramente profunda y presenta una hilera de setas pequeñas en cada borde (Figura. 11).



Figura 11. Tibia anterior de *S. rectus* (♂). Escala 1mm

5.1.3.3 Élitros

Presentan un recubrimiento color café oscuro a rojizo que cubre la mayor parte de la estructura de los élitros, aun así se pueden observar las puntuaciones circulares en las estrías, donde son de mayor tamaño que en los intervalos. Las puntuaciones son aplanadas y casi del mismo tamaño que las presentes en la vittae lateral del pronoto. Las estrías abarcan casi la mitad de los intervalos, lo que los hace parecer sinuosos.

El pigidio está expuesto y presenta puntuaciones en la parte dorsal distal además de setas, en ambos sexos (Figura 12 A y B).



Figura 12. Élitros de *S. rectus*. A) hembra, B) macho. Escala 1 mm.

5.1.3.4 Genitalia

El edeago es $\frac{1}{2}$ del total del tamaño de la estructura, presenta los márgenes fuertemente esclerosados aunque son delgados, es redondeado en su base anterior, donde termina en una ligera punta; en la parte media presenta una apariencia más bien membranosa, lo anterior se observa con mayor claridad en vista ventral. Los apodemas del edeago son $\frac{2}{3}$ del tamaño de la estructura y están proyectados de forma recta, aunque en la parte proximal pueden presentar una ligera curvatura. La espícula es del mismo tamaño del edeago y está curvado hacia los apodemas y puede variar en la forma de su extremo distal, ya sea como punta roma,

semicuadrada o incluso en una bifurcación. (Figura 18 a, b y c). Las estructuras esclerosadas presentan una coloración café claro a café oscuro.

5.1.4 *Sphenophorus venatus vestitus* (Chittenden)

Especie distribuida en los Estados Unidos, además de Cuba, Puerto Rico, Bahamas y República Dominicana (Vaurie, 1951). León-García et al. (2012) lo reportan para Quintana Roo, México en césped *Paspalum vaginatum*. Los insectos examinados en este trabajo fueron colectados en césped *P. vaginatum* en Tehuacán, Puebla (18° 28' 58.83" N, 97° 24' 34.99" O); Boca del Río, Veracruz (19° 03' 56.91" N, 96° 05' 32.80" O); Acapulco, Guerrero (16° 47' 43.67" N, 99° 49' 12.69" O) y San José del Cabo, Baja California Sur (23° 02' 30.54" N, 109° 42' 54.49" O y 23° 04' 21.75" N, 109° 39' 11.15" O).

En sitios de Acapulco, Gro (16° 46' 26.41" N, 99° 47' 28.67" O y 16° 47' 43.43" N, 99° 48' 44.86" O), San José del Cabo, B.C. S. (23° 02' 50.60" N, 109° 41' 52.02" O) y San Pedro Garza García, Nuevo León (25° 38' 46.19" N, 100° 20' 46.22" O), también se colectaron insectos de esta especie en césped *Cynodon dactylon*; así mismo se colectaron ejemplares en césped *Lolium perenne* en León, Guanajuato (21° 11' 57.38" N, 101° 41' 43.46" O). Con los presentes registros se amplía de manera importante la información sobre su distribución cubriendo gran parte del territorio nacional, además se reportan nuevos hospedantes para esta especie.

5.1.4.1 Cabeza

El rostrum es largo, comprimido y curvado hacia el cuerpo, sin fovea delante de la inserción antenal, pero ligeramente hinchado ente el ojo y la inserción de la antena. En vista dorsal presenta puntuaciones en la parte media basal y una perforación, en ambos sexos (Figura 11A y B). El ojo se extiende por debajo de la inserción del rostrum.

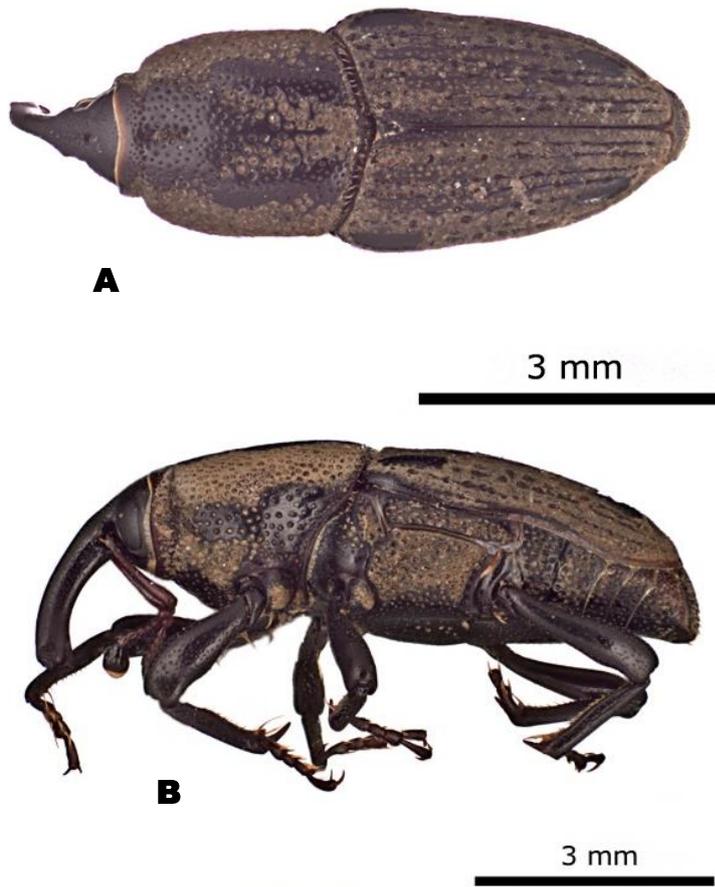


Figura 13. A) Vista dorsal y B) lateral de *S. venatus vestitus* (♂)

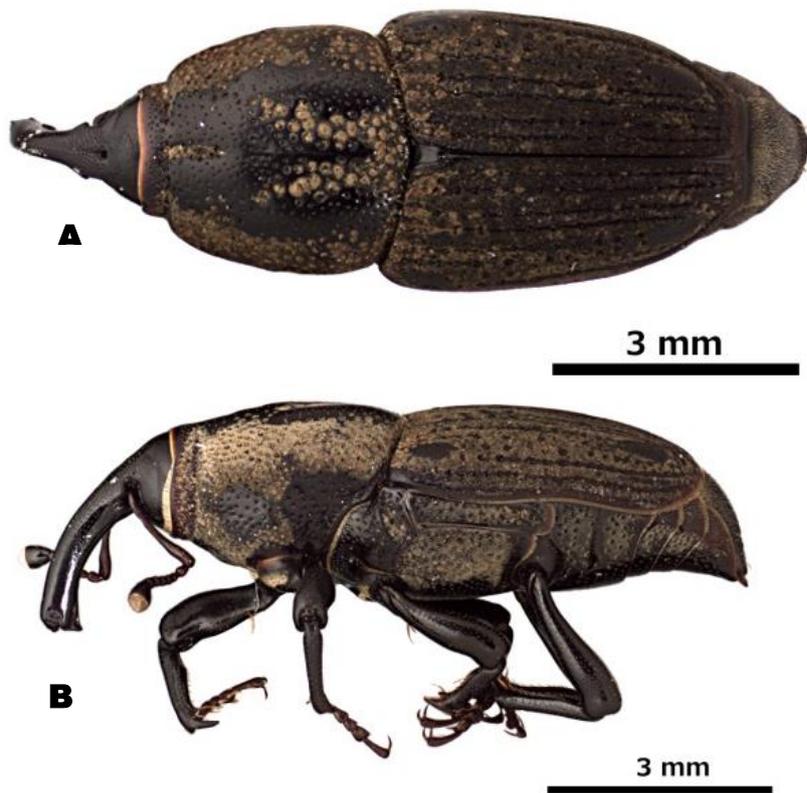


Figura 14. A) Vista dorsal y B) lateral de *S. venatus vestitus* (♀)

5.1.4.2 Tórax

El margen del pronoto es recto detrás del ojo y presenta en la parte media central una “M”, según lo descrito por Vaurie, (1951). Lo anterior además concuerda con las observaciones hechas en ejemplares de *Sphenophorus venatus* en este trabajo, donde las puntuaciones presentes en la cavidad media apical del pronoto, son de mayor tamaño dentro de la cavidad que las que están en la parte externa de dicha cavidad. En la parte media basal del tórax aparecen puntuaciones más grandes y profundas que aquellas localizadas en el resto del pronoto. El prosterno presenta una puntuación densa que se prolonga al resto del tórax y abdomen (Figura 13 y 14). Las tibias frontales presentan dos espinas en la parte terminal, siendo la espina distal larga y ancha en su base, mientras que la espina proximal es pequeña y parece estar unida a la distal. No presenta canaladura en la parte ventral, pero si una hilera de pequeñas setas (Figura 14B).

5.1.4.3 Élitros

Aunque se encontró variación en las puntuaciones de los élitros en los especímenes de esta especie, se describen las puntuaciones más grandes en las estrías que en los intervalos, son circulares a ovaladas y de seis a ocho veces más grandes que las localizadas en los intervalos. El tamaño de las puntuaciones en las estrías, al abarcar los intervalos hace que parezcan sinuosos. La superficie de los élitros comúnmente presenta un recubrimiento de color café amarillento a café oscuro.

En los machos se observan puntuaciones en la parte distal ventral y dorsal del pigidio, además de setas en dichas puntuaciones.

5.1.4.4. Genitalia

El edeago termina en forma cuadrada con bordes redondeados, no elevados, con bordes laterales esclerosados y con la parte interna menos esclerosada, no translúcida, los apodemas del edeago son aparentemente del mismo tamaño que el apodema del tegmen. La espícula es curvada hacia los apodemas y termina en una punta roma. La pieza basal es más ancha en su parte media que en su unión con el

apodema del tegmen, donde presenta un esclerosamiento bien definido a manera de collar o anillo, que rodea la base de lo apodemas de edeago (Figura 19 a, b y c).

5.1.5 *Sphenophorus incurrens* (Gyllenhal)

Vaurie (1954) reporta esta especie como endémica de México y presente en las localidades de Pátzcuaro, Michoacán y San Luis Potosí, San Luis Potosí. En el presente trabajo los ejemplares de esta especie se colectaron en césped *Pennisetum clandestinum* en Querétaro, Querétaro (20° 37' 09.03" N, 100° 20' 29.86" O). Esta especie se reporta por primera vez para el estado de Querétaro y para el hospedante donde fue colectado.

5.1.5.1 Cabeza

Los ejemplares de *Sphenophorus incurrens*, muestran un patrón de coloración con tonalidad café en los élitros mientras que la cabeza permanece de color negro, o negro con áreas de color café. Presenta ligeras puntuaciones en la parte dorsal del rostrum. (Figura 15 A y 16 A). Presenta una canaladura en la parte media de la cabeza. Hembras y machos presenta las características anteriores (Figura 16 A y B).

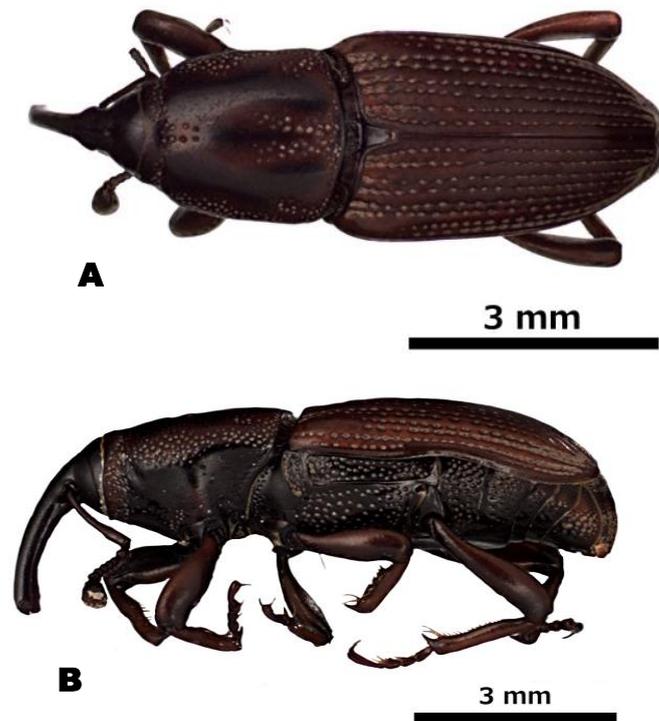


Figura 15. A) Vista dorsal y B) lateral de *S. incurrens* (♂). Escala 1mm.

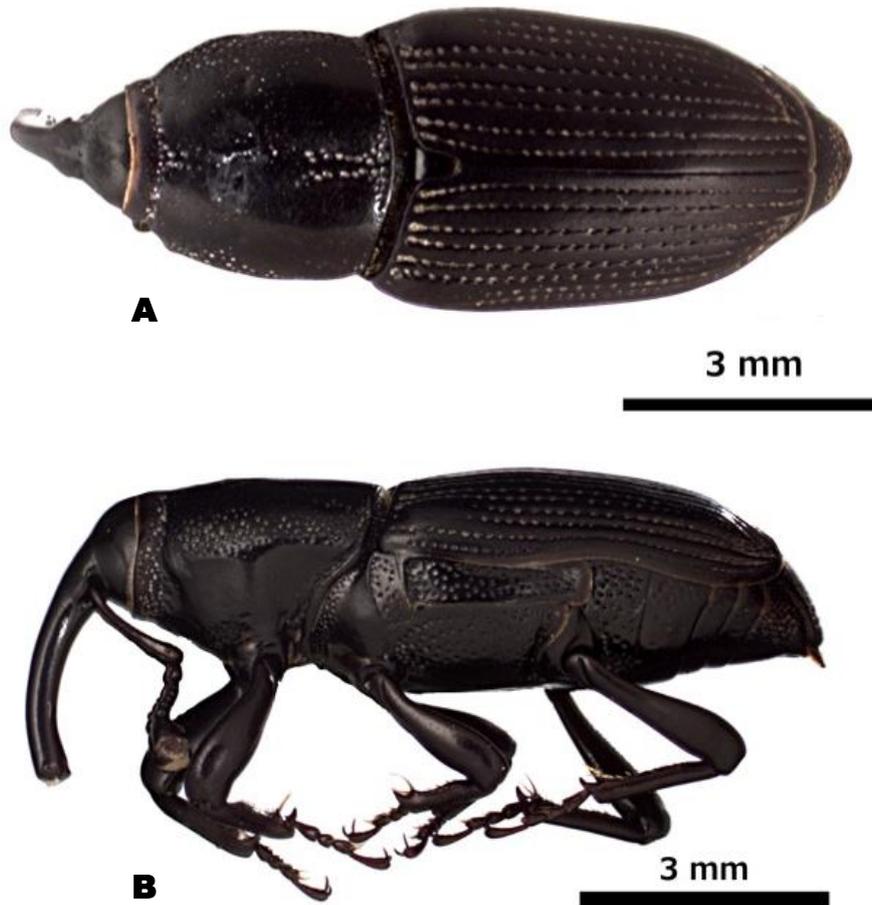


Figura 16. A) Vista dorsal y B) lateral de *S. incurrens* (♀)

5.1.5.2 Tórax

En *Sphenophorus incurrens*, esta presenta la forma de “M” aunque no presenta puntuaciones, sobre los márgenes, sino que están presentes en la cavidad que forman en la parte media basal del pronoto donde se pueden observar formando una V. Además presentar una cavidad media apical también con puntuaciones de forma circular. El resto del pronoto con puntuaciones aproximadamente del mismo tamaño que las de las estrías, excepto en la vittae lateral del pronoto donde las puntuaciones son muy finas al igual que en el prosterno y la vittae sobre las patas frontales (Fig.16 A y B). Metapisterno y metasterno con abundantes puntuaciones, del mismo tamaño que las del pronoto. Las tibias frontales presentan un par de espinas cortas y anchas en su base, en la parte distal, además presentan un mechón de setas en la base de la espina anterior.

5.1.5.3 Élitros

Presentan puntuaciones singulares a lo largo de cada estría, sin llegar a unirse entre ellas y ligeramente de tamaño menor a las presentes en el pronoto. Los intervalos son planos y presentan puntuaciones aunque muy finas y apenas visibles.

Presenta una depresión apical en la región ventral del último esternito, con puntuaciones, en ambos sexos, aunque con ligeras variaciones en la cantidad. La puntuación en las tibias de las patas es muy fina y apenas visible.

En las hembras el último esternito en la parte ventral presenta puntuaciones más abundantes y profundas que el resto de los esternitos. En los machos la cantidad de puntuaciones en los esternitos es igual (Figura 15 A y 16 A).

5.1.5.4. Genitalia

El edeago es alargado y con terminación más o menos cuadrada, con una ligera elevación de los bordes, además presenta protuberancia en la parte media, donde es de consistencia menos esclerosada, y translúcida. Los bordes laterales son fuertemente esclerosados. La pieza basal es más ancha en su parte media que el tegmen. Los apodemas del edeago son en apariencia más cortos que el apodema del tegmen y están cubiertos por la pieza basal, que es una membrana translúcida y flexible, que en su parte posterior se une al anillo del tegmen.

La espícula es curvada hacia el interior del abdomen, está unida a la pieza basal y presenta una terminación en punta ligeramente triangular, además de estar curvada en casi 90° (Figura 20 a, b y c).

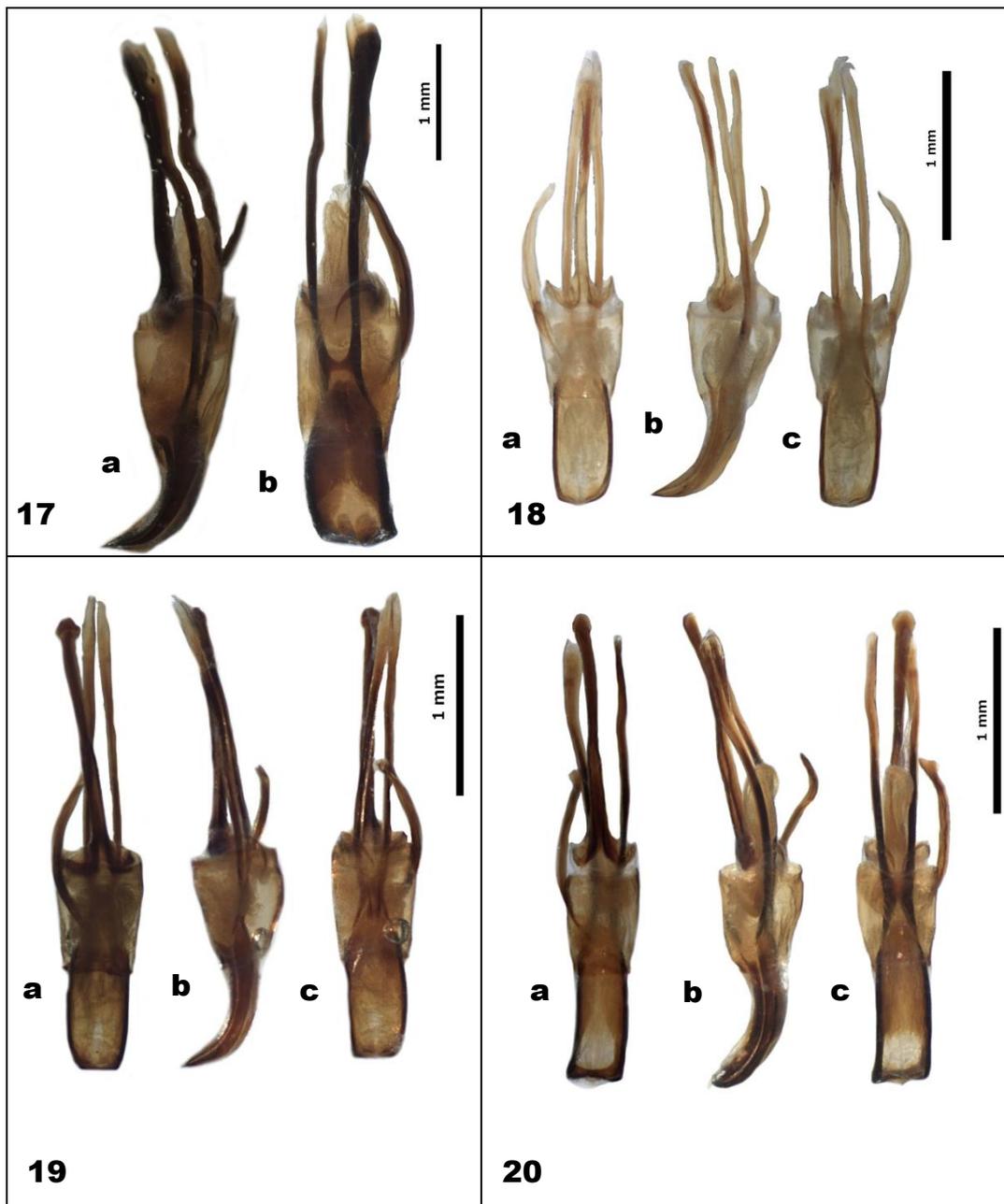


Figura 17-20. Genitalia masculina de cuatro especies de *Sphenophorus*. 17, *S. cicatristriatus*; 18, *S. rectus*; 19, *S. venatus vestitus*; 20, *S. incurrens*. Vista (a) ventral, (b) lateral y (c) dorsal

La genitalia o el órgano reproductor del macho está constituido por el edeago, un par de apodemas edeagales, una espícula y una membrana que cubre al edeago, la cual es llamada pieza basal y en el extremo distal se encuentra el anillo de tegmen, aunque este se encuentra interrumpido en su parte media dorsal donde forma dos puntas dirigidas hacia atrás. En el lado ventral el anillo se prolonga hacia adelante

formando lo que se conoce como apodema del tegmen, que inicia con dos brazos que se unen al centro del anillo del tegmen y continua hacia el interior del abdomen, como una estructura esclerosada que termina de forma aplanada y puede variar en la forma de la punta según las especies.

El edeago es aplanado ventralmente y curvado, presenta una coloración café oscuro en la mayoría de los ejemplares, es fuertemente esclerosado en los bordes de la estructura, como en el caso de *Sphenophorus cicatristriatus*, *S. venatus* y *S. incurrens*, mientras que en la parte media ventral es ligeramente esclerosado y con apariencia más bien membranosa tal como se observa en *S. rectus*. Además la anchura máxima del edeago es mayor que la anchura del extremo distal en el caso de *S. cicatristriatus*, donde también se observan dos áreas pigmentadas reniformes, que no se observan en ninguna de las demás especies (Figura 17 c). En el caso de *S. venatus* la anchura máxima del edeago es ligeramente mayor que en la parte distal, donde la terminación es completamente recta (Figura 19 a y c); mientras que en *S. rectus* la anchura del edeago es homogénea en la parte que no está cubierta por la pieza basal (Figura 18 a y c). En *S. incurrens*, el edeago es más ancho en la parte distal y presenta lóbulos formados por los extremos laterales, además de una protuberancia media dorsal (Figura 20 a y c).

La espícula en la mayoría de los especímenes es curvada hacia el cuerpo, y llega a ser 2/3 de la longitud de los apodemas del edeago. Cabe mencionar que en el presente trabajo se encontraron variaciones en esta estructura en algunos especímenes, los cuales presentan una bifurcación en la parte distal, o bien, no está curvado.

Los apodemas del edeago son de igual tamaño y hasta un tercio más pequeños que el apodema del tegmen, aunque se observaron ejemplares donde son aparentemente más largos. Estos apodemas se extienden desde la base del cuerpo del edeago y están cubiertos por la pieza basal.

La morfología externa de *Sphenophorus* puede auxiliar en la separación de especies, la forma del pigidio es más cónica en las hembras que en los machos, la puntuación de los élitros, la puntuación del pigidio, por ejemplo. La genitalia

masculina en Curculionoidea es muy variada en forma, tamaño y de estructuras adicionales (Castañeda-Vildózola *et al.*, 2007), en el presente estudio las cuatro especies de *Sphenophorus* presentaron diferencias en la longitud y el ancho del edeago, la terminación del ápice del edeago y la terminación de la espícula, lo anterior concuerda con lo mencionado por los autores Marvaldi y Lanteri (2005) que considera las partes mencionadas como las características más importantes para su uso en la diagnosis de los picudos.

Tomando en cuenta que la morfología externa de *Sphenophorus* puede auxiliar en la separación de especies, en el presente estudio *Sphenophorus venatus* ha sido reportado en los estados de Baja California Sur, Nuevo León, Puebla, Guerrero y Guanajuato, en césped de las especies *Paspalum vaginatum*, *Cynodon dactylon* y *Lolium perenne* donde las poblaciones del insecto presentan variaciones en tamaño y coloración; sin embargo, fueron consideradas como una sola especie al presentar características morfológicas similares, como: las puntuaciones en élitros, el margen del pronoto detrás del ojo, la forma y distribución de las puntuaciones en el pronoto. Además la presencia de un recubrimiento arcilloso que cubre la totalidad o parte del cuerpo de los ejemplares, a veces oscurece la puntuación, pero la ausencia de dicho recubrimiento, causada por el desgaste o fricción a la que el insecto es sometido, revela caracteres que hacen posible una descripción más precisa. Incluso aquellas especies que son más o menos brillantes y sin recubrimiento cuando está frescos, se vuelven opacos con el tiempo y el recubrimiento se almacena en las puntuaciones y canaladuras del cuerpo, lo cual le da a los ejemplares un aspecto diferente al observado en un principio. Las variaciones individuales también se tomaron en cuenta para agrupar poblaciones en una misma especie en este trabajo, haciendo alusión a lo mencionado por Vaurie (1951 y 1954) con respecto a las variaciones morfológicas dentro del género.

5.2 Análisis molecular

Para amplificar la región del Citocromo oxidasa 1 (COI), se utilizaron los primers universales HCO2198 y LCO1490, los cuales amplifican una región de hasta 720 pb (pares de bases) de la subunidad 1 en la mitocondria, en una amplia gama de

invertebrados, y parece ser uno de los genes codificantes de aminoácidos más conservados (Folmer et al. 1994), lo cual permite su rastreo con cierta facilidad.

Una vez obtenidas las secuencias del ADN extraído de los especímenes de *Sphenophorus*, se procedió a limpiar dicha secuencia, usando el programa de software libre MEGA6. El cual permite separar las muestras analizadas en el presente trabajo (C-010_HCO y C-020_HCO), excluyéndolas del grupo del género, como se observa en el árbol filogenético (Figura 21). Lo anterior indica que las muestras no están emparentadas en el género *Sphenophorus*, sin embargo las acerca en más del 90% a una especie de la familia Carabidae.

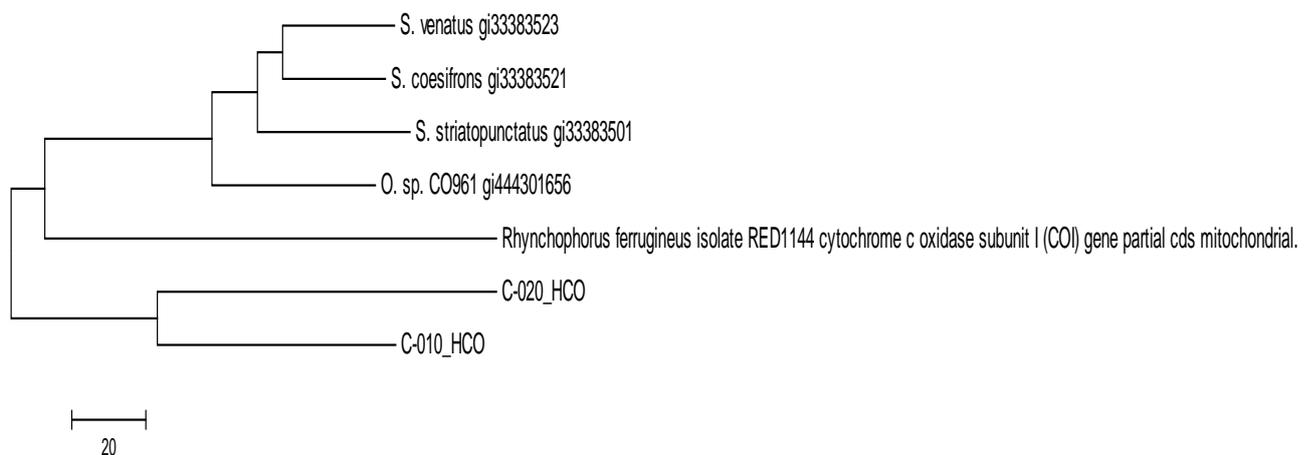


Figura 21. Árbol filogenético de las secuencias de ADN del presente trabajo.

Aunque la región que codifica el COI gen es muy conservada, puede ser que existan diferencias significativas entre los individuos de las poblaciones estudiadas (*S. venatus vestitus* (C-010_HCO) y *S. arizonensis* (C-020_HCO)); por lo que al leer la secuencia se aprecian diferencias entre los nucleótidos y se obtiene como resultado la coincidencia con otra especie del orden Coleoptera. Hasta el momento se pueda afirmar una identificación a nivel molecular; sin embargo, se establece una alternativa al uso solamente del COI, con ensayos usando citocromo B, buscando tener al alcance herramientas que permitan la identificación molecular de las especies mexicanas del género *Sphenophorus*.

5.3 Distribución geográfica de las especies

Una vez obtenidas las imágenes satelitales LandStat 5 y 7 y la imagen espectral del césped *Paspalum vaginatum* y los demás céspedes se construyó una base de datos, para almacenar la información de cada campo, esto permitió construir un mapa de distribución de los campos de golf en México (Figura 22 y 23).

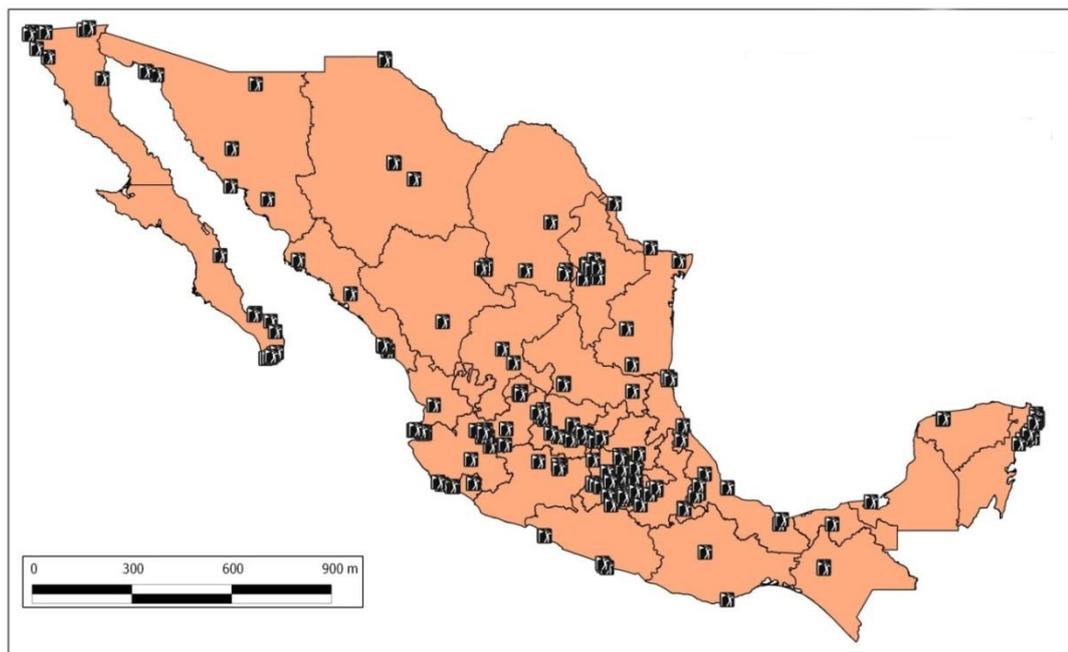


Figura 22. Ubicación geográfica de los campos de golf en México.

Dentro de este mapa se ha destacado cada campo mediante un polígono lo cual permite ubicarlo de manera precisa en el mapa al buscarlos por su nombre en la base de datos (Figura 21).

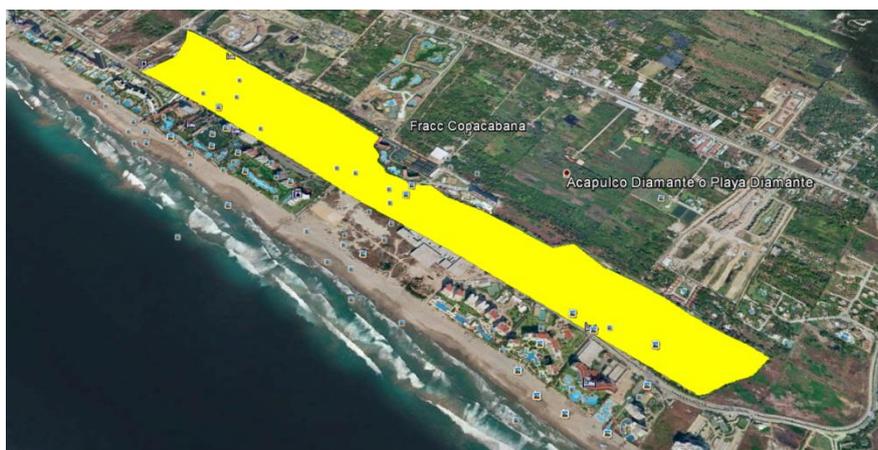


Figura 23. Polígono de Campo de golf Mayan Palace, Acapulco, Guerrero.

Además tomando en cuenta la imagen espectral del césped *Paspalum vaginatum*, se puede observar los campos sembrados con este césped, y dada la incidencia de *Sphenophorus* se puede inferir su presencia en nuevos sitios. (Figura 24).



Figura 24. Campos de golf en Los Cabos, Baja California Sur, ubicados mediante el programa QGIS.

La razón fundamental para utilizar un SIG es la gestión de información espacial. El sistema permite separar la información en diferentes capas temáticas y las almacena independientemente, permitiendo trabajar con ellas de manera rápida y sencilla, y facilitando la posibilidad de relacionar la información existente a través de la topología de los objetos, para generar nueva información.

Mediante el reconocimiento de la cubierta vegetal se pudieron reconocer las unidades o campos de golf, para ello se utilizó el programa gratuito Google Earth, programa que muestra un globo virtual permitiendo visualizar múltiple cartografía, con base en fotografías satelitales. El mapa de Google Earth está compuesto por una superposición de imágenes obtenidas por imagen satelital, fotografía aérea, información geográfica proveniente de modelos de datos SIG de todo el mundo y modelos creados por ordenador. Este programa es capaz de mostrar diferentes capas de imagen encima de la base y además soporta datos geoespaciales tridimensionales mediante los archivos Keyhole Markup Language o kml., en el cual

se ubicaron geográficamente todos los campos de golf, identificándolos con un polígono.

El género *Sphenophorus* está ampliamente distribuido en los Estados Unidos donde existen alrededor de 60 especies, de las cuales aproximadamente nueve han sido reportadas como plaga de césped (Johnson- Cicalese et al. 1990; Buss & Huang, 2009). En México, Vaurie (1951) reporta 14 especies del género, aunque no cita sus hospederos en la mayoría de los casos.

6. CONCLUSIONES

Las especies de *Sphenophorus* en los campos de golf de México son *Sphenophorus arizonensis* (Horn), *S. cicatristriatus* (Fahraeus), *S. rectus* (Say), *S. venatus vestitus* (Chittenden) y *S. incurrens* (Gyllenhal).

En México, solo se había reportado a *Sphenophorus venatus vestitus* como única especie plaga de césped de campos de golf, en el presente trabajo se reporta a *S. venatus* en *Lolium perenne* y *Cynodon dactylon* en este último se reporta también a *Sphenophorus cicatristriatus*.

Se reporta a *Sphenophorus incurrens* como plaga en *Pennisetum clandestinum*.

Se sugiere la realización de muestreos en más campos de golf, con lo cual se espera un alcance más preciso sobre la diversidad y distribución de especies de este género.

Existen diferencias significativas en el largo del edeago de las especies de *Sphenophorus*, la terminación del edeago y la espícula, que permiten suponer diferencias entre las especies de *Sphenophorus*, analizadas en el presente trabajo.

El edeago es más ancho en la parte media que en la parte distal en *Sphenophorus venatus*, mientras que en *S. rectus* mantiene el mismo ancho en la estructura.

La espícula presenta variaciones en su extremo anterior que son más frecuentes entre las poblaciones de *S. venatus*.

El edeago de *Sphenophorus cicatristriatus* presenta dos áreas pigmentadas en la región ventral distal de edeago, que no presentan las otras especies estudiadas en el presente trabajo.

En base a los resultados del análisis molecular se sugiere la realización de pruebas con otros genes, por ejemplo citocromo b, para obtener regiones más

grandes de la secuencia de ADN, lo cual se espera, permita llegar a la obtención de la secuencia genómica de las especies mexicanas.

El uso de imágenes satelitales resultó una herramienta innovadora en el estudio de distribución de las especies de *Sphenophorus*.

7. LITERATURA CITADA

- Alonso-Zarazaga, M. A. y C. H. C. Lyal. 1999. A Word catalogue of families and genera of Curculionoidea (Insecta: Coleoptera), (Excepting Scolytidae y Platypodidae). Entomopraxis Barcelona 315 p.
- Alston D. and K. Kopp. 2010. Turfgrass cultural practices and insect pest management. Utah State University Extension. USA. 4 p.
- Austin, A. 1999. A chemical-free convert. Christian Science Monitor 91, 13.
- Beard J. B. and R. L. Green. 1994. The role of turfgrasses in environmental protection and their benefits to humans. Journal of Environmental Quality 23(3): 452-460.
- Boehm M. J., J. W. Rimelspach and T. E. Hicks. Management of turfgrass diseases. Management of Turfgrass Pests, Weeds, Diseases, and Insects Bulletin L-187. Disponible en: <http://www.frac.info/frac/menu.htm>
- Buss E. A. and T. Huang. 2009. Seasonality, development and cultural control of the hunting billbug. The Environmental Institute for Golf. USA. 5 p.
- Casler M. D. and R. R. Duncan. 2003. Turfgrass biology, genetics, and breeding. USA. 373 p.
- Castañeda- Vildózola A., J. Valdez-Carrasco. A. Equihua-Martínez, H. González-Hernández, J. Romero-Nápoles, J. F. Solís-Aguilar y S. Ramírez-Alarcón. 2007. Genitalia de tres especies de *Heilipus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) que dañan frutos de aguacate (*Persea americana* Mill) en México y Costa Rica. Neotropical Entomology 36(6):914-918
- Champion G. C. 1910. Insecta. Coleoptera. Rhynchophora, Curculionidae, curculioninae (concluded) and Calandrinae. Biologia Centralli-Americana. Vol. IV, Parte 7. pp 152-167.

- Cox C. 2006. Pesticide-free solutions for billbug problems. *Journal of pesticide reform*. 25:1. pp 6-7.
- Cranshaw W. S. and R. Zimmerman. 1998. Billbugs and white grubs. Colorado State University. USA. (5516):4
- Doskocil, J. P. and R. L. Brandenburg. 2008. Secrets to Controlling Hunting Billbug Reside in Warm-Season Turfgrasses. *TurfGrass Trends*. pp. 49-52
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 294-299.
- Fresenburg B., B. Barrett and F. Fishel. 2003. Integrated pest management. Turfgrass and insects. University of Missouri-Columbia. 20 p.
- Gilkeson, L. A. Integrated Pest Management in Turfgrass. *Spots Turf Manager*.
Bruneau A. H. and Wilkerson G.G. 1993. Turfgrass Pest Management Manual a Guide to Major Turfgrass Pest & Turfgrasses. College of Agriculture & Life Science. North Carolina State University. pp. 7-11
- Grewal, P.S. 1999. Factors in the Success and failure of microbial control in turfgrass. *Integrated Pest Management Reviews*, 4, 287-294.
- Hodgson E. W. 2007. Billbugs. Utah State University Extension. 3 p.
- Huang T. 2008. Billbug (*Sphenophorus* spp.) composition, abundance, seasonal activity, development time, cultivar preference, and response to endophytic ryegrass in Florida. University of Florida. USA. 71 p.
- Johnson-Cicalese, J.M., G.W. Wolfe, and C.R. Funk. 1990. Biology, distribution, and taxonomy of billbug turf pests (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.* 19:1037-1046.

- Jones R. W. y J. Luna C. 2007. Lista de las especies de Curculionidos (Insecta: Coleoptera) del estado de Querétaro, México. *Acta Zoológica Mexicana* (nueva serie), Instituto de Ecología, México. 23(3): 59-77
- Kuhn W., R. Youngman, C. Laub, K. Love and T. Mize. 2010. Hunting billbug pest management in Orchardgrass. Virginia Polytechnic Institute and State University. USA. 4 p.
- Laub C., R. R. Youngman, K. Love and T. Mize. 2009. Using pitfall traps to monitor insect activity. Virginia Polytechnic Institute and State University. USA. 4 p.
- León-García I. E. Rodríguez-Leyva, A. Equihua-Martínez. J. M. Valdez y R. W. Jones. 2012. First record of the billbug, *Sphenophorus venatus* (Say) (Coleoptera: Curculionidae: Dryophthorinae), on Turfgrass in Quintana Roo, México. *The Coleopterist Bulletin*, 66(1): 34-36.
- Marvaldi A. E. y A. A. Lanteri. 2005. Key to higher taxa of South American weevils based on adult characters (Coleoptera: Curculionoidea). *Revista Chilena de Historia Natural*. (78): 65-87
- Morrone J. J. 2000. Mexican weevils (Coleoptera: Curculionoidea): a preliminary key to families and subfamilies. *Acta Zoológica Mexicana*. Xalapa, México. (80):131-141
- O'Brien, C. W. and G. J. Wibmer. 1986. Annotated Checklist of the Weevils (Curculionidae sensu lato) of North America, Central America and the West Indies (Coleoptera, Curculionidae). *Memoria American Entomologist Institute* 34: i-ix, 382 p.
- Pérez de la O. N. B., V. López M., D. Jimenez G. and R. W. Jones. 2014. Determination of spatial distribución of *Sphenophorus incurrens* (Coleoptera:Curculionidae) using GIS in Morelos, México. *Florida Entomologist*, 97(1):285-287

Puerta B. C. J. y C. P. Urueña. 2005. Prácticas de biología molecular. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Raymer P. L., S. k. Braman, L. L. Burpee, R. N. Carrow, Z. Chen and T. R. Murphy. 2008. Seashore Paspalum: Beeding a turfgrass for the future. University of Georgia. USA. pp. 23-26 Disponible en: http://www.usga.org/turf/green_section_record/2008/jan_feb/breeding_future_turfgrass.pdf

Reinert J. A., M. C. Engelke and J. J. Heitholt. 2011. Hunting billbug (Coleoptera: Curculionidae) resistance among Zoysiagrass (Zoysia spp.) cultivars. Florida Entomological Society. 94(3): 613-621.

Salas-Araiza, M. D., C. W. O'Brien and J. Romero-Napoles. 2001. Curculionidae (Insecta: Coleoptera) from the state of Guanajuato, México. Insecta Mundi 15: 45-57.

Secretaría de Marina (SEMAR). 2012. Percepción remota. Disponible en: <http://www.semar.gob.mx/s/informacion-sector/ciencia/ermexs/percepcion-remota.html> Consulta 20-Oct.-2013

Segura-León O., M. Hernández A., J. Cibrián-Tovar and J. Romero N. 2013. Damage diagnostic of Sphenophorus incurrens Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae: Dryophthorinae), in sugar cane in México. Entomological Society of America. Disponible en: <http://esa.confex.com/esa/2013/webprogram/Paper78707.html>

Shetlar D. J. 1991. Billbugs in turfgrass. Ohio State University Extension. 6 p.

Shetlar D. J. 2003. Identifying billbugs means better control opportunities. Turfgrass trends. pp 41-44

- Toth S. J. 2004. Crop profile for turfgrass in North Carolina. North Carolina State University. USA. 57 p.
- Umble J., G. Fisher and S. Rao. 2005. Sampling methods and seasonal phenology of *Sphenophorus venatus confluens* Chittenden (Coleoptera: Curculionidae) in Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L). Oregon State University. Oregon, USA. pp. 79-85.
- Vaurie P. 1951. Revision of the genus *Calendra* (formerly *Sphenophorus*) in the United States and Mexico (Coleoptera, Curculionidae). American Museum of Natural History. 98:2. New York, United States of America. Pag. 35-186
- Vaurie, P. 1954. New Species of *Calendra* from Mexico, with Notes on Others (Coleoptera, Curculionidae). American Museum Novitates 1681: 1-8.
- Vaurie, P. 1978. Revision of the Genus *Sphenophorus* in South America (Coleoptera, Curculionidae, Rhynchophorinae). American Museum of Natural History. (2656): 4.
- Woodruff R. E. 1966. The hunting billbug, *Sphenophorus venatus vestitus* Chittenden in Florida (Coleoptera: Curculionidae). Florida Department of Agricultura. 45 (71): 2
- Zhiquiang, C. B. S. 2007. Ecology of urban lawns: the impact of establishment and management on plant species composition, soil food webs, and ecosystem functioning. Ohio State University. USA. 151 p.