

## Artículo Científico

**Discriminación multivariante entre machos de *Tribolium confusum* Duval y *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) usando morfometría antenal**

Multivariate discrimination between males of *Tribolium confusum* Duval and *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) using antennal morphometry

Dalmiro Cazorla-Perfetti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medicina Tropical (LEPAMET), Centro de Investigaciones Biomédicas (CIB), Decanato de Investigaciones, Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda” (UNEFM), Apartado 7403, Coro 4101, Estado Falcón, Venezuela. E-mail: lutzomyia@hotmail.com / cdalmiro@gmail.com

ZooBank: urn:lsid:zoobank.org:pub: D90DABF8-7223-4F7E-8C1E-F6342B71E7DC  
<https://doi.org/10.35249/rche.45.3.19.04>

**Resumen.** *Tribolium confusum* Duval y *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) son dos especies simpátricas de “gorgojos de la harina” muy afines morfológicamente, cuya susceptibilidad a los insecticidas es diferencial, por lo que la correcta identificación es de suma relevancia para su control y reducir el uso de pesticidas químicos. Se emplearon técnicas estadísticas de análisis multivariante para determinar si los machos de ambas especies se pueden diferenciar sobre la base de caracteres métricos cuantitativos. El análisis discriminante morfométrico demostró la diferenciación de los machos de ambas especies con un alto grado de exactitud (100%; autovalor=1.658,8; Wilks lambda= 0,001;  $p < 0,000$ ), con tan solo medir la longitud de los primeros cuatro flagelómeros antenales (F1, F2, F3, F4). Estas técnicas multivariantes constituyen herramientas taxonómicas complementarias simples, rápidas, confiables y ampliamente disponibles inclusive a nivel de campo, para distinguir con exactitud entre los especímenes machos previamente desconocidos de *T. confusum* y *T. castaneum*.

**Palabras clave:** Análisis multivariante, diferenciación, escarabajos, especies afines, plagas.

**Abstract.** *Tribolium confusum* Duval and *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) are two sympatric and morphologically close related flour beetles species, whose susceptibility to insecticides is differential. Thus, to control both species and reduce the use of chemical pesticides it is of utmost importance their correct identification. Multivariate statistical procedures were employed to determine whether the males can be discriminated on the basis of quantitative metric characters. Morphometric discriminant analysis demonstrated differentiation of the males of both species with a high degree of accuracy (100%; autovalor= 1,658.8; Wilks lambda= 0.001;  $p < 0.000$ ), by measuring just length of the first four antennal flagellum articles (F1, F2, F3, F4). These multivariate techniques are simple, rapid, reliable and widely available complementary taxonomic tools even in the field for *in situ* studies, to distinguish accurately between previously unidentified male specimens of *T. confusum* and *T. castaneum*.

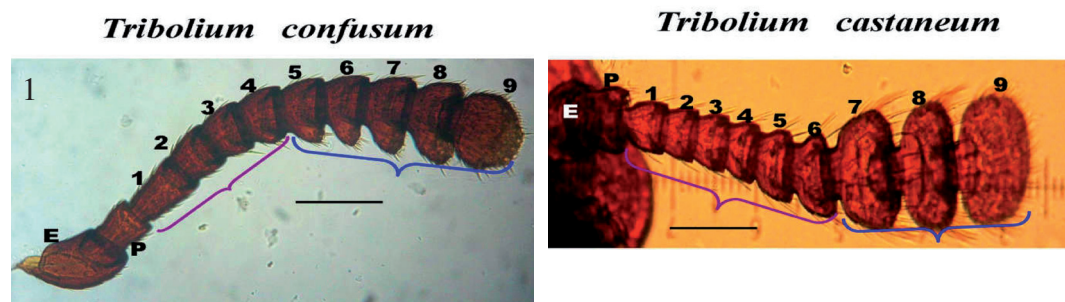
**Key words:** Multivariate analysis, differentiation, beetles, related species, pests.

Recibido 12 Mayo 2019 / Aceptado 10 Junio 2019 / Publicado online 10 Julio 2019  
Editor Responsable: José Mondaca E.

## Introducción

*Tribolium confusum* Duval, 1863 (“gorgojo confuso de la harina” o “coquito de la harina”) y *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 (“gorgojo rojo de la harina”) son dos de las cuatro especies pertenecientes al género *Tribolium* McLeay, 1825 (Coleoptera: Tenebrionidae: Ulominae), en el que los adultos son importantes plagas de granos de cereal y sus derivados amiláceos, además de otros tipos de alimentos deshidratados y almacenados (Halstead 1986; Campbell *et al.* 2004). *Tribolium confusum* es originaria de África, y actualmente presenta una distribución cosmopolita, siendo considerada una plaga exótica invasora en Venezuela. Su nombre científico se debe a que además de tener aspectos biológicos similares, los adultos se pueden confundir morfológicamente con *T. castaneum*, que es originaria de la India y también posee una distribución mundial; ambas especies se distribuyen simpátricamente, y constituyen plagas importantes de productos alimenticios almacenados (e.g. granos, harinas y cereales) (Halstead 1986; Campbell *et al.* 2004), pudiendo ser transportadoras de agentes patógenos como helmintos intestinales (*Hymenolepis nana*) (Ahmad *et al.* 2017), hongos productores de micotoxinas (Ascomycota: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*) (Yun *et al.* 2018) y/o enterobacterias (*Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni*) (Russell *et al.* 2013). Son también fuente de alérgenos (Alanko *et al.* 2000) y productores de benzoquinonas, que son sustancias potencialmente cancerígenas, citotoxicológicas e inmunotóxicas (Lis *et al.* 2011).

Para el control de las poblaciones de estas especies de insectos plaga en los sitios de almacenamiento, la aplicación de insecticidas de origen químico constituye en la actualidad la herramienta mayormente implementada. Ante el uso inadecuado e indiscriminado de estos agentes químicos, las poblaciones de *T. confusum* y *T. castaneum* han desarrollado resistencia hacia varias clases de plaguicidas que se usan contra ellas; sin embargo, dicha resistencia es diferencial tanto interespecífica como intraespecífica (estadios inmaduros y adultos) (Zettler 1991; Zhu *et al.* 2010; Ming *et al.* 2014). Además, se debe tener en consideración la toxicidad potencial de estos productos químicos tanto para el ser humano como para los demás seres vivos (Cassereau *et al.* 2017). Por lo tanto, es necesario identificar con precisión los individuos de ambas especies para asegurar la eficacia de los insecticidas, reduciéndose así el uso de los mismos y su potencial toxicidad y aparición de poblaciones de insectos resistentes (Ming *et al.* 2014). Asimismo, durante las inspecciones de rutina en la búsqueda de insectos plaga en los almacenes de granos o en las cuarentenas portuarias, se requiere realizar una identificación exacta y relativamente rápida de individuos o de sus fragmentos anatómicos, tanto de estadios inmaduros y/o adultos de estas especies de *Tribolium*, proceso que puede verse dificultado si se realiza solamente con métodos morfológicos tradicionales, especialmente si se toma en cuenta el tamaño reducido de los



**Figura 1.** Morfología antenal de *Tribolium confusum* y *Tribolium castaneum*. Los flagelómeros del flagelo están enumerados; el corchete morado señala el funículo, y el azul la maza antenal (club). E= escapo, P= pedicelo. Escala: 200  $\mu$ m

mismos y su similitud morfológica (Zhang *et al.* 2016). Similar atención y consideración taxonómica se debe tener en cuenta cuando se utilizan estas especies de gorgojos de la harina para resolver casos legales en litigios donde están involucrados productos alimenticios almacenados (entomología forense de productos almacenados) o en aquellos donde se aplican fraudulentamente los pesticidas (entomología forense urbana) (Catts y Goff 1992; Kulshrestha y Satpathy 2001).

En atención a lo comentado, entonces el proceso de identificación de *T. castaneum* y *T. confusum* con la morfología tradicional es aconsejable complementarlo con otras herramientas taxonómicas integrativas. En este sentido, por ejemplo las técnicas moleculares como la de PCR en tiempo real se han aplicado con éxito en la identificación de estadios preimaginales y adultos de ambas taxones; sin embargo, los equipos y reactivos para su implementación son muy costosos, siendo uno de sus mayores inconvenientes especialmente en los países en desarrollo para su aplicación de manera rutinaria (Zhang *et al.* 2016).

La morfometría lineal (euclidiana) aún continua siendo una herramienta de costos relativamente bajos, cuya implementación es muy asequible y fácil para personal entrenado; la misma se ha aplicado con éxito para esclarecer problemas taxonómicos y sistemáticos en varias taxones de Coleoptera, especialmente aquellos muy relacionadas morfológicamente (Talarico *et al.* 2011; Lojková *et al.* 2014; Przybycień y Waclawik 2015). En el caso particular de *Tribolium* spp., Dia *et al.* (2018) realizaron un análisis morfométrico multivariante diferencial en varias poblaciones de *T. castaneum* de acuerdo a la planta gramínea hospedante (*Panicum miliaceum* L. “mijo” y *Oryza sativa* L. “arroz”), en varios países de África Occidental. El estudio reveló diferencias morfométricas significativas entre las poblaciones según las preferencias tróficas de esta especie de gorgojo de la harina. Específicamente la morfología y morfometría antenal han sido muy útiles en la taxonomía de *Tribolium* spp., el estudio morfológico de las antenas también ha aportado información para su identificación y clasificación de los diferentes taxones (Morrone 2004; Romero-López *et al.* 2010; Smith *et al.* 2014; Martínez-Bonilla *et al.* 2015).

A la luz de toda la problemática planteada, en el presente trabajo se propone la diferenciación morfométrica multivariante entre individuos machos de *T. confusum* y *T. castaneum*, lo que permitirá complementar los estudios morfológicos tradicionales de identificación con tan solo medir cuatro flagelómeros antenales.

## Materiales y Métodos

Los adultos macho (n=90) de ambas especies se capturaron de día (8:00-12:00 hrs.) entre febrero y marzo de 2018, en el interior de un apartamento. Cuarenta y cinco ejemplares de *T. confusum* pululaban fuera de un envase plástico que contenía compost elaborado con materia orgánica vegetal (frutas y verduras); los restantes 45 especímenes de *T. castaneum* se recolectaron desde el interior de una bolsa plástica con granos de maíz infestados con este escarabajo. La vivienda se encuentra ubicada en la ciudad de Coro (11° 24' N; 69° 40' O), capital del Estado Falcón, en la región semiárida al nor-occidente de Venezuela, cuyo bioclima corresponde al tipo Monte Espinoso Tropical (Ewel *et al.* 1976). Las muestras obtenidas se transportaron al Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medicina Tropical (LEPAMET) del Área de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda” (UNEFM), Coro, Estado Falcón, Venezuela. Los escarabajos recolectados se sacrificaron con vapores de cloroformo y se estudiaron bajo estereoscopio binocular Carl Zeiss Stemi DRC. Adicionalmente, se diseccionaron las antenas y se clarificaron por 24 hrs. en solución de Nesbitt a temperatura ambiente; posteriormente, las mismas se montaron sobre portaobjetos de vidrio con líquido de Berlesse para el estudio morfo-taxonómico con microscopio de luz Carl Zeiss Axiostar

Plus (Young y Duncan 1994). Se realizaron mediciones ( $\mu\text{m}$ ) de las longitudes de los nueve flagelómeros (F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9) de las antenas (Tabla 1), con el ocular del microscopio previamente calibrado.

Para la identificación morfológica (alfa taxonomía) de los adultos se utilizaron las claves de Bousquet (1990), Pereira y Almeida (2001) y Smith *et al.* (2014).

## Análisis estadísticos

Se implementaron métodos estadísticos multivariantes, los cuales a diferencia de los univariantes, tienen la ventaja de poder comparar simultáneamente numerosos caracteres, pudiéndose descartar los menos relevantes (Morrison 1967; Crisci y López 1983). Las medidas se transformaron en sus logaritmos naturales de manera tal de igualar las varianzas entre caracteres morfométricos y los grupos de escarabajos (Jolicoeur 1963; Dia *et al.* 2018). Se empleó el Análisis de Componentes Principales (ACP) basado en la matriz de covarianza, para observar los patrones de variabilidad morfométrica entre las poblaciones de ambas especies de coleópteros. Para comparar las medias multivariantes, se aplicó el  $T^2$  de Hotelling como prueba de análisis de varianza multivariante (MANOVA) (Hammer *et al.* 2001). Finalmente, se hizo un Análisis Discriminante (AD) (Análisis de variables canónicas) con las variables más significativas obtenidas en el ACP para la separación de ambas taxones, empleándose el método de *Jackknife* para evaluar la eficacia del mismo. La utilidad y validación de los caracteres seleccionados se evaluó con una prueba a ciegas (*blind test*), usándose una mezcla de individuos de ambas especies de escarabajos no empleados en el AD, incluyendo 15 ejemplares de *T. confusum* y 15 ejemplares de *T. castaneum*. Adicionalmente, se realizó un análisis de agrupamiento (*cluster analysis*) basado en matrices de distancia euclidiana, las cuales se usaron para construir un dendrograma por el método de media aritmética ponderada (UPGMA) (Crisci y López 1983; Hammer *et al.* 2001). Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico PAST versión 3.18 (Hammer *et al.* 2001).

## Resultados

Los dos primeros componentes (CP) del ACP explicaron el 99,45% de la varianza total. El Componente Principal 1 (CP1) explicó el mayor porcentaje de la varianza (CP1= 99,24%), y los autovectores variaron positivamente, teniendo mayor influencia de F1, F2, F3 y F4 (Tabla 2). El Componente Principal 2 (CP2) explicó el 0,24% de la varianza, ejerciendo la mayor influencia también por las variables F1, F2, F3 y F4 (Tabla 2). Tal como se observa en la Fig. 2, los individuos machos de ambas especies se separaron perfectamente en el morfoespacio del CP. La aplicación de MANOVA ( $T^2$  Hotelling) reveló diferencias altamente significativas entre los vectores medios ( $T^2=72,263$ ;  $F=16,197$ ;  $p<0,0000$ ), indicando que las cuatro variables morfométricas seleccionadas son adecuadas para discriminar entre los machos de *T. confusum* y *T. castaneum*. Con la selección y utilización de las cuatro variables F1, F2, F3 y F4 en el AD, se obtuvieron dos grupos fenéticos bien definidos y sin solapamiento, correspondiendo a los individuos machos de ambas especies de *Tribolium* (Fig. 3). Estas cuatro variables morfométricas permitieron una identificación perfecta de los individuos (100%; autovalor=1.658,8; Wilks lambda= 0,001;  $p<0,000$ ). En la prueba de validación a ciegas (*blind test*), el 100% de los especímenes fueron identificados correctamente (Fig. 4). Tal como se muestra en el dendrograma (Fig. 5), los especímenes de ambas especies presentaron una amplia separación fenética, aunque se debe señalar que en cada grupo de especies se observó variación intraespecífica, conformándose al menos dos morfogrupos bien definidos.

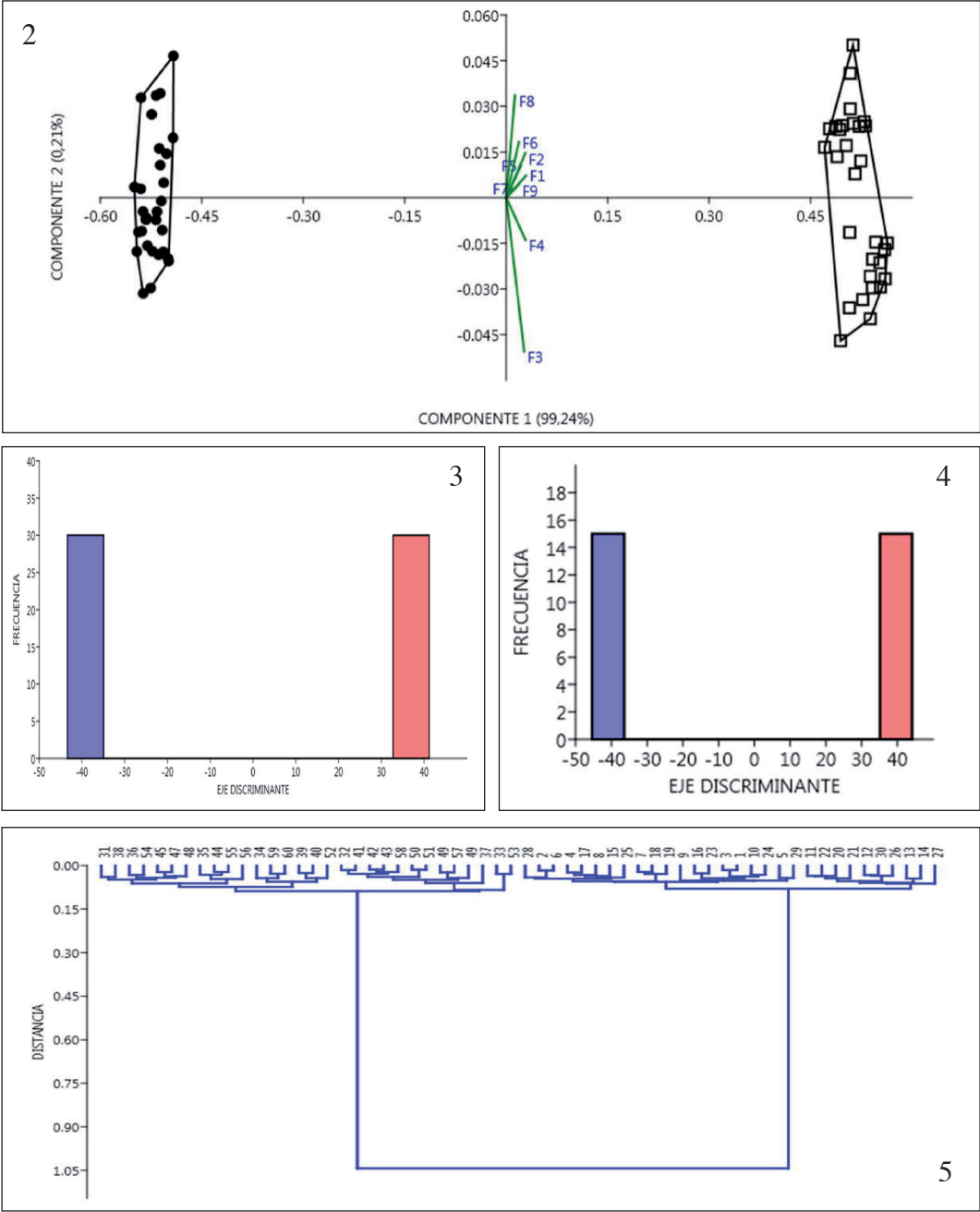
**Tabla 1.** Longitudes ( $\mu\text{m}$ ) de nueve caracteres morfológicos de machos de *Tribolium castaneum* (n=30) y *Tribolium confusum* (N=30). Media aritmética ( $\bar{X}$ ), desviación estándar (D.E.) y coeficiente de variación (CV), y los valores mínimo y máximo.

|                                               | $\bar{X}$ | D.E  | Mínimo | Máximo | Coeficiente de variación (CV) |
|-----------------------------------------------|-----------|------|--------|--------|-------------------------------|
| <b>Flagelómero <i>Tribolium castaneum</i></b> |           |      |        |        |                               |
| 1                                             | 62,23     | 1,27 | 59,5   | 64,0   | 2,04                          |
| 2                                             | 49,26     | 1,67 | 46,0   | 52,0   | 3,39                          |
| 3                                             | 49,20     | 1,62 | 47,5   | 52,5   | 3,30                          |
| 4                                             | 49,93     | 1,32 | 47,5   | 52,0   | 2,65                          |
| 5                                             | 60,02     | 2,36 | 57,0   | 63,5   | 3,94                          |
| 6                                             | 67,79     | 2,65 | 63,5   | 71,5   | 3,91                          |
| 7                                             | 99,11     | 1,39 | 96,5   | 102,2  | 1,40                          |
| 8                                             | 91,66     | 6,58 | 85,0   | 103,5  | 7,17                          |
| 9                                             | 106,92    | 1,74 | 104,5  | 110,0  | 1,63                          |
| <b><i>Tribolium confusum</i></b>              |           |      |        |        |                               |
| 1                                             | 175,05    | 0,65 | 173,5  | 177,0  | 0,37                          |
| 2                                             | 134,22    | 3,05 | 130,0  | 138,0  | 2,28                          |
| 3                                             | 125,83    | 9,44 | 115,0  | 137,5  | 7,50                          |
| 4                                             | 137,03    | 9,10 | 125,0  | 147,5  | 6,64                          |
| 5                                             | 129,76    | 7,10 | 120,0  | 138,5  | 5,43                          |
| 6                                             | 131,28    | 4,21 | 125,0  | 136,5  | 3,21                          |
| 7                                             | 139,15    | 3,15 | 134,0  | 143,5  | 2,26                          |
| 8                                             | 144,63    | 3,68 | 137,5  | 147,5  | 2,55                          |
| 9                                             | 205,15    | 1,98 | 202,0  | 208,0  | 0,97                          |

**Tabla 2.** Porcentaje de varianza total explicada y coeficientes estandarizados de los dos primeros autovectores (CP) de 9 mediciones de flagelómeros antenales del ACP en machos de *Tribolium confusum* y *Tribolium castaneum*.

| Variables<br>% Varianza | CP1<br>99,24 | CP2<br>0,21 |
|-------------------------|--------------|-------------|
| F1                      | 0,43         | 0,11        |
| F2                      | 0,42         | 0,22        |
| F3                      | 0,39         | -0,74       |
| F4                      | 0,42         | -0,21       |
| F5                      | 0,32         | 0,16        |
| F6                      | 0,28         | 0,27        |
| F7                      | 0,14         | 0,04        |
| F8                      | 0,19         | 0,49        |
| F9                      | 0,27         | 0,06        |





**Figuras 2-5.** 2. Proyección de machos de *Tribolium confusum* (□) (n=30) y *Tribolium castaneum* (●) (n=30) y caracteres morfológicos (biplot) en los dos primeros componentes principales. F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9 corresponden a los flagelómeros antenales. 3. Ubicación de machos de *Tribolium confusum* (barra rosada) y *Tribolium castaneum* (barra azul) en eje discriminante, usando 4 caracteres morfológicos antenales (F1, F2, F3, F4) más influyentes seleccionados en ACP. 4. Ubicación de machos de *Tribolium confusum* (barra rosada) y *Tribolium castaneum* (barra azul) en eje discriminante, usando cuatro caracteres morfológicos antenales (F1, F2, F3, F4) más influyentes en la prueba de validación (blind test). 5. Dendrograma construido por UPGMA basado en matrices de distancia euclidiana para machos de *Tribolium confusum* (31-60) y *Tribolium castaneum* (1-30). Coeficiente de correlación cofenética= 0,999.

## Discusión

El presente estudio aparece como el primero que se realiza para investigar si la morfometría lineal se puede aplicar como herramienta complementaria para diferenciar especímenes machos de *T. castaneum* y *T. confusum*. Con la implementación del análisis morfométrico multivariante, se pudo demostrar que con las mediciones de tan solo cuatro segmentos antenales se pueden separar los machos de ambas especies de una manera confiable y exacta, en el 100% de los casos. Esto permite que se puedan ahorrar recursos económicos y tiempo al no requerir la utilización de métodos bioquímicos/moleculares. En futuros trabajos, se hace necesario realizar este tipo de análisis morfométricos en los estadios preimaginales (larvas, pupas) y las hembras de estas especies.

La separación de ambas especies mediante morfometría antenal pareciera corroborar los estudios hechos en otros taxones de coleópteros, donde se demuestra que los artejos de las antenas son útiles para ser usados en estudios taxonómicos del grupo (Morrone 2004; Romero-López *et al.* 2010; Smith *et al.* 2014; Martínez-Bonilla *et al.* 2015). Por otra parte, aparece como una gran ventaja que solo se requiere de las antenas para alcanzar la diferenciación exacta e inmediata de individuos de *T. castaneum* y *T. confusum*, debido a que las restantes partes del cuerpo de los coleópteros se pueden almacenar para realizar otra clase de estudios enmarcados dentro de la taxonomía integrativa de estos taxones (Dayrat 2005), como por ejemplo los de tipo genético y/o bioquímicos.

Llama la atención las diferencias morfométricas intraespecíficas detectadas dentro de cada especie de *Tribolium* estudiada, con la conformación en cada caso de hasta dos morfogrupos bien definidos, tal como se observó especialmente en el dendrograma; posiblemente estas diferencias se deban a adaptaciones locales de tipo alimentario. Esta aseveración pudiera encontrar apoyo en el trabajo de Día *et al.* (2018), quienes detectaron diferentes morfogrupos dados por la talla y la forma, a nivel trófico (arroz versus mijo) en poblaciones de *T. castaneum* recolectadas en varios países del oeste de África, lo que dichos autores interpretaron como una posible adaptación morfológica del insecto a la dieta de la planta hospedante o una expresión fenotípica de una nueva cepa genética. Sin embargo, para llegar a conclusiones más certeras se requiere realizar estudios bajo condiciones controladas de laboratorio, pudiéndose determinar el efecto de variables ambientales como la dieta o cualquier otra (*e.g.* temperatura, densidad) o las de tipo genético sobre las medidas y formas de las antenas en las poblaciones de *T. castaneum* y *T. confusum*.

El procedimiento estadístico multivariante aplicado en el presente trabajo, hace potencialmente viable contar *in situ* con un mecanismo de identificación automatizado y preciso complementario a los procesos taxonómicos morfológicos tradicionales en machos y por extensión a estados preimaginales y hembras de *T. castaneum* y *T. confusum*. En efecto, estos procedimientos serían más factibles de aplicar durante las inspecciones en los sitios de almacenamiento de alimentos y granos y/o las cuarentenas portuarias, especialmente en los países con presupuestos limitados. Lo anterior debido a: *i*) la amplia disponibilidad de potentes computadores y paquetes estadísticos *ad hoc*; *ii*) mediciones de tan solo cuatro caracteres antenales obtenidos a partir de procesos de montaje simples y *iii*) no se requiere de técnicas equipos costosos, como en el caso de las bioquímicas/moleculares.

## Conclusiones

Con tan solo medir cuatro artejos antenales, el análisis morfométrico multivariante permitió en un 100% de los casos la discriminación exacta, relativamente rápida y a bajos costos entre ejemplares machos de *T. castaneum* y *T. confusum*.

## Agradecimientos

A Pedro Morales (LEPAMET, Falcón, Venezuela) por asistencia técnica en las fotografías.

## Literatura Citada

- Ahmad, A., Ngui, R., Ong, J., Sarip, F., Ismail, W., Omar, H., Nor, Z., Amir, A., Lim, Y. y Mahmud, R. (2017) Case Report: A symptomatic case of *Hymenolepis diminuta* Infection in an urban-dwelling adult in Malaysia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97(1): 163-165.
- Alanko, K., Tuomi, T., Vanhanen, M., Pajari-Backas, M., Kanerva, L., Havu, K., Saarinen, K. y Bruynzeel, D. (2000) Occupational IgE-mediated allergy to *Tribolium confusum* (confused flour beetle). *Allergy*, 55(9): 879-882.
- Bousquet, Y. (1990) Beetles associated with stored products in Canada: An identification guide. Agriculture and Agri-Food Canada, Publication 1837, Ottawa, Ontario. Consultado 21 abril 2018. Disponible en: <http://www.escsec.ca/aafcmonographs/bousquet1990.pdf>.
- Campbell, J., Arthur, F. y Mullen, M. (2004) Insect management in food processing facilities. *Advances in Food and Nutrition Research*, 48: 240-295.
- Cassereau, J., Ferré, M., Chevrollier, A., Codron, P., Verny, C., Homedan, C., Lenaers, G., Procaccio, V., May-Panloup, P. y Reynier, P. (2017) Neurotoxicity of Insecticides. *Current Medicinal Chemistry*, 24(27): 2988-3001.
- Catts, E. y Goff, M. (1992) Forensic entomology in criminal investigations. *Annual Review of Entomology*, 37: 253-272.
- Crisci, J. y López, M. (1983) Introducción a la Teoría y Práctica de la Taxonomía Numérica. Monografía 26, Serie de Biología, Programa de Monografías Científicas, OEA. Washington D.C., EUA. 128 pp.
- Dayrat, B. (2005) Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of The Linnean Society*, 85: 407-415.
- Dia, C., Sarr, A., Kafom, A., Ngom, D., Diome, T., Thiaw, C., Ndiaye, S. y Sembene, M. (2018) Morphological identification of trophic *Tribolium castaneum* populations Herbst (Coleoptera, Tenebrionidae) in West Africa. *International Journal of Advanced Research*, 6(1): 203-216.
- Ewel, J., Madriz, A. y Tosi Jr, J. (1976) Zonas de Vida de Venezuela. Memoria explicativa sobre el mapa ecológico. 2ª edición. Editorial Sucre. Caracas, Venezuela. 670 pp.
- Halstead, D. (1986) Keys for the identification of beetles associated with stored products. I. Introduction and keys to families. *Journal of Stored Product Research*, 22(4): 163-203.
- Hammer, Ř., Harper, D. y Ryan, P. (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1): 1-9.
- Jolicoeur, P. (1963) The multivariate generalization of the allometry equation. *Biometrics*, 19(3): 497-499.
- Kulshrestha, P. y Satpathy, D. (2001) Use of beetles in forensic entomology. *Forensic Science International*, 120(1-2): 15-17.
- Łis, L., Bakula, T., Baranowski, M. y Czarnewicz, A. (2011) The carcinogenic effects of benzoquinones produced by the flour beetle. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 14(1): 159-64.
- Lojková, S., Degma, P. y Kodada, J. (2014) Morphometry and redescription of *Parahelichus granulatus* (Delève, 1974) with description of *P. pseudogranulosus*, a new cryptic species of long-toed water beetles (Coleoptera: Dryopidae) from Indochinese peninsula, and proposal of a new synonym for *Praehelichus sericatus* (Waterhouse, 1881) from China. *Zootaxa*, 3852(4): 475-88.



- Martínez-Bonilla, O., Romero-López, A. y Benítez-Herrera, L. (2015)** Morfometría corporal y antenal *Macroductylus mexicanus* y *Macroductylus nigripes* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae) y descripción de sus sensilas lamelares. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Entomología (nueva serie)*, 1: 81-87.
- Ming, Q., Wang, A. y Cheng, C. (2014)** Molecular identification of *Tribolium castaneum* and *T. confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) using PCR-RFLP analysis. *Journal of Genetic*, 93(1): e17-e21.
- Morrison, D. (1967)** Multivariate statistical methods. McGraw Hill. New York, USA. 338 pp.
- Morrone, J. (2004)** Biodiversidad de Curculionioidea en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(Suppl.): 312-324.
- Pereira, P. y Almeida, L. (2001)** Chaves para a identificação dos principais Coleoptera (Insecta) associados com produtos armazenados. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18(1): 271-283.
- Przybycień, M. y Waclawik, B. (2015)** Morphometric measurements of *Bryodaemon* (Coleoptera: Curculionidae): contribution to phylogeny. *Baltic Journal of Coleopterology*, 15(2): 129-136.
- Romero-López, A., Morón, M. y Valdez, J. (2010)** Sexual dimorphism in antennal receptors of *Phyllophaga ravidia* Blanchard (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae). *Neotropical Entomology*, 39(6): 957-966.
- Russell, R., Otranto, D. y Wall, R. (2013)** Encyclopedia of Medical and Veterinary Entomology. CAB International. Wallingford, Oxon, United Kingdom. 429 pp.
- Smith, F., Angelini, D. y Jockusch, E. (2014)** A functional genetic analysis in flour beetles (Tenebrionidae) reveals an antennal identity specification mechanism active during metamorphosis in Holometabola. *Mechanisms of Development*, 132: 13-27.
- Talarico, F., Brandmayr, P., Giglio, A., Massolo, A. y Brandmayr, T. Z. (2011)** Morphometry of eyes, antennae and wings in three species of *Siagona* (Coleoptera, Carabidae). *Zookeys*, 100: 203-214.
- Young, D. y Duncan, M. (1994)** Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Memories of the American Entomological Institute, Number 54. Associated Publishers. Gainesville, Florida, USA. 881 pp.
- Yun, T.S., Park, S.Y., Yu, J., Hwang, Y. y Hong, K.J. (2018)** Isolation and identification of fungal species from the insect pest *Tribolium castaneum* in rice processing complexes in Korea. *Plant Pathology Journal*, 34(5): 356-366.
- Zettler, L. (1991)** Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* and *T. confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) from Flour Mills in the United States. *Journal of Economic Entomology*, 84(3): 763-767.
- Zhang, T., Wang, Y.J., Guo, W., Luo, D., Wu, Y., Kučerová, Z., Stejskal, V., Opit, G., Cao, Y., Li, F.J. y Li, Z.H. (2016)** DNA barcoding, species-specific PCR and real-time PCR techniques for the identification of six *Tribolium* pests of stored products. *Scientific Reports*, 6: 28494.
- Zhu, F., Parthasarathy, R., Bai, H., Woithe, K., Kaussmann, M., Nauen, R., Harrison, D.A. y Palli, S.R. (2010)** A brain-specific cytochrome P450 responsible for the majority of deltamethrin resistance in the QTC279 strain of *Tribolium castaneum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(19): 8557-8562.

