

Manual para la cría masiva
de *Neochetina* spp
utilizado en el control biológico
de lirio acuático



Maricela Martínez Jiménez

**Manual para la cría masiva
de *Neochetina* spp utilizado
en el control biológico
de lirio acuático**

Maricela Martínez Jiménez

**Manual para la cría masiva
de *Neochetina* spp utilizado
en el control biológico
de lirio acuático**

IMTA

Coordinación de Tratamiento y Calidad del Agua

México, 2005

571.7
M33

Martínez Jiménez, Maricela
Manual para la cría masiva de Neochetina spp utilizado en el control biológico de lirio acuático / Maricela Martínez Jiménez.- México: IMTA, 2005.
45 pp. 22.5 x 15.5 cm
Incluye bibliografía
ISBN 968-5536-45-7
1. Malezas acuáticas 2. Contaminación del agua 3. Control biológico

Coordinación editorial:
Coordinación de Comunicación,
Participación e Información,
Subcoordinación de Editorial y Gráfica.

Cuidado de edición:
Antonio Requejo del Blanco.

Diagramación:
Luisa Guadalupe Ramírez Martínez.

Diseño de portada:
Óscar Alonso Barrón.

Ilustraciones y fotografías:
Maricela Martínez Jiménez.

Primera edición: 2005.

El presente manual se realizó gracias al apoyo
del Proyecto Sagarpa-Conacyt 0278

D.R. © Instituto Mexicano de Tecnología del Agua
Paseo Cuauhnáhuac 8532,
Progreso, Jiutepec, Morelos
CP 62550

ISBN 968-5536-45-7

Todos los derechos reservados. Ni la totalidad ni parte de la presente publicación puede ser reproducida, almacenada en sistemas de recuperación de información o transmitida bajo cualquier forma o por ningún medio, sea electrónico, mecánico, de fotocopiado o grabación, sin la previa autorización, por escrito, del editor.

Impreso en México - *Printed in Mexico*

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	9
1 ANTECEDENTES	11
1.1 Definición de control biológico	11
1.1.1 Control biológico clásico	11
1.1.2 Control biológico por aumento de enemigos naturales	12
1.1.3 Control biológico por conservación de enemigos naturales	12
1.2 Control biológico de lirio acuático	12
1.3 Ciclo biológico y características del género <i>Neochetina</i>	13
1.3.1 Características del huevo	13
1.3.2 Oviposición	13
1.3.3 Características de la larva	14
1.3.4 Características de la pupa	14
1.3.5 Características del adulto	14
1.4 Especificidad del género <i>Neochetina</i>	17
1.5 Principales patógenos del género <i>Neochetina</i>	18
1.6 Cuarentena de insectos para el control biológico de malezas acuáticas	19
1.6.1 Laboratorio de cuarentena	19
1.7 Cría masiva de insectos	20
2 METODOLOGÍA	21
2.1 Cría masiva de <i>Neochetina</i>	21
2.1.1 Cultivo de lirio en estanque o tinas de plástico	21
2.1.2 Cría de <i>Neochetina</i> sobre lirio acuático	21
2.1.3 Revisión sanitaria de las colonias producidas	22
2.1.3.1 Técnica para la detección de hongos entomopatógenos	22
2.1.3.2 Técnica para la detección de bacterias entomopatógenas	22
2.1.3.3 Obtención de cepas puras de bacterias entomopatógenas	23
2.1.3.4 Identificación de bacterias entomopatógenas	23
2.1.3.5 Técnica para la detección de microsporidios	25
2.1.3.6 Técnica para la detección de nemátodos entomopatógenos	25

2.2 Liberación de <i>Neochetina</i>	25
2.2.1 Precauciones en la liberación de <i>Neochetina</i>	25
2.3 Monitoreo	26
2.3.1 Evaluación de la cobertura	26
2.3.2 Determinación de la biomasa	27
2.3.3 Determinación de la densidad de la maleza	27
2.3.4 Determinación del número de adultos	27
2.3.5. Determinación del estado sanitario	27
LITERATURA CITADA	29
ANEXO FOTOGRÁFICO	35
ANEXO 1	
Formato para el control de cría de <i>Neochetina spp</i>	43

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Huevos de <i>Neochetina</i> en el tejido esponjoso del tallo de lirio.	37
2. Larvas de <i>Neochetina</i> alimentándose de tallos de lirio.	37
3. Pupas de <i>Neochetina</i> .	38
4. Marcas de alimentación de <i>Neochetina</i> en hojas de lirio acuático.	38
5. Adulto de <i>Neochetina bruchi</i> .	39
6. Adulto de <i>Neochetina eichhorniae</i> .	39
7. <i>Neochetina bruchi</i> infectado con <i>Beauveria bassiana</i> .	40

INTRODUCCIÓN

El lugar de origen del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) probablemente es Brasil, con una extensión natural hacia otras áreas de Sudamérica. Por la belleza de su flor, el lirio acuático ha sido introducido a lo largo de la zona tropical del mundo (Sculthorpe, 1967; Holm *et al.*, 1977; Barret y Forno, 1982).

Diversos estudios se han realizado para conocer la magnitud de los problemas causados por el lirio acuático. Hamdoun y Tigani (1977) estimaron que 7 billones de m³/año del cauce del río Nilo se pierden debido a la evapotranspiración de esta planta. En Nigeria y Benin, la pesca se ha visto afectada en un 50% debido a la severa infestación de los cuerpos de agua por esta planta (Harley, 1990).

En México, se ha estimado que la superficie infestada por las malezas acuáticas es de 62,000 ha, lo que representa el 24% de la superficie inundada (Gutiérrez *et al.*, 1994). En este grupo de sistemas acuáticos se incluyen los lagos y presas con mayor actividad económica y social del país, siendo el lirio acuático la principal maleza, que afecta el 64% de la superficie infestada, seguido por la cola de caballo (*Potamogeton* sp.) con un 30%, el tule (*Typha* sp.) y la hidrila (*Hydrilla verticillata*) con un 4%, la lechuga de agua (*Pistia stratiotes*) y el chichicaztle (*Lemna* sp.) con un 2% (Gutiérrez *et al.*, 1994).

La proliferación del lirio en los cuerpos de agua provoca graves problemas de índole económica, ecológica y de salud. Dentro de los problemas económicos se pueden citar las pérdidas de agua por evapotranspiración, el azolvamiento prematuro de los embalses y la limitación de la actividad pesquera y recreativa (Gopal, 1987). Dentro de los problemas de salud, el lirio constituye el hábitat propicio para el desarrollo de mosquitos vectores de enfermedades como la malaria, filariasis, dengue, paludismo y fiebre amarilla entre otras (Hernández y Pérez, 1995). Como problema ecológico, la acumulación de grandes cantidades de lirio provoca el estancamiento del agua, disminuyendo el oxígeno disuelto, causando así

la muerte de especies acuáticas (Gopal, 1987).

La gran dispersión del lirio acuático puede deberse a varias causas, entre ellas:

- al ser una planta introducida, ésta creció sin ningún equilibrio natural, que normalmente es conferido por sus depredadores;
- a la falta de especies competidoras; y
- al gran aporte de nutrientes (eutroficación) que presentan la mayoría de los cuerpos de agua en donde el lirio es un problema.

Estudios realizados con relación a los requerimientos de nutrientes que necesita el lirio para su desarrollo, muestran que el fósforo es el elemento más asociado a su proliferación. En México, se ha estimado que 231,000 t/año de fósforo provenientes de la actividad agrícola, industrial y doméstica del país contaminan lagos y presas (Limón, 1989).

La experiencia nacional (Gutiérrez *et al.*, 1994) e internacional (Harley, 1990) ha demostrado que por su capacidad reproductiva, facilidad de dispersión, requerimiento de nutrientes y resistencia a condiciones ambientales adversas, el lirio acuático no puede erradicarse, si no sólo controlarse.

Diversas técnicas han sido empleadas para controlar esta maleza. Por sus efectos inmediatos, el uso de herbicidas es una de las técnicas más utilizadas en el mundo. Sin embargo, su uso es de alto costo y puede conllevar efectos tóxicos, si no es aplicado en forma adecuada. En severas infestaciones de lirio, es necesario aplicar técnicas de alta cobertura (como herbicidas y control mecánico) para que, una vez reducida la infestación, se empleen técnicas que puedan mantenerla a niveles manejables. En este sentido, el uso del control biológico es una alternativa importante en el mantenimiento sustentable de un cuerpo de agua.

En el presente manual se describen las bases para el control biológico del lirio acuático, así como una metodología para la cría masiva de dos especies de gorgojos: *Neochetina eichhorniae* y *Neochetina bruchi*, utilizados en el control biológico de esta maleza.

1 ANTECEDENTES

1.1 Definición de control biológico

El control biológico se basa en la utilización de enemigos naturales de la maleza que ayuden a desfavorecer el desarrollo de ésta (Deloach *et al.*, 1989). Existen tres estrategias básicas para instrumentar programas de control biológico aplicables tanto a malezas como a plagas y enfermedades de cultivos. Las estrategias son:

1.1.1 Control biológico clásico

Este tipo de control implica la introducción de enemigos naturales del lugar de origen de la plaga (insecto o planta). El razonamiento de esta estrategia se basa en que la plaga o maleza no causa ningún daño en su centro de origen, debido a que ahí existe todo un complejo de enemigos naturales que regulan su población, manteniéndola en niveles que no ocasionan daño económico. La transformación en plaga (insecto o planta), se debe a un fenómeno de dispersión accidental (por movilización de material vegetativo realizado por el hombre, en la mayoría de los casos) donde no le acompañan sus factores regulativos (enemigos naturales), alterándose el equilibrio poblacional.

Esta estrategia consiste en hacer una exploración de enemigos naturales en el lugar de origen de la plaga (insecto o planta); después de efectuada la exploración y recolecta, los enemigos naturales se someten a un proceso de cuarentena (por lo menos dos generaciones), que implica la cría y mantenimiento de la población. Con esto se eliminarán los organismos indeseables tales como hiperparásitos o patógenos.

Después de la cuarentena, se procede a liberar los organismos benéficos en el lugar del problema, se determina si hubo establecimiento y se evalúa el impacto ecológico de la especie liberada (Arredondo, 1993). Esta estrategia ha sido aplicada en varios países, donde se han obtenido buenos resultados, siempre y cuando sea utilizado un programa de control integral de la maleza. Por ejemplo, en Australia se ha usado para combatir

Pistia stratiotes (lechuga de agua), con el coleóptero *Neohydronomus affinis*, importado de Brasil en 1982 (Cilliers, 1991a).

1.1.2 Control biológico por aumento de enemigos naturales

Consiste en aumentar la densidad y, por lo tanto, la eficacia de los enemigos naturales existentes (sean autóctonos o los importados ya establecidos), para superar sus deficiencias inherentes y mejorar así su impacto regulatorio. Esto se logra por medio de colonizaciones periódicas o a través de selecciones genéticas de los agentes bióticos para mejorar su adaptabilidad. Como ejemplo, se puede citar el uso del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* para controlar *Aeschynomene virginica* (maleza nativa de los Estados Unidos), perjudicial en cultivos de arroz y soya (Deloach *et al.*, 1989).

1.1.3 Control biológico por conservación de enemigos naturales

El control biológico por conservación de enemigos naturales consiste en el establecimiento de prácticas culturales u otro tipo de modificación al ambiente, de tal forma que directa o indirectamente ayude a preservar y aumentar la eficiencia de un enemigo natural. La flor zempoaltxóchitl (*Tagetes erecta*) es tradicionalmente utilizada para proteger las plantaciones contra el ataque de insectos y nemátodos. Así, se ha encontrado que al rotar e incorporar residuos de zempoaltxóchitl o al asociarlo con chile o jitomate, se tiene una reducción significativa en el agallamiento radical ocasionado por los nemátodos *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita*, en las hortalizas mencionadas (Gómez *et al.*, 1992). Este efecto se debe al pigmento amarillo de la flor (alpha-tertienilo), una fototoxina capaz de provocar la muerte de la plaga en cuestión (Fèry-Forgues, 1996).

1.2 Control biológico del lirio acuático

Las investigaciones para el control biológico del lirio acuático iniciaron en la década de los años sesenta y la estrategia de control a seguir fue la del control biológico clásico. Después de identificar en Argentina a los enemigos naturales del lirio, se sometieron a un proceso de cuarentena y, diez años después, se introdujeron por primera vez en Estados Unidos donde, desde el año de 1974 han sido utilizados como biocontroladores de la maleza (Cofrancesco *et al.*, 1985).

Algunos agentes de control utilizados para el control biológico del lirio acuático son: *Ctenopharyngodon idella* (carpa herbívora), *Trichethus manatus* (manatí), *Kachugatectum tentoria* (tortuga) y *Marisa cornuarietes* (caracol).

Con respecto a la utilización de artrópodos para el control biológico de esta maleza, se han investigado el ácaro *Orthogalumna terebrantis* (Bennet, 1981); los coleópteros *Dyscinetus morator* (Buckingham y Bennet, 1989) y *Neochetina eichhorniae* y *Neochetina bruchi* (Deloach, 1976a; Center *et al.*, 1982); los lepidópteros *Acigona infusella* (Deloach *et al.*, 1980) y *Sameodes albiguttalis* (Deloach y Cordo, 1978) y el orthóptero *Cornops aquaticum* (Silveira y Perkins, 1975). Los insectos con los que se han obtenido los mejores resultados de control han sido *Neochetina eichhorniae* y *Neochetina bruchi* (Deloach y Cordo, 1983).

Con respecto a patógenos biocontroladores del lirio se conocen hasta el momento siete especies de hongos factibles de ser utilizados, entre los cuales se encuentran: *Acremonium zonatum*, *Alternaria eichhorniae*, *Bipolaris stenospila*, *Cercospora piaropi*, *Cercospora rodmanni*, *Myrothecium roridum* y *Rhizoctonia solani* (Gopal, 1987). A la fecha, una o más especies de insectos y/o patógenos han sido utilizadas en 21 países (Harley, 1990).

1.3 Ciclo biológico y características del género *Neochetina*

Los coleópteros del género *Neochetina* son holometábolos y sus fases de desarrollo son: huevo, larva (tres estadíos), pupa y adulto.

1.3.1 Características del huevo

Los huevos de *Neochetina bruchi* son blanquecinos, de aproximadamente 0.82 mm de largo en promedio, ovoides y presentan un corion rígido (ver figura 1 en anexo fotográfico). Los huevos de *Neochetina eichhorniae* miden aproximadamente 0.88 mm de largo y el corion es blando. La temperatura óptima para el desarrollo de los huevos de *Neochetina bruchi* es de 11-15°C, mientras que para *Neochetina eichhorniae* es de 20-25°C. Las hembras de ambas especies pasan por un periodo preoviposicional (tres a cinco días), durante el cual alcanzan la madurez sexual (Center, 1992).

1.3.2 Oviposición

Con la ayuda de las mandíbulas y moviendo el rostro de lado a lado, la hembra perfora los pecíolos del lirio. Cuando el rostro ha penetrado cerca de los ojos, lo aparta y oviposita en el hoyo prensando varias veces alrededor de la abertura con la punta del abdomen (Deloach y Cordo, 1976b). *Neochetina bruchi* oviposita dentro de la segunda o tercera capa del aerénquima en pecíolos bulbosos, hojas viejas o pequeñas manchas necróticas, colocando de uno a 16 huevos por sitio de oviposición (Deloach y Cordo, 1976b). *Neochetina eichhorniae*

coloca sus huevos justo debajo de la epidermis de las hojas centrales jóvenes, bases de pecíolos tiernos, o bien, dentro de las marcas de alimentación; usualmente coloca sólo un huevo en cada sitio de oviposición (Deloach y Cordo, 1976b). Deloach y Cordo (1976a) observaron que el máximo de oviposición para *Neochetina bruchi* es de 8.5 huevos/hembra/día, y el de *Neochetina eichhorniae* de 7.3 huevos/hembra/día, siendo el porcentaje máximo de oviposición de ambas especies en octubre y noviembre.

1.3.3 Características de la larva

Después de siete a diez días de incubación, del huevo emerge una larva blanca y ápoda, la cual se alimenta del tejido esponjoso del pecíolo, favoreciendo con ello la actividad fúngica y bacteriana (Deloach y Cordo, 1976b). Las larvas de ambas especies de *Neochetina* pasan por tres instares (ver figura 2 en anexo fotográfico). Las larvas de *Neochetina bruchi* se desarrollan más rápido (30-34 días) que las de *Neochetina eichhorniae* (75-90 días). El tamaño de los túneles en los pecíolos indica que la larva periódicamente se mueve hacia arriba o hacia abajo de los túneles de alimentación (Deloach y Cordo 1976a). Las larvas del segundo y tercer instar son casi siempre encontradas en la corona de la planta, donde forman cavidades y se alimentan de los retoños de nuevas hojas, lugar rico en nutrientes, impidiendo así la producción de nuevos brotes y, por consiguiente, el desarrollo de nuevas plantas. Debido a que *Neochetina bruchi* coloca más huevos y sus larvas se desarrollan más rápido que las de *Neochetina eichhorniae*, destruyen las plantas de lirio en menos tiempo.

1.3.4 Características de la pupa

Las larvas, al completar el tercer estadio, salen de la cavidad de la corona y se dirigen hacia la raíz, en donde pupan. Con ayuda de los pelos radicales forman una pequeña masa de forma circular (ver figura 3 en anexo fotográfico), provocando una lesión en las raíces. Esta lesión es el conducto por el que probablemente la pupa obtiene oxígeno (Center, 1992). No hay diferencias en la formación pupal entre ambas especies. Este estadio requiere cerca de treinta días, después de los cuales los adultos emergen (Deloach y Cordo, 1976a).

1.3.5 Características del adulto

Después de 24 horas de haber eclosionado, los adultos se alimentan removiendo la epidermis de las hojas y pecíolos, haciendo pequeñas marcas de 2 a 4 mm de diámetro (ver figura 4 en anexo fotográfico).

Los adultos de *Neochetina bruchi* y *Neochetina eichhorniae* son muy similares. Sin embargo, existen diferencias entre ambos (Deloach, 1975). Los adultos de *Neochetina bruchi* son de color pardo claro, el macho mide 4.18 mm y la hembra 4.61 mm (ver figura 5 en anexo fotográfico). Los adultos de *Neochetina eichhorniae* son de color pardo oscuro a negro, el macho mide 4.06 mm y la hembra 4.52 mm (ver figura 6 en anexo fotográfico).

El sexo de *Neochetina* puede ser diferenciado por las características del rostro. En los machos es más corto, cilíndrico y casi se encuentra en línea recta; más ancho y denso de la inserción de la antena al ápice; está ligeramente comprimido y curvado hacia abajo, brillante sólo desde el punto de inserción de la antena hasta el ápice. El rostro en las hembras es más grande, uniformemente curvado y casi todo es cilíndrico; ancho y denso de la base del rostro al ápice; brillante y glabroso desde enfrente de los ojos hasta el ápice. La proporción de sexos es de 1:1 para ambas especies (Deloach y Cordo, 1976a).

El ciclo biológico para *Neochetina eichhorniae* es de 96-120 días y, para *Neochetina bruchi*, de 66-75. La longevidad de los adultos es de 230 a 280 días (Deloach y Cordo, 1976a; Center, 1992). La tabla 1 muestra la duración, en días, del ciclo biológico de *Neochetina* spp.

Tabla 1. Duración de los estadios de desarrollo de *Neochetina bruchi* y *Neochetina eichhorniae*.

Espece	Huevo	Larva	Prepupa + pupa	Ciclo biológico
<i>Neochetina bruchi</i>	6-8 días	30-34 días	30-33 días	66-75 días
<i>Neochetina eichhorniae</i>	7-14 días	75-90 días	14-20 días	96-120 días

Neochetina bruchi y *Neochetina eichhorniae* ocupan nichos ecológicos similares (Deloach, 1975). Sin embargo, no existe competencia entre las dos especies debido a las diferencias en cuanto al sitio de oviposición y tipo de plantas de la que se alimentan (Deloach y Cordo, 1976a). Las diferencias entre las dos especies son mostradas en la tabla 2.

Tabla 2. Diferencias entre *Neochetina bruchi* y *Neochetina eichhorniae*.

	<i>Neochetina bruchi</i>	<i>Neochetina eichhorniae</i>
Huevos	0.82 mm de largo, corion rígido	0.88 mm de largo, corion blando
Sitios de oviposición	Oviposita dentro de la segunda o tercera capa del aerénquima, en pecíolos bulbosos, hojas viejas o pequeñas manchas necróticas	Oviposita debajo de la epidermis de las hojas centrales jóvenes, bases de pecíolos tiernos, o bien, dentro de las marcas de alimentación
Número de huevos/día	8.5 huevos/día	7.3 huevos/día
Color y tamaño en adultos	Pardo claro, el macho mide 4.18 mm y la hembra 4.61 mm	Pardo oscuro a negro, el macho mide 4.06 mm y la hembra 4.52 mm
Duración del ciclo biológico	69-75 días	96-120 días
Preferencia alimenticia	se alimenta de plantas jóvenes y pequeñas	Se alimenta de plantas maduras y grandes
Resistencia a temperatura	Resiste bajas temperaturas	Resiste altas temperaturas
Estacionalidad	Más abundante en primavera y verano	Más abundante en otoño e invierno

Neochetina bruchi es más abundante en primavera y verano, mientras que *Neochetina eichhorniae* es más abundante en otoño e invierno. Ambas especies son multivoltinas, es decir, tienen dos a tres generaciones por año (DeLoach y Cordo, 1976b; Sanders *et al.*, 1986). En cuanto a preferencias de alimentación, *Neochetina eichhorniae* prefiere plantas maduras y grandes, mientras que *Neochetina bruchi* prefiere plantas jóvenes y pequeñas.

La experiencia en otros países (Cilliers, 1991b; Van Thielen *et al.*, 1994) ha demostrado que el uso combinado de dos especies de coleópteros,

Neochetina eichhorniae y *Neochetina bruchi*, ha ayudado a mantener una baja infestación de lirio dentro de un programa de control integral. En el mundo, las infestaciones de esta planta se localizan en climas que van desde el tropical húmedo hasta el tropical semiárido, pasando por zonas templadas. En estos lugares, la diversidad morfológica del lirio acuático: tamaño, número de hojas por planta y textura de éstas, varía enormemente (Olvera, 1988), por lo que, dada la preferencia alimenticia de estos insectos (*Neochetina eichhorniae* se alimenta de plantas maduras y grandes, mientras que *Neochetina bruchi* lo hace de plantas jóvenes y pequeñas), la duración del ciclo biológico (*Neochetina eichhorniae* 96-120 días y *Neochetina bruchi* 69-75 días), la estacionalidad (*Neochetina eichhorniae* abunda en otoño e invierno y *Neochetina bruchi* en primavera y verano), así como la diversidad de climas y morfología del lirio acuático, estas dos especies se muestran complementarias para el control biológico de dicha maleza (Deloach y Cordo, 1976b).

1.4 Especificidad del género *Neochetina*

Las especies del género *Neochetina* son depredadoras específicas de especies vegetales de la familia *Pontederiaceae* (Deloach, 1976), pero sólo en *Eichhornia crassipes* pueden completar su ciclo de vida. En raras ocasiones se alimenta y oviposita en *Reussia rotundifolia*, *Eichhornia azurea* y *Pontederia lanceolata*.

Perkins y Maddox (1976) comprobaron la especificidad de *Neochetina* sp. en 28 plantas de 17 familias. Los resultados demostraron que *Neochetina bruchi* no se alimentó ni efectuó ninguna fase de su ciclo sobre ninguna de estas plantas.

Jayanth y Nagarkatti (1987) realizaron pruebas para comprobar la especificidad de *Neochetina bruchi*. Bajo condiciones de cuarentena, probaron 76 especies de plantas representando a 42 familias. Sus observaciones indicaron que los adultos no se alimentaron y tampoco ovipositaron en 58 de estas especies. Los adultos comieron muy poco en *Trapa bispinosa*, *Vallisneria* sp., *Amaryllis* sp. y *Lactuca sativa*. Sin embargo, las larvas de *Neochetina* no lograron completar su desarrollo en ninguna de éstas.

La especificidad de *Neochetina eichhorniae* fue comprobada en México en 33 especies de plantas, pertenecientes a 14 familias, sin encontrar daño alguno ocasionado por esta especie (Romero y Ortiz, 1988).

1.5 Principales patógenos del género *Neochetina*

Las especies del género *Neochetina* pueden presentar enfermedades causadas por seis diferentes grupos de organismos: virus, rickettsias, bacterias, hongos, protozoarios y nemátodos (Perkins y Maddox, 1976).

Deloach y Cordo (1982) estudiaron dos de los principales patógenos de *Neochetina bruchi* y *Neochetina eichhorniae*, un nemátodo de la familia Sphaerulariidae, probablemente del género *Methaparasitylum*, y un microsporidio del género *Nosema*. Los microsporidios son el grupo de protozoarios patógenos más comúnmente asociados con insectos.

Los microsporidios son protozoarios que generalmente causan enfermedades crónicas, reduciendo así la aptitud fisiológica y reproductiva de su hospedero, en particular cuando se encuentran bajo estrés. Cerca de 250 especies de microsporidios han sido descritas en los órdenes lepidóptera y coleóptera. Los microsporidios más conocidos son *Nosema apis* y *Nosema bombycis*, los cuales causan enfermedades en la abeja y en el gusano de seda, respectivamente. La transmisión de éstos puede ser horizontal por ingestión de esporas, copulación o inoculación por parásitos, o bien, vertical, a través de los huevos (vía transovarial); éste último caso es el que mayor problema causa pues es difícil la limpieza de la colonia. El número y tipo de órganos o tejidos infectados se determina por la especificidad de los microsporidios envueltos y/o por el estado en el que el huésped esté infectado. Estos pueden incluir tracto alimentario, grasa del cuerpo, túbulos malpighiales, ovarios, glándulas accesorias, *bursa copulatrix*, espermateca, músculos, epitelio traqueal y tejidos adiposo y conectivo. Dependiendo de los órganos infectados, los insectos pueden exhibir varios síntomas, por ejemplo: mala alimentación, desarrollo irregular, desarrollo larval retardado, metamorfosis incompleta, deformación de pupas y adultos o baja fecundidad y longevidad, así como muerte (Kluge y Cadwell, 1992).

Haag y Boucias (1991) evaluaron la patogenicidad sobre *Neochetina eichhorniae* de una bacteria (*Bacillus thuringiensis*), dos hongos (*Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*) y un nemátodo del género *Steinernema*. Los resultados obtenidos mostraron que no hubo mortalidad importante al exponer *Neochetina eichhorniae* a 21 cepas de *Bacillus thuringiensis* y tampoco al exponerlo a dos cepas de *Metarhizium anisopliae*. Sin embargo, de seis cepas de *Beauveria bassiana* probadas, en dos de ellas (Bb AFA y Bb 5647), la mortalidad fue significativamente importante. En la infección con dos cepas del nemátodo, la mortalidad fue del 60 al 70 por ciento.

1.6 Cuarentena de insectos para el control biológico de malezas acuáticas

El objetivo de la cuarentena es eliminar cualquier patógeno de los organismos que se pretenden utilizar en el control biológico (Miller y Aplet, 1993). Si, conjuntamente con los agentes de control fueran liberados sus patógenos, éstos reducirían la eficacia y además, podrían poner en peligro a otros organismos. Esto, que es relativamente sencillo con los parasitoides, puede resultar extremadamente difícil con los entomopatógenos, especialmente si el insecto es univoltino y los patógenos se transmiten vía transovarial (DeLoach *et al.*, 1989).

1.6.1 Laboratorio de cuarentena

La función básica de un laboratorio de cuarentena es proporcionar las facilidades que permitan el manejo del material importado, de tal manera que se evite el escape de organismos potencialmente peligrosos. Es un lugar completamente adecuado, donde los insectos se encuentran reclusos. Hasta en tanto no se pruebe que son seguros, todos los insectos deben ser considerados peligrosos para la agricultura y el medio ambiente (Fisher, 1978).

Las facilidades mínimas que debe tener un laboratorio de cuarentena consisten de, cuando menos, dos cuartos separados: una antecámara con trampa de luz, y el cuarto de cuarentena donde se abren los envíos y se inician los estudios. En los dos deberá existir, como mínimo, un lavadero equipado con agua fría y caliente, además de agua destilada y gas. Para desechar con seguridad los recipientes o residuos, deberá contarse con un autoclave o un incinerador dentro del laboratorio.

Los envíos de insectos deben ser recibidos por las autoridades del laboratorio y no abrirse hasta que se encuentren dentro de la unidad de cuarentena. En un cuarto especial, los organismos deben registrarse y separarse del material vegetal y de los recipientes de envío. Los insectos se colocan en plantas huéspedes; el material vegetal y los recipientes de envío son esterilizados y/o incinerados. Cualquier insecto que se encuentre muerto o no parezca estar sano debe ser examinado.

En el mundo existen sólo tres centros de cuarentena de insectos para el control biológico de malezas acuáticas: uno en Argentina y dos en Estados Unidos. En México, sólo se cuenta con un centro de cuarentena para insectos benéficos, el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, en Tecomán, Colima. Desafortunadamente, dicho Centro no cuenta con instalaciones para la cuarentena de insectos para el control biológico de malezas acuáticas.

1.7 Cría masiva de insectos

El objetivo de un programa de cría masiva de insectos es la producción, con un mínimo de trabajo y espacio, de un número máximo de individuos de una especie dentro de un periodo y, además, tan costeable como sea posible (Finney y Fisher, 1978). La cría se encamina a resolver problemas tales como:

- Incrementar o mantener la cepa en un programa de introducción de una especie exótica, hasta que las colonias sean establecidas en campo.
- Aumentar las poblaciones en el campo de especies nativas.
- Producir grandes cantidades de insectos para ser liberados en masa, cuando se requiere aplicar un control biológico tipo *inundación*.
- Para controlar el estado sanitario de las colonias producidas.

Los tipos de crías son convencionalmente clasificados en tres categorías:

- Natural: es importante cuando comienza un programa de cría para un insecto, donde es preferible usar su huésped natural (Waage *et al.*, 1985).
- Semiarificial: comprende una o más sustancias de plantas o animales, tales como polvo o extracto de hígado, levadura, germen de trigo u otros ingredientes de naturaleza similar. En algunos casos, el ingrediente puede proveer un solo nutriente; por ejemplo, vitaminas o lípidos, o algunas veces contribuye a ampliar el espectro de nutrientes. La principal característica de esta forma de cría es que la mayoría de los nutrientes son provistos como puros o sustancias refinadas (Singh, 1977).
- Artificial: son formulaciones de dietas principalmente usadas para estudios en fisiología, ecología, genética y etología. Los ingredientes de estas dietas pueden representarse por fórmulas químicas, pero son de cara preparación y, por lo común, requieren de técnicas asépticas (Singh, 1977). La formulación exitosa de una dieta artificial depende de un básico conocimiento de nutrición, hábitos alimenticios y comportamiento general de la especie a criar (Singh, 1977). Hasta el momento no se conoce ninguna dieta para la cría de *Neochetina*.

2 METODOLOGÍA

2.1 Cría masiva de *Neochetina*

2.1.1 Cultivo de lirio en estanques o tinas de plástico

Para la cría masiva de *Neochetina* spp. se utiliza, como substrato, la misma planta de lirio acuático. Para esto, se sugiere recolectar el lirio en la zona cercana al lugar de cría. Para evitar la introducción de parásitos no deseados, las plantas recolectadas se lavan y desinfectan de la siguiente manera:

- Las plantas se limpian perfectamente con agua corriente.
- La planta entera se desinfecta sumergiéndola en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%, durante tres minutos.
- Se enjuagan perfectamente con agua corriente y se colocan en el estanque o tina correspondiente.

La fisiología y comportamiento de *Neochetina* están íntimamente ligados a la calidad del lirio (Center y Wright, 1991), planta de la que se alimenta y donde desarrolla completamente su ciclo biológico (Center y Dray, 1992). Por ello, es muy importante contar con un lirio sano, verde y succulento, donde el insecto pueda desarrollarse. Por otro lado, al cultivar el lirio fuera de un cuerpo de agua, éste puede manifestar deficiencias en nutrientes (Newman y Haller, 1988), por lo que es necesario proporcionarlos al agua utilizada en el cultivo. Además, el lirio es una planta que necesita una buena aereación de raíces, por lo cual es sumamente importante cambiar el agua de los estanques y fertilizar la planta, por lo menos, dos veces al mes. Con esto también se evita la proliferación de algas u otros organismos. El fertilizante a utilizar debe proporcionar a la planta 5 ppm de nitrógeno y 2 ppm de quelato de hierro.

2.1.2 Cría de *Neochetina* sobre lirio acuático

Una vez que se tenga el lirio verde, sano y con buenas raíces, se siembra una pareja de insectos por planta durante cinco días (tiempo en que la

- Dilución serial del homogeneizado anterior.
- Siembra en agar nutritivo de cada dilución.
- Incubación a 35 °C durante 24 horas.

Agar nutritivo

- Extracto de carne 3 g
- Peptona 5 g
- Agar 15 g

Esterilizar a 120 °C y 1.5 lb de presión por 15 minutos.

2.1.3.3 Obtención de cepas puras de bacterias entomopatógenas

Para el caso de bacterias, después de incubar durante 24 h las diluciones del homogeneizado descrito, las diferentes colonias que emergen se diferencian y aíslan basándose en la forma, color y textura.

2.1.3.4 Identificación de bacterias entomopatógenas

Una vez que se obtienen cepas puras, se aplica la coloración de Gramm a cada una de las colonias aisladas en agar nutritivo. La reacción a la tinción de Gramm diferencia las bacterias Gramm negativas y positivas.

- Preparar un frotis de un cultivo de 24 h de incubación en un portaobjetos.
- Cubrir el frotis, previamente fijado a la flama, con violeta cristal, durante 30 segundos.
- Escurrir el colorante y lavar el frotis con agua corriente.
- Aplicar el yodo de Gramm y dejarlo reaccionar por 30 segundos.
- Escurrir el colorante y lavar el frotis con agua corriente.
- Enjuagar con alcohol.
- Cubrir el frotis con la solución de safranina de Gramm y dejarlo actuar de 10 a 20 segundos.

Escurrir el colorante y lavar con agua corriente. Dejar secar la preparación y observar al microscopio con el objetivo de inmersión. Las bacterias Gramm positivas retienen la combinación de los colorantes de yodo y violeta, por lo que aparecerán al examen del microscopio de color rosado; las bacterias Gramm negativas aparecerán de color azul-morado.

Después de la coloración de Gramm, se procede a sembrar éstas en algunos medios selectivos para bacterias entomopatógenas. Dichos medios fueron:

Medio diferencial para *Streptococcus faecalis*

- | | |
|------------------------|------|
| - Peptona | 10 g |
| - Extracto de levadura | 1g |
| - Sorbitol | 2 g |
| - Tirosina | 5 g |
| - Agar | 12 g |

Esterilizar por 10 min a 10 lb de presión. Ajustar a un pH de 6.2. Agregar 0.01% de 2,3,5-trifenil tetrazolium chloride (TTC) y 0.1% acetato. Verter una pequeña capa en cajas Petri estériles. Al medio sobrante adicionar 4 g de tirosina. Agitar perfectamente hasta disolver la tirosina. Verter una capa de este medio sobre la capa anteriormente vertida en cajas de Petri. Inocular una caja con las bacterias aisladas e incubar a 37 °C por 4 h. Incubar por tres días a 45 grados centígrados.

Las colonias cultivadas en medio diferencial para *Streptococcus faecalis* deben, ser colonias de color rojo oscuro rodeadas de zonas claras (Poinar y Thomas, 1984).

Medio diferencial tertigol-7 + TTC agar (T7 + TTC) para *Escherichia coli*, *Xenorhabdus nematophilus*, *Enterobacter* sp. y *Pseudo monas aeruginosa*.

- | | |
|------------------------|-------------------|
| - Peptona | 5 g |
| - Extracto de levadura | 3 g |
| - Lactosa | 10 g |
| - Agar | 15 g |
| - Tertigol-7 | 0.1 ml |
| - Bromitol azul | 0.025 ml |
| - Agua destilada | aforar a un litro |

Mezclar los ingredientes.

- Esterilizar a 1.5 lb de presión por 15 min.
- Enfriar hasta 50 °C.
- Disolver 40 mg de TTC en 5 ml de agua y filtrar al medio frío.
- Verter a cajas Petri estériles.

El tertigol-7 con la adición de 2,3,5-trifenil tetrazolium chloride (TTC) es un medio para el aislamiento de bacterias coliformes Gramm negativas.

Así, *Escherichia coli* produce colonias amarillas, *Xenorhabdus nematophilus* forma colonia de color azul, algunas especies de *Enterobacter* forman colonias rojas rodeadas de una zona amarilla, mientras que *Pseudomonas aeruginosa* forma colonias rojas (Poinar y Thomas, 1984).

2.1.3.5 Técnica para la detección de microsporidios

La detección de microsporidios se realiza por el siguiente procedimiento: maceración aséptica del insecto. Observación al microscopio bajo contraste de fases. Las esporas de microsporidios pueden ser distinguidas de otras por su forma y porque son refringentes.

2.1.3.6. Detección de nemátodos entomopatógenos

- Disección del insecto vivo en 0.9% NaCl.
- Observación al microscopio.

2.2 Liberación de *Neochetina*

Los adultos, después de eclosionar, tardan cinco días en alcanzar la madurez sexual, por lo que habrá que esperar, por lo menos diez días a partir de que eclosionen, para que exista apareamiento y oviposición de las hembras.

Una vez obtenidos los adultos, se organizan por sexo y se colocan por parejas en recipientes de plástico, previamente acondicionados con papel humedecido y hojas frescas de lirio. Recordemos que la identificación y diferenciación de sexos se hace por medio de las características del rostro descritas en el apartado 1.3.5 “Características del adulto”, así como en las figuras 5 y 6. Los recipientes se cubren con su tapa, a la que se le practican pequeñas perforaciones para que penetre el aire. De esta forma, los insectos se transportan al lugar donde se requiera liberarlos.

2.2.1 Precauciones a tomar en cuenta durante la liberación de *Neochetina*

- Liberar los insectos en áreas donde el lirio no se dispersará en, por lo menos, dos meses.
- Cuidar que los animales no tengan acceso a los sitios de liberación.
- No liberar en tiempo de heladas.
- Después de la liberación no asperjar insecticidas, herbicidas u otro químico.

- No liberar en lugares donde se utilice maquinaria para el control de las malezas acuáticas (cosechadoras, trituradoras, etc.), En caso de que estén en funcionamiento, liberar en áreas alejadas donde no se vayan a aplicar dichos métodos.

2.3 Monitoreo

Después de tres meses (tiempo que tarda en completar su ciclo biológico el insecto) de haber realizado la liberación de *Neochetina*, se hará un primer monitoreo para verificar el establecimiento del insecto. El monitoreo consistirá en observar la presencia de marcas de alimentación que el insecto deja en las hojas (figura 4). Si no existen, se aconseja hacer una segunda liberación en el sitio. Como parte del monitoreo, es necesario cuantificar el área infestada por la maleza, para de este modo evaluar con certeza el grado de eficacia y eficiencia del agente de control utilizado. Para ello se sugiere efectuar las siguientes evaluaciones:

2.3.1 Evaluación de la cobertura (espacio que ocupa la maleza en el espejo de agua).

- Recabar información de levantamientos topográficos del lugar con la finalidad de conocer el área total que abarca el espejo de agua. La cobertura de la maleza puede ser determinada a través de la medición del área infestada. Si el área infestada es más o menos rectangular, utilizar la fórmula: $\text{área (ha)} = \text{largo} \times \text{ancho} / 10,000$. Si es más o menos triangular, utilizar la fórmula: $\text{área de triángulo (ha)} = \frac{1}{2} \text{ base} \times \text{altura} / 10,000$. Si es circular, utilizar la fórmula: $\text{área del círculo (ha)} = 3.1416 \times \text{radio}^2 / 10,000$.
- Si el área infestada es irregular, utilizar el método de figuras geométricas. Para ello se requiere un plano con escala donde se ubicarán los puntos de referencia, es decir, aquellos sitios del cuerpo de agua desde donde se puedan tomar medidas de uno a otro punto. El área infestada se divide en figuras geométricas sencillas y se toman las dimensiones de cada lado de la figura establecida. Se calcula el área de cada figura y se suma cada una de ellas para obtener el área total.
- La determinación de la cobertura podrá también efectuarse con la ayuda de GPS (*Global Positioning System*), de imágenes de satélites o fotografías aéreas.

2.3.2 Determinación de la biomasa (peso fresco o seco de la planta por unidad de área)

Se coloca un cuadro de madera u otro material en el sitio infestado, las plantas que se encuentran dentro del cuadrado se extraen, se dejan escurrir durante 5 min y se pesan.

2.3.3 Determinación de la densidad de la maleza (número de plantas que existen en una determinada área).

Utilizando el mismo cuadrado descrito anteriormente, se cuenta el número de plantas ubicadas dentro del cuadrado. La determinación de la biomasa se realiza de acuerdo con la fórmula establecida por Brower y Zar (1977):

Densidad= número de plantas/unidad de superficie

2.3.4 Determinación del número de adultos, larvas y pupas de *Neochetina* por metro cuadrado

2.3.5 De acuerdo con las técnicas descritas, determinar el estado sanitario de las colonias liberadas

Las evaluaciones tendrán que ser realizadas, por lo menos, una vez al mes durante las cuatro estaciones el año. Los sitios de muestreo se determinarán de acuerdo con lo accesible del sitio infestado. El número de sitios de muestreo y de cuadros de muestreo dependerá de la magnitud de la infestación.

LITERATURA CITADA

- Arredondo, H. C. B., 1993, "El control biológico y sus metodologías", *Memorias del Taller sobre control biológico de plagas agrícolas*, Centro Nacional de Referencia, Tecomán, Colima. p. 20-28.
- Barret S. C. H. y I. W. Forno, 1982, "Style Morph Distribution in New World Populations of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms-Laubach (Waterhyacinth)", *Aquatic Bot.*, 13: 299-306.
- Bennet, F. D., 1981, "Lista de enemigos naturales del lirio acuático *Eichhornia crassipes* y de *Tribulus cistoides* en México", VII Reunión de Control Biológico, Veracruz, México. p. 137-141.
- Bhakthan, N. M.; J. H. Borden y K. K. Nair, 1970, "Fine Structure of Degenerating and Regenerating Flight Muscles in a Bark Beetle *Ips confusus* I. Degeneration", *J. Cell Sci.*, 6: 807-820.
- Buckingham, G. R. y C. S. Bennet, 1989, *Dyscinetus Morator* (FAB) (Coleoptera: Scarabaeidae) Adults-attack Waterhyacinth, *Eichhornia crassipes* (Pontederiaceae)", *The Coleopterists Bull.*, 43(1): 27-33.
- Buckingham, G. R. y S. Passoa, 1986, "Flight Muscle and Egg Development in Waterhyacinth Weevils", Proc. VI Int. Symp. Biol. Contr. Weeds, Vancouver, Canada, Ed. Delfosse, E. E. *Agric. Can.*, p. 497-510.
- Center, T. D., 1992, "Biological Control of Weeds: Waterhyacinth and Waterlettuce, Biological Control and IPM", *The Florida Experience*, 48 pp.
- Center, T. D. y F. A. Dray, 1992, "Associations between Waterhyacinth Weevils *Neochetina eichhorniae* and *N. bruchi* and phenological stages of *Eichhornia crassipes* in Southern Florida", *Florida Entomol.*, 75(2): 196-211.
- Center, T. D.; K. K. Steward y C. M. Bruner, 1982, "Control of Waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*) with *Neochetina eichhorniae* (Coleoptera: Curculionidae) and a Growth Retardant", *Weed Sci.*, 30: 453-457.
- Center, T. D. y V. Thaik, 1989, "Alteration of Waterhyacinth *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. Leaf Dynamics and Phytochemistry by Insects Damage and Plant Density", *Aquatic Bot.*, 35: 181- 195.

- Center T. D. y A. D. Wright, 1991, "Age and Phytochemical Composition of Waterhyacinth (Pontederiaceae) Leaves Determine their Acceptability to *Neochetina eichhorniae* (Coleoptera: Curculionidae)", *Environ. Entomol.*, 20(1): 323-334.
- Charbonnel, Y., 1989, *Manuel du lagunage a macrophytes en régions tropicales*, Maitre de conférences à l'Université Paul Sabatuaier, Toulouse Francia. 37 p.
- Cilliers, C. J., 1991a., "Biological Control of Waterlettuce, *Pistia stratiotes* (Araceae) in South Africa", *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 37: 225-229.
- Cilliers, C. J., 1991b, "Biological Control of Waterhyacinth, *Eichhornia crassipes* (Pontederiaceae) in South Africa". *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 37: 207-217.
- Cock, M. J. W., 1994, "Biological Weed Control", Labrada, R., J. C. Caseley y C. Parker (eds.), *Weed Management for Developing Countries*, FAO, Roma, Italia. p. 171-176.
- Cofrancesco, A. F.; M. Steward y D. R. Sanders, 1985, "The Impact of *Neochetina eichhorniae* (Coleoptera: Curculionidae) on Waterhyacinth in Louisiana", Proc. VI Int. Symp. Biol. Contr. Weeds, Vancouver, Canada, Ed. Delfosse, E. E. *Agric. Can.*, p. 525-535.
- Deloach, C. J., 1975, "Identification and Biological Notes on the Species of *Neochetina* that Attack Pontederiaceae in Argentina (Coleoptera: Curculionidae: *Bagoini*)", *The Coleopterist Bull.*, 20(4): 257-266.
- Deloach, C. J., 1976, "*Neochetina bruchi* a Biological Control Agent of Waterhyacinth: Host Specificity in Argentina", *Annals Entomol. Soc. America*, 69(4): 635-642.
- Deloach, C. J. y H. A. Cordo, 1976a, "Ecological Studies of *Neochetina bruchi* and *Neochetina eichhorniae* on waterhyacinth in Argentina", *J. Aquat. Plant Management*, 14: 53-59.
- Deloach, C. J. y H. A. Cordo, 1976b, "Life Cycle and Biology of *Neochetina bruchi* a Weevil Attacking Waterhyacinth in Argentina, with Notes on *Neochetina eichhorniae*", *Annals Entomol. Soc. America*, 69(4): 643-652.
- Deloach, C. J. y H. A. Cordo, 1978, "Life History and Ecology of the Moth *Sameodes albiguttalis*, a Candidate for the Biological Control of Waterhyacinth", *Environ. Entomol.*, 7(2): 309-321.
- Deloach, C. J. y A. H. Cordo, 1982, "Natural Enemies of *Neochetina eichhorniae* and *Neochetina bruchi*, Two Weevils from Waterhyacinth in Argentina", *Annals Entomol. Soc. America.*, 75(2): 115-118.
- Deloach, C. J. y H. A. Cordo, 1983, "Control of Waterhyacinth by *Neochetina bruchi* (Coleoptera: Curculionidae: *Bagoini*) in Argentina", *Environ. Entomol.*, 12(1): 19-23.

- Deloach, C. J.; H. A. Cordo y I. S. Crouzel, 1989, *Control biológico de malezas*, Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina. 266 pp.
- Deloach, C. J.; H. A. Cordo; R. Ferrer y J. Runnacles, 1980, "Acigona infusella, a Potential Biological Control Agent for Waterhyacinth: Observations in Argentina (with a Descriptions of Two New Species of Apanteles by L. de Santis)". *Annals Entomol. Soc. America*, 73: 138-146.
- Díaz, Z. G. y E. Gutiérrez, 1988, "Rehabilitación limnológica de la presa Requena", *Memorias del VI Congreso de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, A.C.*, Querétaro, Querétaro. 37 pp.
- Fèry-Forgues, S., 1996, "La lumineuse défense des plantes. Des pesticides de synthèse imitent les phototoxines naturelles", *La Recherche*, 290: 34-35.
- Finney, G. L. y T. W. Fisher, 1978, "Cultivo de insectos entomófagos y sus huéspedes", P. DeBach (ed.), *Control biológico de plagas de insectos y malas hierbas*, CECSA, México, pp. 396-398.
- Fisher, T. W., 1978, "Manejo cuarentenario de insectos entomófagos", P. DeBach (ed.). *Control biológico de plagas de insectos y malas hierbas*, CECSA, México, pp. 350-374.
- Gallager, J. E., 1989, "Waterhyacinth Control with Amitrol-T. *Hyacinth*", *Control J.*, 1: 17-18.
- Gómez, R. O.; E. Zavaleta-Mejía; C. F. Viesca y O. Ortiz, 1992, "Asociación de *Tageles erecta* e incorporación de sus residuos, posible alternativa para el manejo de algunos problemas fitopatológicos en jitomate (*Lycopersicon esculentum*)", Romero, M. F. y A. Gómez (eds.), *Memorias VI Congreso Nacional de la Soc. Española de la Fitopatología*, Torremolinos, España, 210 pp.
- Gopal, B., 1987, *Waterhyacinth, Aquatic Plant*, Elsevier Science Publishers, B. V. Amsterdam, The Netherlands, 471 pp.
- Gutiérrez, L. E.; F. Arreguín; R. Huerto y P. Saldaña, 1994, "Control de malezas acuáticas en México", *Ingeniería Hidráulica en México*, 9(3): 15-34.
- Haag, K. H. y D. G. Boucias, 1991, "Infectivity of Insect Pathogens against *Neochetina eichhorniae*, a Biological Control Agent of Waterhyacinth", *Florida Entomol.*, 74(1): 128-133.
- Haizlip, M. B. y N. P. Tugwell, 1983, "Degeneration and Regeneration of Indirect Flight Muscle in the Rice Water Weevil (*Coleoptera: Curculionidae*)", *J. Kansas Entomological Soc.*, 56(2): 164-168.
- Hamdoun, A. M. y K. B. E. Tigani, 1977, "Weed Problems in the Sudan", *PANS*, 23: 190-194.

- Harley, K. L. S., 1990, "The Role of Biological Control in the Management of Waterhyacinth, *Eichhornia crassipes*", *Biocontrol News and Information*, 11(1): 11-22.
- Hernández, H. F. y B. M. E. Pérez, 1995, "El vuelo del mosquito: un debate sobre mosquitos", *Avance y Perspectiva*, órgano de difusión del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN., 14: 5-15.
- Holm, G. L.; L. D. Plunkett y P. J. Herberger, 1977, *The World's Worst Weed, Distribution and Biology*, University Press of Hawaii, 609 pp.
- Jayanth, K. P. S., 1987, *Biological Control of Waterhyacinth in India*, Indian Institute of Horticultural Research, Bangalore, Technical Bulletin 3, 40 pp.
- Jayanth, K. P. y S. Nagarkatti, 1987, "Host Specificity of *Neochetina bruchi* Hustache (*Coleoptera Curculionidae*) introduced into India for Biological Control of Waterhyacinth", *Entomology*, 12(4): 385-390.
- Joyce, J.C., 1989, "Aquatic Plant Management-an overview", *Trip Report and Assessment of Aquatic Weed Problems in Colombia*, The Corporation Automoma Regional Area of Responsibility, April 16-26.
- Knipling, E. B.; S. H. West y W. T. Haller, 1979, "Grow Characteristics Yield Potential and Nutritive Content of Waterhyacinth", *Proceedings, Contributed Paper Soils and Crop.*, J. G. A. Fiskell, Presiding, 30: 198-212.
- Kluge, R. L. y P. M. Cadwell, 1992, "Microsporidian Diseases and Biological Weed Control Agents: to Release or not to Release?", *Biocontrol News and Information*, 13(3): 43-47.
- Leyden, W. B.; M. Brenner; A. D. Hodell y H. J. Curtis, 1994, "Orbital and Internal forcing of Climate on the Yucatan Peninsula for the Past ca. 36ka", *Palaeogeography, Palaeoclimatology and Palaeoecology*, 109: 193-210.
- Limón, M. G., 1989, *Evaluación global del fósforo y la eutroficación en México*, primera etapa, Cámara Nacional de la Industria de Aceites, Grasas y Jabones, Asociación Nacional de la Industria Química, 1: 24-28.
- Miller, M. y G. Aplet, 1993, "Biological Control a Little Knowledge is a Dangerous Thing", *Rutgers Law Review*, 45(2): 285-334.
- Morazán, E. F., 1988, "Control y aprovechamiento de las malezas acuáticas por la Comisión Federal de Electricidad", *Memorias del Seminario-taller Control y Aprovechamiento del Lirio Acuático*, 18-20 enero de 1988, SARH-IMTA, Jiutepec, Morelos. 20 pp
- Muda, A. R. B.; N. P. Tugwell y M. B. Haizlip, 1981, "Seasonal History and Indirect Flight Muscle Degeneration and Regeneration in the Rice Water Weevil", *Environ. Entomol.*, 10(5): 685-690.

- Newman S. y T. Haller, 1988, "Mineral Deficiency Symptoms of Waterhyacinth", *J. Aquat. Plant Management*, 26: 55-58.
- Novelo, A., 1996, *Sistemática de la familia Pontederiaceae en México*, tesis de doctorado, Universidad Autónoma de México, 171 pp.
- Olvera, V. V., 1988, "Biología y ecología del lirio acuático *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms", *Memorias del Seminario-taller Control y Aprovechamiento del Lirio Acuático*, 18-20 enero de 1988, SARH-IMTA, Jiutepec, Morelos, 27 pp.
- Penfound W. T. y T. T. Earle, 1948, "The Biology of the Waterhyacinth", *Ecol. Mon.*, 18: 447-472.
- Perkins, B. D. y D. M. Maddox, 1976, "Host Specificity of *Neochetina bruchi* Hustache (Coleoptera: Curculionidae) a Biological Control Agent for Waterhyacinth", *J. Aquat. Plant Management*, 14: 59-64.
- Pieterse, A. H., 1978, "The Waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*): a Review", *Trop. Agric.*, 4(2): 9-42.
- Poinar, G.O. y G. M. Thomas, 1984, *Laboratory Guide to insect Pathogens and Parasites*, Plenum Press, New York, 392 pp.
- Reddy, K. R. y T. A. DeBusk, 1987, "State of the Art utilization of Aquatic Plants in Water Pollution Control", *Wat. Sci. Tech.*, 19(10): 61-80.
- Reiche, C., 1963, *Flora excursoria del Valle Central de México*, Ed. Politécnico, México, 303 pp.
- Riemer, N. D., 1984, *Introduction to Freshwater Vegetation*, The VI Publishing Company, INC., Wesport, Connecticut, 207 pp.
- Romero, R.H. y A. L. Ortiz, 1988, "El escarabajo moteado (*Neochetina eichhorniae* Warner) como agente de control biológico del lirio acuático", Centro de Estudios Limnológicos de Guadalajara, Jalisco, SARH, México, *Memorias del Seminario-taller Control y Aprovechamiento del Lirio Acuático*, 18-20, enero de 1988, SARH-IMTA, Jiutepec, Morelos, 27 pp.
- Rubin, R., 1975, "El lirio acuático, ruina de un bello lago", *Técnica pesquera*, febrero 1975: 26-29.
- Sanders, R. D.; A. E. Theriot y P. Perfetti, 1986, "Large-Scale Operations Management Test (LSOMT) of Insects and Pathogens for Control of Waterhyacinth in Louisiana", *Aquatic Plant Control Research Program*, Report Technical, 97 pp.
- Sculthorpe, C. D., 1967, *The Biology of Aquatic Vascular Plants*, Edward Arnold Publishis, London, 610 pp.

- Sharma, K.P., 1985, "Allelopathic Influence of Algae on the Growth of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms", *Aquatic Bot.*, 22: 71-78.
- Silveira, G. y B. D. Perkins, 1975, "Biology and Host Specificity of *Cornops aquaticum* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae) a Potential Biological Control Agent for Waterhyacinth", *Environ. Entomol.*, 4: 400-404.
- Singh, P., 1977, *Artificial Diets for Insects, Mites and Spiders*, IFI/Plenum Data Company, New York, 594 pp.
- Stegwee, D. E.; C. K. Kimmel; J. A. DeBoer y S. Henstra, 1963, "Hormonal Control of Reversible Degeneration of Flight Muscle in the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera)", *J. Cell. Biol.*, 19: 519-527.
- Van Thielen, R.; O. Ajijonu; V. Schade; P. Neuenschwander; A. Adité y C. J. Lomer, 1994, "Importation, Releases and Establishment of *Neochetina* spp. (Col.: Curculionidae) for the Biological Control of Waterhyacinth, *Eichhornia crassipes* (Lil.: Pontederiaceae), Benin, West Africa, *Entomophaga*, 39(2): 179-188.
- Vera, H. F., 1975, *Plan Nacional Hidráulico, problemas de malezas acuáticas en las presas de La Angosura y Malpaso*, informe interno, México, 87 pp.
- Waage, J. K.; K. P. Carl; N. J. Mills y D. J. Greathead, 1985, "Rearing Entomophagous Insects", Singh, P. y R. F. Moore (eds.), *Handbook of Insect Rearing*, Elsevier, The Netherlands, p. 45-66.

ANEXO FOTOGRAFICO

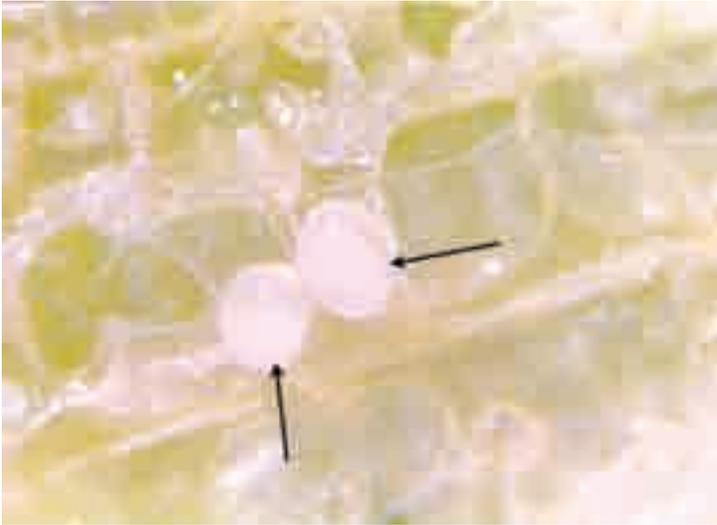


Figura 1. Huevos de *Neochetina* (flechas) en el tejido esponjoso del tallo de lirio.



Figura 2. Larvas de *Neochetina* alimentándose de tallos de lirio.



Figura 3. Pupas de *Neochetina*.



Figura 4. Marcas de alimentación de *Neochetina* (flechas) en hojas de lirio acuático.



Figura 5. Adulto de *Neochetina bruchi* (♂ macho; ♀ hembra).



Figura 6. Adulto de *Neochetina eichhorniae* (♂ macho; ♀ hembra).



Figura 7. *Neochetina bruchi* infectado con *Beauveria bassiana*; nótese la esporulación del hongo en rostro y abdomen (flechas).

ANEXO 1

El Manual para la cría masiva de Neochetina spp utilizado en el control biológico del lirio acuático se terminó de imprimir el mes de junio de 2005 en los talleres del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Paseo Cuauhnáhuac 8532, Progreso, Jiutepec, Morelos. La edición consta de 75 ejemplares.