

IDENTIFICACIÓN DE INSTARES LARVALES DE *Zabrotes subfasciatus* (BOH.) (COLEOPTERA: BRUCHIDAE) MEDIANTE LAS DIMENSIONES DE SUS CÁPSULAS CEFÁLICAS

LARVAL INSTAR IDENTIFICATION OF *Zabrotes subfasciatus* (BOH.) (COLEOPTERA: BRUCHIDAE) USING HEAD CAPSULE SIZE

Mario Rodríguez-Quiroz¹, Jorge Valdez-Carrasco², Jorge Vera-Graziano² y Alberto Castillo-Morales³

¹Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 56230, Chapingo, Edo. de México. ²Especialidad de Postgrado en Entomología y Acarología, IFIT; y ³en Estadística, ISEI. Colegio de Postgraduados, 56230, Montecillo, Edo. de México. (jvaldez@colpos.colpos.mx)

RESUMEN

Zabrotes subfasciatus es una plaga de semillas almacenadas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). La identificación de sus estados inmaduros por medio de la medición de la anchura de las cápsulas cefálicas presenta dificultades, por lo que se propone utilizar un “Factor de Proporción”, que resulta de la multiplicación de la longitud por la anchura de la cápsula cefálica, para ubicar especímenes inmaduros en el ínstar que les corresponde. Las mediciones se hicieron mediante un sistema de análisis computarizado de imágenes y los datos se procesaron con el Método de Análisis Discriminante. El análisis separó cuatro subpoblaciones, que representan a cada uno de los instares larvales de esta especie y determinó las probabilidades de traslapeo entre los instares. Así, la probabilidad de que un individuo del Ínstar I se confunda o agrupe con uno del Ínstar II es aproximadamente de 3 individuos en mil; que uno del Ínstar II se confunda con uno del I es cerca de 4 individuos en mil, y con uno del tercero es de aproximadamente 12 individuos en mil; que uno del Ínstar III se confunda con uno del segundo es próximo a 19 individuos en mil, y con uno del Ínstar IV es prácticamente cero.

Palabras clave: *Zabrotes subfasciatus*, *Phaseolus vulgaris*, entomología agrícola, larvas, plagas de frijol.

INTRODUCCIÓN

Zabrotes subfasciatus (Boh.) es una de las plagas más importantes del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) almacenado, y existen dificultades para identificar sus estados inmaduros y para diferenciar sus fases de desarrollo.

Esta especie de gorgojo pasa por cuatro instares larvales (Zacher, 1930; Steffan, 1946). La identificación precisa de los instares se requiere en estudios básicos de morfología, biología, fisiología o demografía; además, es una valiosa herramienta para saber en qué momento

ABSTRACT

Zabrotes subfasciatus is a pest of stored beans (*Phaseolus vulgaris* L.). The identification of its immature stadia by measuring the width of the cephalic capsule present some difficulties, so we propose the use of a “Proportion Factor”, which results from multiplying the length of the cephalic capsule by its width, in order to locate immature specimens in the corresponding instar. A computerized image analysis system was used for measuring, and the data were processed using a Discriminant Analysis. The analysis distinguished four subpopulations, which represent the larval instars of this species, and determined the probability of overlapping among the instars. Thus, the probability of an individual of the Instar I being confused or grouped with one of the second instar is approximately of three individuals in a thousand, and that one of the Instar II may be confused with one of the Instar I is about four individuals in one thousand. The probability of an individual of the Instar II being confused with one of the Instar III is nearly 12 individuals in one thousand, and one of the third instar being confused with one of the second is approximately 19 individuals in one thousand. The probabilities that an individual of Instar III might be confused with one of Instar IV are practically zero.

Key words: *Zabrotes subfasciatus*, *Phaseolus vulgaris*, agricultural entomology, larvae, beans pests.

INTRODUCTION

Zabrotes subfasciatus (Boh.) is one of the most important pests of stored beans (*Phaseolus vulgaris* L.). It is difficult to identify its immature stadia and to differentiate its phase of development.

This species of weevil goes through four larval instars (Zacher, 1930; Steffan, 1946). The precise identification of the instars is required in basic studies of morphology, biology, physiology, or demography. Besides, it is a valuable tool for knowing the exact time when the adults will emerge from the grains so that convenient steps of control can be recommended.

Recibido: Abril, 1998. Aprobado: Julio, 1999.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 34: 83-90. 2000.

emergerán los adultos de los granos con el fin de recomendar medidas oportunas de control.

Desde la publicación del "Principio o Regla de Dyar" (1890), se ha intentado utilizar las medidas de las anchuras de las cápsulas cefálicas para separar instares de varias especies de holometábolos (Drooz, 1965; Fox *et al.*, 1972). Dyar propuso ese criterio mediante el cual sería posible pronosticar matemáticamente el número de instares de especies de lepidópteros, comparados con el número de instares reales. Sin embargo, este método ha sido criticado por Taylor (1931) y Beck (1950) porque no resulta aplicable a todas las especies de insectos.

González *et al.* (1984) intentaron aplicar la regla de Dyar para determinar los estadios larvales de *Z. subfasciatus*. Según ellos, y de acuerdo con la regla, este gorgojo tiene cuatro instares larvales; sin embargo, en su estudio no quedó claro qué fue lo que midieron de las cápsulas cefálicas para determinar lo que llamaron "diámetro cefálico", además, ellos solamente utilizaron 30 cápsulas en tal estudio.

Con base en las dificultades expuestas, se propuso como objetivo de este trabajo la utilización de las medidas de la anchura y longitud de las cápsulas cefálicas de este gorgojo, como una herramienta confiable para la separación de sus instares, bajo la hipótesis de que las medidas de las cabezas, si bien tienen una variabilidad inherente dentro de cada instar, no se traslapan entre instares contiguos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cría del insecto

Los especímenes de *Zabrotes subfasciatus* se tomaron de una colonia del Laboratorio de Ecología de Insectos del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, Edo. de México. A esta colonia se le han introducido, aproximadamente cada dos meses, adultos silvestres para conservar las características de la especie y su variabilidad genética.

Se usó una cámara bioclimática a una temperatura de 28 °C, humedad relativa de 75 a 80 % y 12 horas diarias de luz. Los insectos se criaron en frascos de vidrio sobre frijol de la variedad Peruano.

Los granos de frijol se expusieron a los adultos en diferentes frascos durante 24 horas para permitir la oviposición. Después de ese tiempo, se retiraron los adultos y se conservaron los granos en sus frascos etiquetados con la fecha. Los diferentes grupos de granos permanecieron en la cámara de cría durante tiempos diferentes, para asegurar así la presencia de todos los estados de desarrollo de las larvas.

Colecta del material

Los huevos eclosionaron a los seis días y las larvas del primer instar penetraron inmediatamente a los granos de frijol, de donde se obtuvo una muestra de este instar a los siete días después de la oviposición. Muestras de las larvas de los Instares II, III y IV se colectaron a

Since the publication of the Dyar's Principle or Rule (1890) attempts have been made to utilize the measures of the width of the cephalic capsule in order to separate the instars of various species of holometabolous insects (Drooz, 1965; Fox *et al.*, 1972). Dyar proposed this criterion which would make it possible to prognosticate mathematically the number of instars of lepidopterous species, compared to the number of real instars. This method, however, has been criticized by Taylor (1931) and Beck (1950) as it could not be applied to all insect species.

González *et al.* (1984) tried to apply Dyar's rule in order to determine the larval stadia of *Z. subfasciatus*. According to the rule, this weevil has four larval instars; however, it was not clearly stated what part of the cephalic capsules exactly was measured to determine the so called "cephalic diameter", furthermore, only 30 capsules were used in that study.

Considering these difficulties, the objective of this work was to utilize the measures of width and length of this weevil's head capsules as a reliable tool for the separation of its instars, based on the hypothesis that the head measures do not overlap between contiguous instars, though there is an inherent variability within each instar.

MATERIALS AND METHODS

The raising of the insect

The specimens of *Zabrotes subfasciatus* were taken from a colony of the Insect Ecology Laboratory of the Colegio de Postgraduados in Montecillo, State of México. Every two months approximately, wild adults have been introduced to this colony in order to conserve the characteristics of the species and its genetic variability.

We used a bioclimatic chamber at a temperature of 28 °C, 75 to 80 % of relative humidity, and 12 hours light daily. The insects were raised in glass jars on beans of the cv. Peruano.

The beans were exposed to the adults in different jars during 24 hours in order to allow the oviposition. After this time, the adults were removed and the grains were kept in their jars, labeled with the date. The different groups of grains stayed in the raising chamber during different times to assure this way the presence of all the stadia of larva development.

The collection of the material

The eggs opened after six days, and the larvae of the first instar immediately penetrated the bean grains, from which a sample of this instar was obtained 7 days after the oviposition. Larva samples of the Instars II, III, and IV were taken at 11, 20, and 25 days, respectively. This way, more than 2000 specimens were collected.

In order to extract the larvae from the inside of the beans, these were boiled in water for 10 minutes to achieve this way a physical fixation of the grain and the larvae. Samples of 50 grains were taken

los 11, 20 y 25 días, respectivamente. De esta manera se colectaron más de 2000 especímenes.

Para extraer las larvas del interior de los granos de frijol, éstos se hirvieron en agua durante 10 minutos para lograr así una fijación física del grano y de las larvas. Esto se hizo con muestras de 50 granos en cada ocasión. Después de enfriar los frijoles, se extrajeron las larvas, las que se conservaron enteras en alcohol etílico a 70 %. Parte de los granos hervidos se congelaron a -4°C para su utilización posterior en caso necesario.

Preparación de cápsulas cefálicas

A las larvas, fijadas con calor y conservadas en alcohol a 70 %, se les cortó el extremo posterior del abdomen para permitir que el intercambio de líquidos en los tratamientos posteriores se hiciera con facilidad. Las larvas se hidrataron en agua destilada a temperatura ambiente durante 24 horas y se maceraron en hidróxido de potasio a 10 %, a 60°C durante 10 minutos. La hidratación y la maceración se hicieron teniendo cuidado de que los ejemplares estuvieran en todo momento sumergidos en los líquidos, para evitar que al ser repelidos por la tensión superficial del agua y de la solución de KOH, se secaran con la consiguiente deformación de las cápsulas cefálicas.

Después de la maceración, que no fue completa para evitar que la cutícula fuera atacada por el hidróxido de potasio, las larvas se lavaron con agua destilada y se colocaron en un limpiador ultrasónico de 60 Htz durante 20 segundos, para que el material macerado se desprendiera de la cutícula cefálica. Así, las cápsulas se limpiaron completamente sin necesidad de manipularlas. Posteriormente se separaron las cápsulas cefálicas del resto de la cutícula de la larva y se conservaron en alcohol a 70 %.

Las cabezas ya limpias y así conservadas se deshidrataron con dos cambios de alcohol etílico absoluto para su posterior aclaración con xilol. El material estuvo 20 minutos en cada alcohol a 100 % y 10 minutos en el xilol. Luego, las cápsulas se montaron sobre portaobjetos de vidrio con bálsamo de Canadá, procurando que el área facial de la cabeza quedara paralela a la superficie del portaobjetos, para asegurar que los planos de longitud y anchura fueran perpendiculares al eje de visión del microscopio. Los ejemplares estaban ordenados en hileras sobre los portaobjetos, de manera que era posible identificar a cada uno de ellos. De esta forma se prepararon 723 cápsulas cefálicas, precedentes de las cuatro fechas de colecta.

Medición

Se eligió el método de medición por análisis computarizado de imágenes. Las imágenes de las cápsulas cefálicas fueron obtenidas mediante un microscopio compuesto, con una cámara de video Iroscope adaptada al tercer tubo ocular. Todas las observaciones se hicieron con el objetivo de 10X. La imagen procedente de la cámara se capturó con un sistema VideoBlaster FS200 instalado en una computadora del tipo PC. A cada una de las 723 imágenes se le añadió el número de muestra y se grabaron con el formato JPG, el cual es un método para guardar archivos comprimidos de imágenes. Exactamente de la misma forma,

on each occasion. After the beans had cooled off, the larvae were extracted and entirely preserved in ethylic alcohol of 70 %. Part of the boiled beans were frozen at -4°C to be used later if necessary.

Preparation of the cephalic capsules

After fixing the larvae with heat and preserving them in alcohol of 70 %, the rear end of their abdomen was cut off in order to facilitate the interchange of liquids in the later treatments. The larvae were hydrated in distilled water at environmental temperature during 24 hours and macerated in potassium hydroxide of 10 %, at 60°C during 10 minutes. The hydration and the maceration were carried out taking care that the samples remained submerged in the liquids all the time to avoid their getting dry and the resulting deformation of the cephalic capsules because of their being repelled by the superficial tension of the water and the KOH solution.

After the maceration, which was not complete in order to avoid that the cuticle might be attacked by the potassium hydroxide, the larvae were washed in distilled water and put into an ultrasonic cleaner of 60 Htz during 20 seconds, so that the macerated material would be detached from the cephalic cuticle. Thus, the capsules got completely clean without manipulating them. Later on, the cephalic capsules were separated from the rest of the larva cuticle and kept in alcohol of 70 percent.

The heads already clean and conserved as mentioned were dehydrated with two changes of absolute ethylic alcohol for posterior clearing in xylol. Then the capsules were set on glass slides with Canada balsam, providing that the facial area of the head stayed parallel to the surface of the slide to make sure that the planes of length and width were perpendicular to the vision axis of the microscope. The samples were arranged in rows on the slides so that it was possible to identify each of them. This way, 723 cephalic capsules from the four dates of collection were prepared.

Measuring

We chose the method of measuring by computerized image analysis. The images of the cephalic capsules were obtained using a compound microscope with an Iroscope video camera adapted to the third ocular tube. All observations were made with the 10X objective. The image proceeding from the camera was captured through a Video Blaster FS 200 system, installed in a PC computer. The sample number was added to each of the 723 images and they were recorded on the JPG format, which is a method for keeping compressed files of images. In exactly the same way and with the same optics we captured the image of a Zeiss object micrometer, graded in hundredths of millimeter.

For analyzing the images we used the Image Tool 1.28 program, provided by The University of Texas Health Science Center in San Antonio. With the image of the object micrometer the program was calibrated, and micrometers (μm) were assigned as measuring units. The dimensions of length and width of each image were taken and put in order, each one with its respective sample number, so that it was possible to register the image of the sample once more in case it should present any anomaly, for example in its orientation.

y con la misma óptica, se capturó la imagen de la reglilla de un micrómetro de objeto Zeiss, graduado en centésimas de milímetro.

Para el análisis de las imágenes se usó el programa Image Tool 1.28, proporcionado por The University of Texas Health Science Center in San Antonio. Con la imagen de la reglilla micrométrica se calibró el programa y se asignaron micrómetros (μm) como unidades de medida. De cada imagen se obtuvieron las dimensiones de longitud y anchura, las cuales se ordenaron, cada una con su respectivo número de muestra, de modo que cuando alguna imagen presentaba alguna anomalía, por ejemplo en su orientación, fue posible registrar de nuevo la imagen del mismo ejemplar.

Las medidas de anchura se tomaron uniendo con la línea de la herramienta de medición del programa, los puntos más externos de los bordes laterales de la cápsula (genas); las de longitud se tomaron desde el punto medio superior de la cabeza (vertex) hasta el borde inferior de la cresta epistomal (Figura 1).

Se elaboraron las distribuciones de frecuencias para dichas medidas, agrupándolas en clases de 10 μm , mediante el programa 1-2-3 de Lotus, versión 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según Zacher (1930) y Steffan (1946) *Zabrotes subfasciatus* pasa por cuatro instares larvales. En la Figura 2 se observa que las medidas de anchura se distribuyeron en tres subpoblaciones numéricas, en lugar de las cuatro que

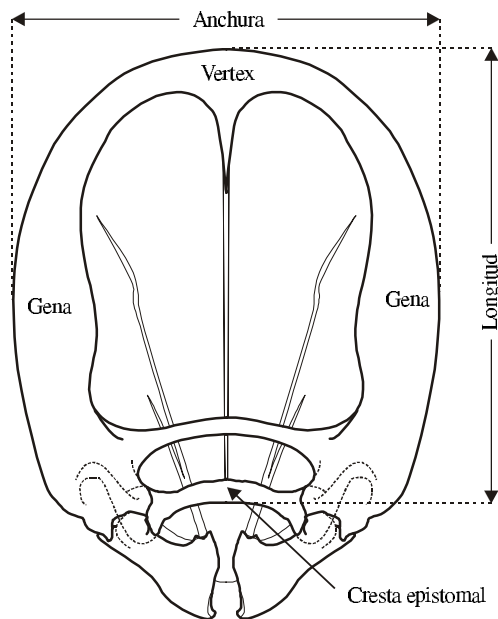


Figura 1. Esquema de la cápsula cefálica de las larvas de *Z. subfasciatus* en vista posterior, donde se muestran los sitios considerados para obtener las medidas lineales de anchura y longitud.

Figure 1. Cephalic capsule of *Z. subfasciatus* larvae seen from the back, which shows the sites considered for obtaining the linear measures of width and length.

The measures of width were taken joining the most external points of the lateral capsule edges (genae) with the tool of the analyzer program; the length was measured from the superior middle point of the head (vertex) to the inferior lowest edge of the epistomal ridge (Figure 1).

The frequency distributions for these measures were elaborated grouping them in ranges of 10 μm by means of the Lotus 1-2-3 program version 5.

RESULTS AND DISCUSSION

According to Zacher (1930) and Steffan (1946), *Zabrotes subfasciatus* passes through four larval instars. In Figure 2 it can be observed that the measures of width were distributed in three numerical subpopulations instead of the four which should have been present. The values of this variable, representing Instars I and IV, are well differentiated, but this is not the case in those corresponding to Instars II and III. This means that there is a strong overlapping between the measures of these last two instars, which did not agree with the hypothesis we had established. With respect to the length, Figure 2 shows that the subpopulations corresponding to the four instars are differentiated, though this time there is an overlap between Instars I and II, which did not agree with the hypothesis either.

As the frequency distributions of measures, independent of the width and length of the cephalic capsules, did not clearly express the differences between the four instars, it was decided to use a "Proportion Factor", obtained from multiplying the length by the width of each sample. This is not to be considered as a measuring unit, but as a factor representing the relative head dimensions of the different instars.

In Figure 3, the frequency distribution of the mentioned proportion factor is shown, which allows to observe the four subpopulations presenting the instars, more clearly. Nevertheless, a small overlap between the Instars I and II, and another more remarkable one between the Instars II and III are observed. For this reason, this factor was used in the following phase of investigation consisting in the elaboration of a discriminant analysis (SAS, 1988). By means of this, the values of the proportion factors belonging to each of the instars were grouped, and the means and the standard deviations were calculated (Table 1). With this information, the normal curves (Figure 4) representing the four instars and their relative positions were attained, and the height value of the normal curves was calculated by means of a language C program (Borland International, 1985), which was graphed with Harvard Graphics (Software Publishing Corporation, 1990).

Table 2 contains the minimum and maximum values of the proportion factor of each instar, which may be used for practical purposes to identify the instars. Observe that

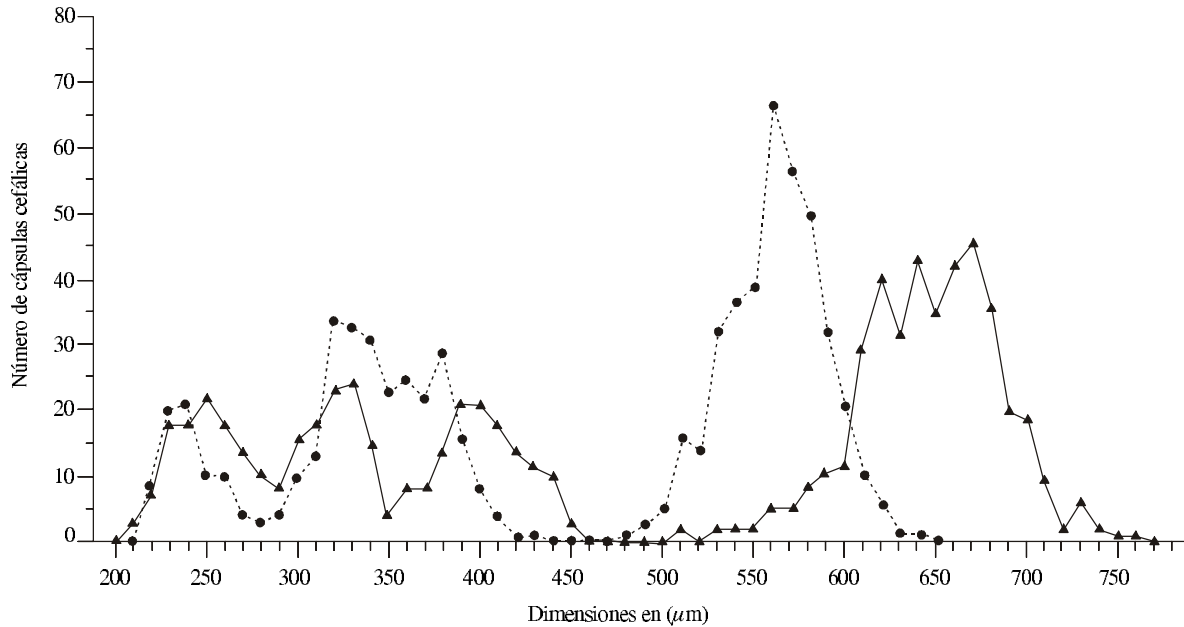


Figura 2. Distribución de frecuencias de las medidas de anchura (▲) y de longitud (●) de las cápsulas cefálicas de *Z. subfasciatus*.
Figure 2. Frequency distribution of the measures of width (▲) and length (●) of the cephalic capsules of *Z. subfasciatus*.

se debieron haber mostrado; los valores de esta variable que representan a los Ínstares I y IV están bien diferenciados, pero no así los correspondientes a los Ínstares II y III; esto significa que hay un fuerte traslapeo entre las medidas de estos dos últimos ínstaes, lo cual no concordó con la hipótesis planteada. Respecto a la longitud, la Figura 2 sí muestra diferenciadas a las subpoblaciones que corresponden a los cuatro ínstaes, aunque en este caso hay un traslapeo entre los Ínstares I y II, lo cual tampoco concordó con la hipótesis.

Como las distribuciones de frecuencias de las medidas independientes de anchura y longitud de las cápsulas cefálicas no diferenciaron con toda claridad a los cuatro ínstaes, surgió la idea de usar un “Factor de Proporción”, obtenido de la multiplicación de la longitud por la anchura de cada ejemplar, el cual no debe considerarse como una unidad de medida, sino como un factor que representa las dimensiones relativas de las cabezas de los diversos ínstaes.

En la Figura 3 se muestra la distribución de frecuencias de tal factor de proporción, observándose con más claridad las cuatro subpoblaciones que representan a los ínstaes; sin embargo, se observa un pequeño traslapeo entre los Ínstares I y II y otro más marcado entre los Ínstares II y III. Por esta razón, se usó este factor en la siguiente fase de investigación, que consistió en la elaboración de un análisis discriminante de SAS (1988), mediante el cual se agruparon los valores de los factores de proporción pertenecientes a cada uno de los ínstaes y se calculó las medias y desviaciones estándar (Cuadro 1). Con esta información se obtuvieron las curvas normales

the limits between the instars are not separated; this happens, as can be seen in Figure 4, because the curves overlap between Instars I and II, and between II and III. Though the Instars III and IV did not overlap in their real measures, theoretically there is an overlap, as the extremes of the normal curves extend asymptotically; therefore the intersection point between III and IV was considered the limit between these subpopulations. Thus, the limits between the instars are values calculated by the discriminant analysis. Only the minimum value of Instar I and the maximum of Instar IV are the extremes observed under the microscope.

Since the instars were not totally separated, as had been assumed in the hypothesis, we calculated the probabilities of overlapping between them. Therefore we supposed that the average and the standard deviation (Table 1) are the values of the two parameters, μ and σ respectively. So the following equation (Infante and Zárate, 1986) was used:

$$P[X > X_0] \cong \left[Z > \frac{X_0 - \mu}{\sigma} \right]$$

Where X is a normal variable with the average μ and the standard deviation σ ; X_0 is the value of the X where the normal curves cross, and Z is the standard normal.

These values (Figure 4), in terms of probability, mean that the probability (P_2) of an individual of Instar I confusing or grouping with one of the second is approximately 3 individuals per thousand, and one of the second

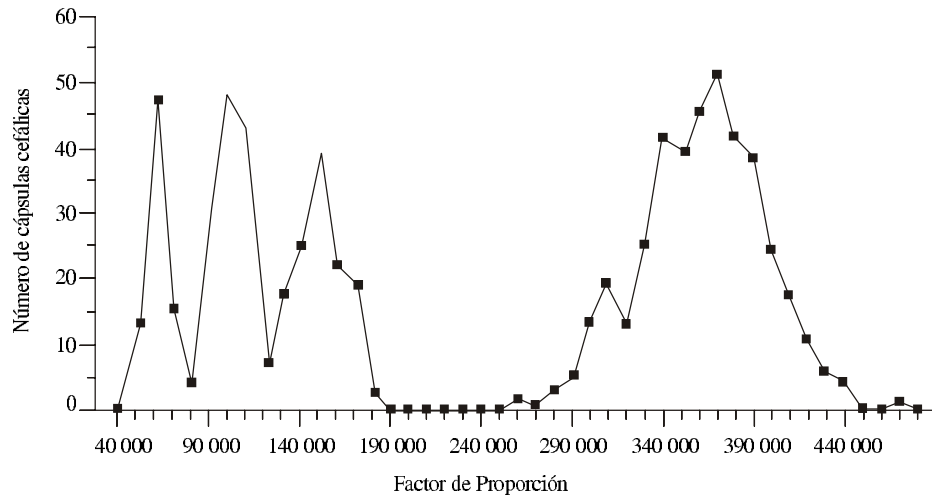


Figura 3. Distribución de frecuencias del Factor de Proporción de las cápsulas cefálicas de *Z. subfasciatus*.
Figure 3. Frequency distribution of the Proportion Factor of the cephalic capsules of *Z. subfasciatus*.

(Figura 4) que representan a los cuatro ínstaes y sus posiciones relativas, y se calculó el valor de la altura de las curvas normales con un programa en lenguaje C (Borland International, 1988), que se graficó con Harvard Graphics (Software Publishing Corporation, 1990).

El Cuadro 2 contiene los valores mínimos y máximos del factor de proporción de cada ínstar, los que se pueden usar para fines prácticos en la identificación de ínstaes. Nótese que los límites entre los ínstaes no están separados; esto es porque, como se ve en la Figura 4, las curvas se traslapan entre los Ínstaes I y II, y entre II y III. Aunque los Ínstaes III y IV no se traslaparon en las medidas reales, teóricamente sí hay un traslapo, debido a que los extremos de las curvas normales se extienden de manera asintótica; por esto se consideró el punto de intersección entre III y IV como límite entre estas subpoblaciones. Los límites entre los ínstaes son, pues, valores calculados por el análisis discriminante. Sólo el valor mínimo del Ínstar I y el máximo del Ínstar IV son los extremos observados al microscopio.

Debido a que los ínstaes no estaban totalmente separados, como se había supuesto en la hipótesis, se procedió entonces a calcular las probabilidades de traslapo entre

ínstar confusing with one of the first is near 4 individuals per thousand (P_1). The probability (P_4) that an individual of the second instar confuses with one of the third is approximately 12 individuals in a thousand, and that one of the third instar confuses with one of the second is near 19 individuals per thousand (P_3). The probability (P_6) that an individual of Instar III confuses with one of the fourth instar and viceversa (P_5) are practically zero.

It is probable that the problems to differentiate the instars by measuring the cephalic capsules, which have come forth up to now, may have been caused by one of the following reasons: 1) Only the width has been measured, following the method of Dyar's rule; 2) The number of samples representing the population, as at El-Achkar *et al.* (1991), was not sufficient; 3) Often the head width has not been measured precisely (confusing the width of the capsules with the mandibles), or it has not clearly been explained what had been measured, as in the case of González *et al.* (1984).

The results of this research were achieved due to the fact that cephalic capsules were measured by means of digitized images, which is recommended to determine the dimensions of any insect structure more precisely.

Cuadro 1. Medias y desviaciones estándar del Factor de Proporción de las cápsulas cefálicas de *Z. subfasciatus*, según el Análisis Discriminante de SAS (1988).

Table 1. Means and standard deviations of the Proportion Factor of the cephalic capsules of *Z. subfasciatus*, according to the Discriminant Analysis (SAS, 1988).

Ínstar	Media	Desviación estándar
I	56 651	6 354
II	97 558	9 064
III	146 039	13 567
IV	357 229	34 578

Cuadro 2. Valores mínimos y máximos del Factor de Proporción calculados de las cápsulas cefálicas de los cuatro ínstaes de *Z. subfasciatus*.

Table 2. Calculated minimum and maximum values of the Proportion Factor of the cephalic capsules of the four instars of *Z. subfasciatus*.

Ínstar	Mínimo	Máximo
I	47 722	74 100
II	74 100	118 000
III	118 000	207 700
IV	207 700	461 084

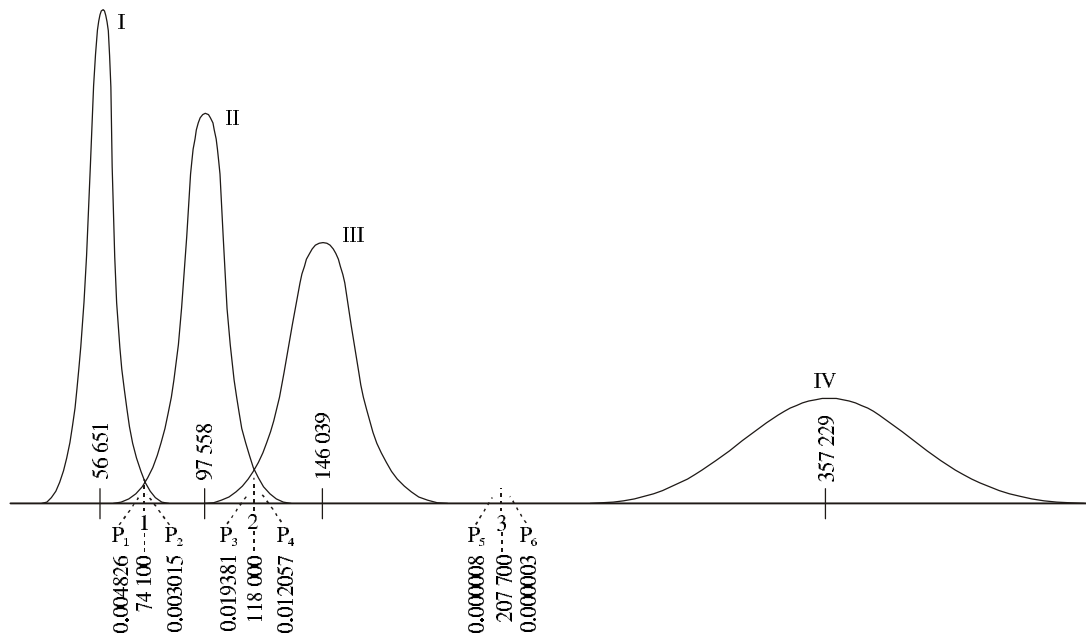


Figura 4. Curvas normales que representan la distribución del Factor de Proporción de las cápsulas cefálicas de los cuatro ínstaes de *Z. subfasciatus*, las medias, los puntos de intersección (1, 2 y 3) entre las curvas y sus probabilidades de traslapo (P_1 a P_6).

Figure 4. Normal curves presenting the distribution of the Proportion Factor of the cephalic capsules of the four instars of *Z. subfasciatus*, the means, the intersection points (1, 2, and 3) between the curves, and their probabilities of overlapping (P_1 to P_6).

ellos. Para esto se hizo la suposición que la media y la desviación estándar (Cuadro 1) son los valores de los parámetros μ y σ respectivamente, por lo que se usó la ecuación (Infante y Zárate, 1986):

$$P[X > X_0] \cong \left[Z > \frac{X_0 - \mu}{\sigma} \right]$$

donde: X es una variable normal con media μ y desviación estándar σ ; X_0 es el valor de la X donde se cruzan las curvas normales; y Z es la normal estándar.

Estos valores (Figura 4), en términos de probabilidad, significan que: la probabilidad (P_2) de que un individuo del primer ínstar se confunda o agrupe con uno del segundo es aproximadamente de 3 individuos en mil, y que uno del segundo ínstar se confunda con uno del primero es cerca de 4 individuos en mil (P_1). Para el segundo ínstar, la probabilidad (P_4) de que un individuo de este ínstar se confunda con uno del tercero es de aproximadamente 12 individuos en mil, y de que uno del tercer ínstar se confunda con uno del segundo es próximo a 19 individuos en mil (P_3). Las probabilidades (P_6) de que un individuo del Ínstar III se confunda con uno del IV, y viceversa (P_5), son prácticamente cero.

Es probable que los problemas que hasta ahora ha habido para la diferenciación de ínstaes mediante las medidas de las cápsulas cefálicas, se hayan originado por alguna de las siguientes razones: 1) Se ha medido sola-

CONCLUSIONS

It was found that the Proportion Factor (multiplying the width by the length of the cephalic capsules) is useful for determining each of the larval instars of this weevil with greater precision, since the probabilities of error, locating a specimen in an instar that does not correspond, vary from 12 individuals per thousand between the Instars II and III to practically zero between the Instars III and IV. To apply the factor, it is necessary to measure precisely the most external points between the two genae (width), and the distance between the vertex and the inferior edge of the epistomal ridge (length).

—End of the English version—



mente la anchura, siguiendo el método de la regla de Dyar; 2) No se ha utilizado un suficiente número de ejemplares que represente a la población, como lo hicieron El-Achkar *et al.* (1991); 3) Con frecuencia no se ha medido con precisión la anchura de las cabezas (confundiendo la anchura de las cápsulas con las mandíbulas) o no se ha explicado claramente qué fue lo que se midió, como el caso de González *et al.* (1984).

Los resultados de esta investigación se lograron gracias a que las medidas de las cápsulas cefálicas se hicieron mediante imágenes digitalizadas, lo cual se recomienda

para determinar con mayor precisión las dimensiones de cualquier estructura de un insecto.

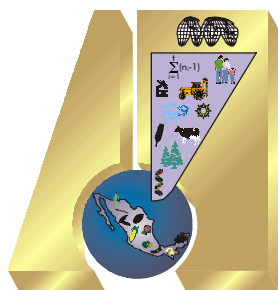
CONCLUSIONES

Se encontró que el Factor de Proporción (multiplicación de la anchura por la longitud de las cápsulas cefálicas) es útil para determinar con mayor precisión cada uno de los instares larvales de este gorgojo, ya que las probabilidades de error de ubicar un espécimen en un instar que no le corresponde varían desde 12 individuos en mil entre los Instares II y III, a prácticamente cero entre los Instares III y IV. Para aplicarlo se deben medir con precisión, los puntos más externos entre las dos genas (anchura), y la distancia entre el vertex y el borde inferior de la cresta epistomal (longitud).

LITERATURA CITADA

Beck, S. D. 1950. Nutrition of the European corn borer, *Pyrausta nubilalis* (Hbn.). II. Some effects of diet on larval growth characteristics. *Physiol. Zool.* 23: 353-361.
Borland International. 1988. Turbo C. Reference Guide, version 2.0. USA. 572 p.

Drooz, A. T. 1965. Elm spanworm head capsule widths and instars. *J. Econ. Entomol.* 58: 629-631.
Dyar, H. G. 1890. The number of molts of lepidopterous larvae. *Psyche* 5:420-2.
El-Achkar H., M. N., B. Domínguez R., J. Vera G., y R. Garza G. 1991. Respuesta de cuatro líneas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Zabrotes subfasciatus* (Boh). *Agrociencia. Serie Protección Vegetal* 2 (3): 125-135.
Fox, R. C., S. C. Anderson, and I. W. Alton. 1972. Larval head capsules of the Nantucket pine tip moth. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 65: 513-514.
González V., M., R. Roche, y M. E. Simanca. 1984. Ciclo de vida de *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae), plaga de granos almacenados. *Ciencias de la Agricultura (Cuba)* 21: 25-30.
Infante G., S. y G. Zárate de L. 1986. Métodos Estadísticos. Un Enfoque Interdisciplinario. Trillas, México. pp: 212-216.
SAS Institute. 1988. SAS/STAT User's Guide. Version 6.03. Cary, N. C. USA. pp: 359-447.
Software Publishing Corporation. 1990. Harvard Graphics 3.0. Guía de Usuario. USA. 889 p.
Steffan, J. R. 1946. Contribution a l'étude de *Zabrotes subfasciatus* Boheman. *Mein. Mus. Hist. Nat., Paris.* Tome XXI. Fascicule 2. pp: 55-84.
Taylor, R. L. 1931. On "Dyar's Rule" and its application to sawfly larvae. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 24:451-466.
Zacher, F. 1930. Untersuchungen zur Morphologie und Biologie der Samenkäfer (Bruchidae- Lariidae). *Beiträge zur Kenntnis der Vorratsschädlinge*, 6, Beitrag. *Arb. Biol. Reichsanstalt für Land- u. Forstwirtschaft, Berlin* 18: 233-284.



R e v i s t a
Agrociencia

Información adicional: *Correo electrónico:* agrocien@colpos.colpos.mx
Internet: <http://www.colpos.mx/agrocien/agrociencia.htm>

Mayor información: **DR. LEOPOLDO E. MENDOZA ONOFRE**
DIRECTOR REVISTA AGROCIENCIA
PROGRAMA DE GENÉTICA
COLEGIO DE POSTGRADUADOS
IREGEP. KM. 36.5. CARRETERA MEXICO-TEXCOCO,
56230, MONTECILLO, EDO. DE MEXICO.