

SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO
DIVISION PROTECCION AGRICOLA
SUBDEPARTAMENTO VIGILANCIA Y CONTROL DE PLAGAS FORESTALES
Y EXÓTICAS INVASORAS

ANÁLISIS E IDENTIFICACIÓN DE DAÑOS, ESTADOS INMADUROS, ADULTOS Y ENEMIGOS NATURALES DE *Sirex noctilio* Fabricius (Hymenoptera: Siricidae)

Eladio Rojas Pérez

Ing. Agrónomo, Entomólogo. Laboratorio Regional SAG Osorno

Rodrigo Gallardo Valenzuela

*Ing. Forestal. Subdepartamento Vigilancia y Control de Plagas Forestales y
Exóticas Invasoras. Laboratorio Regional SAG Osorno*



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE AGRICULTURA
SAG

Análisis e identificación de daños, estados inmaduros, adultos y enemigos naturales de *Sirex noctilio* Fabricius (Hymenoptera: Siricidae).

Coordinación General de la Edición:
Subdepartamento Vigilancia y Control de Plagas Forestales y Exóticas Invasoras
Servicio Agrícola y Ganadero. División de Protección Agrícola.
Av Bulnes N° 140, Santiago – Chile. Web : www.sag.cl

Autores del Informe
Eladio Rojas Pérez
Rodrigo Gallardo Valenzuela

Fotografías:
Laboratorio Entomología SAG Osorno.

Edición y Diseño:
Unidad de Comunicaciones, SAG.

Primera Edición: octubre de 2005.
Tiraje: 300 ejemplares.

Los autores de esta publicación desean expresar sus más profundos agradecimientos a todos los funcionarios del Servicio Agrícola y Ganadero sin cuyo apoyo no hubiera sido posible la realización de este Manual, especialmente a los Encargados Nacionales del Subdepartamento Vigilancia y Control de Plagas Forestales Ingenieros Forestales Sres. Marcos Beéche y Pablo González, por su constante preocupación y difusión de las actividades de capacitación del cual este manual forma parte, así como de la gestión para la obtención de los recursos necesarios para financiar esta edición.

Al Ingeniero Forestal Sr. Ariel Sandoval, por sus valiosas sugerencias y correcciones en la revisión de esta publicación.

Al Director Regional del Servicio Agrícola y Ganadero de la Décima Región Sr. Alvaro Alegría y al Ingeniero Agrónomo Sr. Eduardo Godoy, Encargado Regional de Protección Agrícola SAG Décima Región, por su permanente apoyo y estímulo en el desarrollo del área de entomología forestal del Laboratorio Regional SAG-Osorno.

Al Sr. Alejandro Peña, Ingeniero Agrónomo, Jefe del Laboratorio Regional SAG-Osorno, por su interés y entusiasmo en la confección de este Manual.

Al Dr. Roberto Carrillo, profesor de Entomología de la Universidad Austral de Chile, por sus sugerencias y aportes en la elaboración del documento.

Finalmente, agradecemos a los inspectores de terreno y funcionarios de laboratorio del Servicio Agrícola y Ganadero de la Décima Región, cuyo trabajo fue fundamental para la obtención de la información y material fotográfico que se presenta en este Manual.

ÍNDICE DE MATERIAS

Capítulo	Página
AGRADECIMIENTOS	3
1. INTRODUCCIÓN	7
2. METODOLOGÍA	9
2.1. Condiciones de almacenamiento y picado de muestras	9
2.2. Observación macroscópica de la muestra	9
2.3. Análisis de orificios de ovipostura	11
2.3.1. Tipos de orificios de ovipostura	12
2.3.2. Extracción e identificación de huevos en los orificios de ovipostura	13
2.4. Análisis de larvas	15
2.4.1. Análisis externo de larvas	15
2.4.1.1. Sexaje de larvas	16
2.4.2. Análisis interno de larvas	17
2.4.2.1. Parasitismo larval por nemátodos	17
2.4.2.2. Parasitismo larval por <i>Ibalia</i> sp.	18
2.5. Análisis de pupas	21
2.5.1. Análisis externo de pupas	21
2.5.2. Análisis interno de pupas	22
2.6. Análisis de adultos	22
2.6.1. Ubicación taxonómica de <i>S. noctilio</i>	22
2.6.1.1. Clave para géneros de insectos adultos de la familia Siricidae	22
2.6.1.2. Clave para especies del género <i>Sirex</i>	25
2.6.2. Análisis externo de adultos	26
2.6.3. Análisis interno de adultos	27
2.7. Análisis de orificios de emergencia y galerías larvales	32
3. BIBLIOGRAFÍA	34
ANEXOS	37
Anexo 1. Materiales y equipos	37
Anexo 2. Glosario	39
Anexo 3. ea/l-22 Instructivo para la preparación y montaje de larvas	42

1. INTRODUCCIÓN

Sirex noctilio Fabricius, conocido comúnmente como avispa taladradora de los pinos, constituye hoy en día la plaga cuarentenaria forestal más importante para Chile. En los últimos 11 años esta especie ha sido interceptada, en embalajes de madera en 57 oportunidades, 15 de las cuales fueron realizadas en el año 2005, además especies del género *Sirex* fueron interceptadas en 72 oportunidades, lo cual implica que es necesario un protocolo de identificación, que pueda ser utilizado fácil y rápidamente. Por otra parte, la detección de *S. noctilio* en el año 2001, por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), puso en marcha el plan de contingencia para su erradicación, correspondiendo a los laboratorios de diagnóstico en las distintas regiones hacer los análisis y determinaciones a todas las muestras originadas por las actividades de monitoreo de la plaga, tales como las capturas realizadas en trampas, las prospecciones a árboles aislados, cortinas cortaviento y rodales y las parcelas cebo cosechadas.

Este documento pretende armonizar los criterios y metodologías de análisis realizados en laboratorio para la identificación de *S. noctilio*, indicando los materiales y equipos requeridos para los diferentes análisis (Anexo 1), inspección visual de las muestras, orificios de ovipostura y huevos, características que permiten la identificación de cada uno de los estados de desarrollo del insecto, así como el análisis de la condición interna de ellos, la determinación de enemigos naturales asociados y el análisis de muestras cuando los signos no son evidentes y se requiere una determinación correcta del agente, para la toma de decisiones por parte de la División de Protección Agrícola del SAG. Se ha puesto énfasis en la diferenciación taxonómica de *S. noctilio* con *Urocerus gigas* Linnaeus, debido a que ambos insectos pertenecen a la misma familia y presentan similitudes morfológicas y fisiológicas que pueden conducir a error en la identificación cuando no existe suficiente experiencia e información. Los diferentes análisis han sido apoyados en literatura relevante a los fines de diagnóstico, lo que ayudará también a comprender mejor algunos factores involucrados en el estudio de la biología del insecto. Finalmente, se ha incluido un glosario de términos utilizados en este documento (Anexo 2).

2. METODOLOGÍA

2.1. Condiciones de almacenamiento y picado de muestras

Las muestras consistentes en trozos de madera deben ser mantenidas en un lugar seguro y ventilado. Se recomienda almacenarlas en un lugar bien cerrado y realizar el picado en una sala protegida con malla mosquitera (Fig. 1), de tal manera que al realizar el corte con motosierra (Fig. 2) se evite tanto el escape de los insectos como la acumulación del humo emanado por la combustión de la motosierra en la sala.



FIGURA 1
Sala de picado de muestras.

2.2. Observación macroscópica de la muestra

Las muestras de trozos de árboles deben ser revisadas externamente tomando nota de su estado, es decir, si se encuentra con daño reciente o con algún grado de descomposición, lo que ayudará al diagnóstico para una aproximación al período en que fue infestado y orientará el tipo de análisis a realizar. La muestra puede tener signos de ataque recientes, tal como la resinación y ovipostura, o más antiguos, tales como la presencia de insectos al interior del leño ya sea vivos, muertos, descompuestos o momificados, al estado de huevo, larva, pupa o adulto (Fig.3, Fig. 4, Fig.5, Fig.6, Fig. 7). En el caso de daños muy antiguos, la madera presenta una apariencia oxidada o en proceso de descomposición siendo posible encontrar material enmohecido, momificado o totalmente degradado, dando lugar a diferentes sucesiones ecológicas de diferentes especies de insectos que pueden ocupar un período determinado en el proceso de degradación y en con-



FIGURA 2
Corte de trozo con motosierra.

secuencia indicar qué lugar le correspondió al insecto estudiado. Como ejemplo, *S. noctilio* se asocia generalmente a árboles débiles, enfermos, moribundos o suprimidos, mientras que otros insectos se asocian a madera muerta y otros a madera en descomposición, todos estos sucesos tardan distintos períodos de tiempo y suelen ocurrir desplazados cronológicamente.



FIGURA 3
Larvas al interior de trozo de madera.



FIGURA 4
Machos muertos de *S. noctilio*.

FIGURA 5
Galerías de *S. noctilio*.



FIGURA 6
Hembra de *S. noctilio* enmohecida.



FIGURA 7
Hembra momificada de *S. noctilio* al interior de la madera



2.3. Análisis de orificios de ovipostura

Los trozos de madera deben ser observados externamente para ver los grumos de resina producidos como respuesta del árbol al pinchazo producido por la hembra de *S. noctilio* (Fig. 8). Para ver los orificios de ovipostura, se debe remover la corteza con un cuchillo (Fig. 9, Fig. 10, Fig. 11), hasta la capa más externa de la albura. Si ha ocurrido el ataque de *S. noctilio*, el cambium muestra una tinción ovalada oscura con uno o varios orificios de ovipostura en su centro (Zondag y Nutall, 1977). Se ha observado que cuando estos pinchazos son recientes, producen decoloración alrededor de estos orificios y en caso de pinchazos de una mayor antigüedad, áreas negruzcas alrededor de estos orificios, lo que correspondería a una reacción de oxidación de los polifenoles del árbol por parte de las polifenoloxidasas del hongo asociado. Tanto la resina como los polifenoles son mecanismos de defensa del árbol (Nicholson y Hammerschmidt, 19921). Un árbol vigoroso tiene reservas físicas y químicas adecuadas para resistir el ataque ya sea por la inundación de los orificios con resina, lo que resulta en mortalidad de huevos y larvas de primer estadio o por el aislamiento del hongo simbiótico por una barrera de polifenoles (Coutts y Dolezal, 1966).



FIGURA 8
Resinación del árbol.



FIGURA 9
Grumo de resina sobre la corteza.



FIGURA 10
Remoción de la corteza con cuchillo.



FIGURA 11
Orificio de ovipostura.

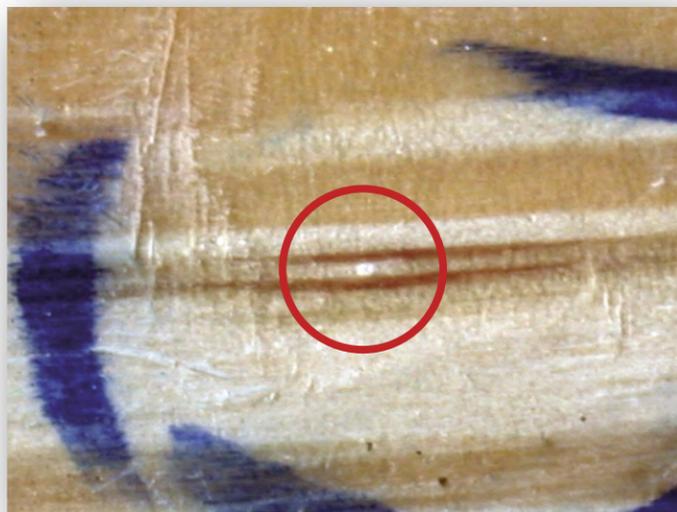


FIGURA 12
Orificio de ovipostura simple.



FIGURA 13
Orificios de ovipostura doble.



FIGURA 14
Orificios de ovipostura triple.

2.3.1. Tipos de orificios de ovipostura

Las hembras de *S. noctilio* normalmente perforan dos o más túneles, los cuales se ramifican a partir de un orificio común de entrada en la corteza (Coutts y Dolezal, 1969). Estos orificios o barrenaduras de ovipostura pueden ser simples (Fig.12), dobles (Fig.13), triples (Fig. 14) y aún cuádruples, dependiendo del contenido de humedad del árbol. En caso de observarse la presencia de estos orificios, con un lápiz marcador indeleble se debe circunscribir el lugar donde se encuentra el o los orificios de ovipostura; luego, con una motosierra se corta el trozo en rodajas de aproximadamente cinco cm haciendo coincidir el mayor número de áreas demarcadas en ellas. Posteriormente, con un hacha de mano, se deben obtener trozos pequeños de aproximadamente 2 cm de ancho (equidistante a 1 cm desde el o los orificios de ovipostura) por tres cm de longitud y dos cm de profundidad (Fig. 15) y llevar a laboratorio correctamente identificados. Esto debido a que la hembra deposita sus huevos por medio de su largo ovipositor 1 a 15 mm dentro de la madera (Gilberston, 1984).



FIGURA 15
Muestra para análisis de ovipostura.

2.3.2. Extracción e identificación de huevos en los orificios de ovipostura

En el laboratorio, se hacen cortes paralelos a la fibra con la ayuda de un cuchillo hasta aproximarse al orificio, luego, bajo lupa y con ayuda de una pinza fina de acero inoxidable y bisturí se deben retirar las fibras de madera hasta descubrir la totalidad de la extensión del orificio, pudiendo observar y extraer huevos o restos de éstos (Fig. 16, Fig. 17, Fig. 18). Cuando estos orificios son simples, raramente contienen huevos y el número de huevos por orificio aumenta con el número de orificios en un grupo (Spradberry, 1977). Los huevos de *S. noctilio* miden entre 1,4 y 1,6 mm de longitud por 0,3 mm de ancho (Fig. 19).



FIGURAS 16 Y 17
Extracción de huevos de *S. noctilio* en la madera.

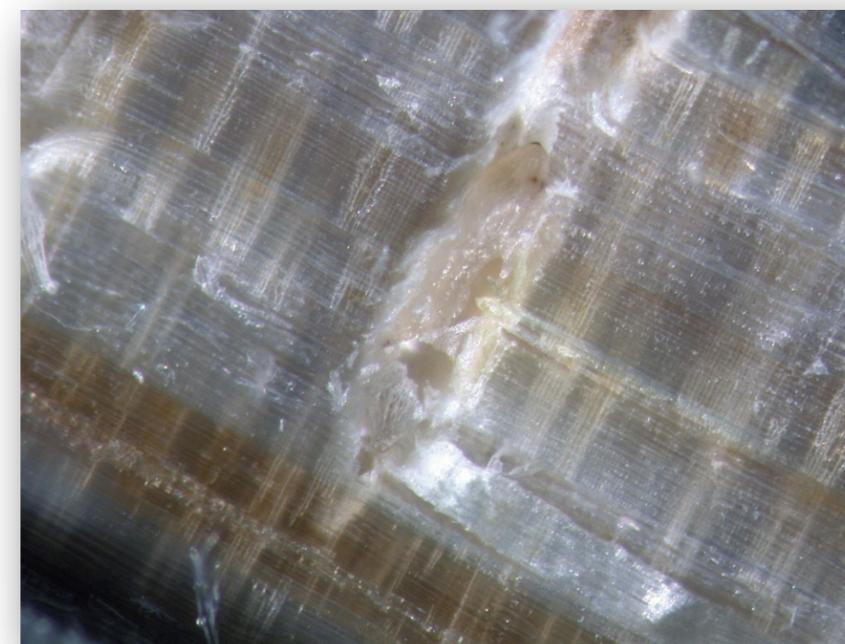


FIGURA 18
Huevo de *S. noctilio* inundado por resina.

Los orificios de ovipostura de *Urocerus* siempre son simples y relativamente largos y contienen varios huevos con el hongo *Amylostereum chailletti* (Pers.: Fr.) depositado en masas entre cada huevo (Fig. 20), mientras que cada una de las ramificaciones que nacen a partir de un orificio común en la corteza realizadas por *Sirex* contienen frecuentemente un único huevo, menos frecuentemente dos y excepcionalmente tres huevos (Fig. 21).

También son fácilmente diferenciables los huevos de *Sirex* de los de *Urocerus* debido a su forma (Fig. 22, Fig. 23) siendo los huevos de *Sirex* más alargados y puntiagudos en ambos polos y los de *Urocerus* más romos en uno de sus polos y alargado en el polo opuesto. En el extremo más romo del huevo de *Urocerus* se observa a gran resolución un área micropilar más densa y reticulada que la que presenta el huevo de *Sirex*.

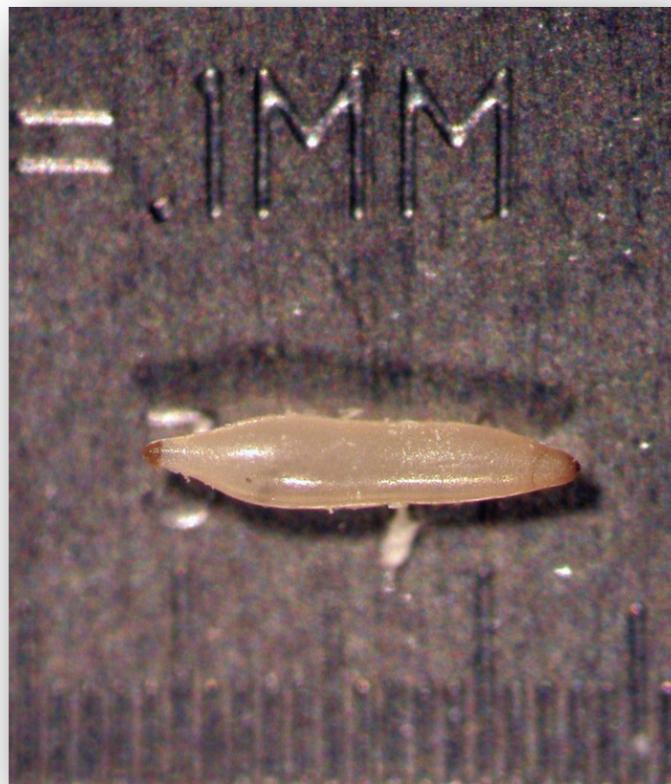


FIGURA 19
Dimensiones de un huevo de *S. noctilio*.



FIGURA 20
Ovipostura de *U. gigas*.



FIGURA 21
Ovipostura de *S. noctilio*.

Madden (1974) demostró que la habilidad de la hembra de *S. noctilio* para seleccionar su árbol hospedero estaba directamente relacionada con la presión osmótica de los fluidos del xilema. En árboles sanos y dominantes con muy alta presión osmótica de los fluidos del xilema (mayor a 16 atm) los insectos rechazaban inmediatamente el sitio después de una o dos

pruebas exploratorias. El mismo encontró que en árboles con alta presión osmótica en su corteza, realizaban orificios simples con hongo y mucus. Cortezas con presiones osmóticas intermedias contenían orificios dobles con huevos en el primer orificio y hongo y mucus en el segundo. Cortezas con bajas presiones osmóticas contenían orificios triples con huevos en los dos primeros orificios y hongo y mucus en el tercero y cortezas con muy bajas presiones osmóticas contenían orificios cuádruples con huevos en los primeros tres orificios y hongo y mucus en el cuarto.



FIGURA 22
Huevos de *U. gigas*

FIGURA 23
Huevos de *S. noctilio*

2.4 Análisis de larvas.

Cuando se encuentran larvas al interior de la muestra, éstas deben ser retiradas y manipuladas con cuidado para no deteriorarlas, para ello deben ser colocadas en frascos de plástico bien etiquetadas para su traslado al laboratorio. En él se realizará el conteo, medición y análisis externo e interno. La totalidad de las larvas deben ser contadas e identificadas individualmente, esto debido a que en un mismo leño pueden presentarse simultáneamente tanto larvas de *Urocerus* como de *Sirex*.

2.4.1 Análisis externo de larvas

La identificación taxonómica para larvas del orden Hymenoptera han sido publicadas, entre otros, por Evans *et al.* (1987) y por Chu y Cutkomp (1992). Algunos rasgos generales, distintivos de estos insectos, se resumen a continuación:

Larva generalmente ápoda, de cuerpo recto, relativamente uniforme en diámetro en toda su extensión y usualmente con un espiráculo en el pro y mesotórax	Orden Hymenoptera
Cuerpo en forma de oruga; patas torácicas presentes o rudimentarias, mancha ocular presente, a menudo con ocelos. Larvas principalmente de vida libre y barrenadoras de madera	Sub-orden Symphyta
Larvas maduras grandes (sobre 20 mm de longitud), antena con uno a tres segmentos con setas en el segmento basal, presencia de postcornus dirigido posteriormente.	Familia Siricidae

Las larvas de *Sirex*, al igual que las de otras especies de la familia Siricidae, son cilíndricas de color blanco cremoso, tienen tres pares de patas torácicas vestigiales, mandíbulas dentadas fuertemente pigmentadas y una espina supra anal pigmentada llamada también post-cornus (postcornus) que mantienen durante todo su desarrollo larval (Morgan, 1968). Su tamaño es variable, alcanzando al final de su último estadio larval aproximadamente 3 cm de longitud. La

presencia de un gran número de cerdas delgadas, generalmente más de 25, en el área lateral anterior al postcornus (Fig. 24) y la presencia de tres segmentos antenales (Fig. 25) permiten distinguir estas larvas de *Sirex* de las larvas de *Urocerus*, donde las cerdas son más gruesas y raras, generalmente menos de siete, en dicha área (Fig.26) y la falta de segmentación en la antena (Fig.27). Un análisis detallado de los caracteres morfológicos que permiten diferenciar entre larvas de *S. noctilio* y *U. gigas* han sido proporcionados por Beeche y Muñoz (1991).

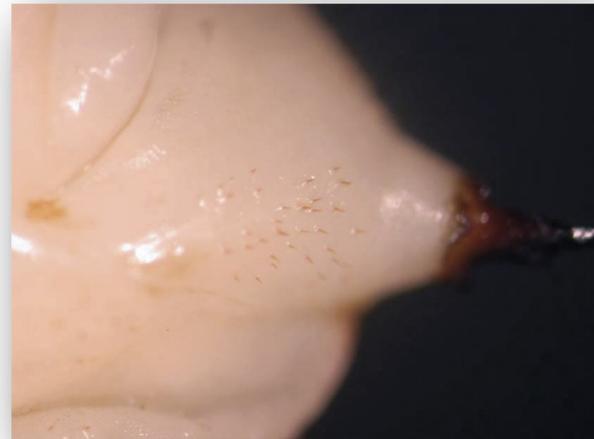


FIGURA 24
Pilosidad supra-anal en larva de *S. noctilio*.

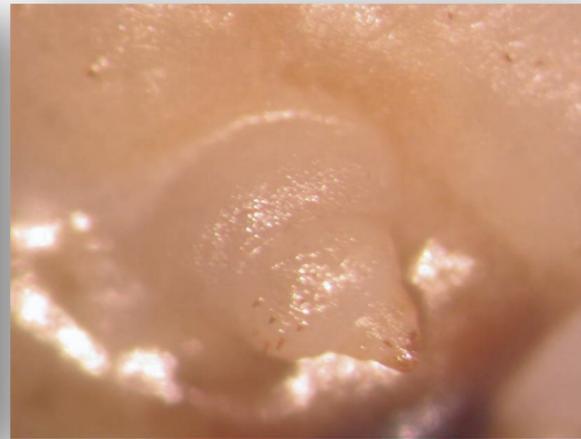


FIGURA 25
Antena de larva de *S. noctilio*.



FIGURA 26
Pilosidad supra-anal en larva de *U. gigas*.



FIGURA 27
Antena de larva de *U. gigas*

2.4.1.1. Sexaje de larvas

Las larvas deben ser sexadas, para ello se observa externamente bajo microscopio estereoscópico, la zona ventral posterior circundante a la abertura anal. Las larvas macho presentan tres esclerotizaciones, dos ventrales laterales y una ventral anterior (Fig. 28), mientras que las larvas hembras presentan sólo las dos esclerotizaciones ventrales laterales y carecen de la ventral anterior (Fig. 29).

Sirex noctilio es un insecto con reproducción arrenotóquica, es decir, los huevos no fertilizados dan origen a machos y los huevos fertilizados dan origen a hembras (Taylor, 1981), lo cual es de gran ayuda para saber si las larvas obtenidas desde la muestra corresponden a la descendencia de una hembra fecundada o sin fecundar.

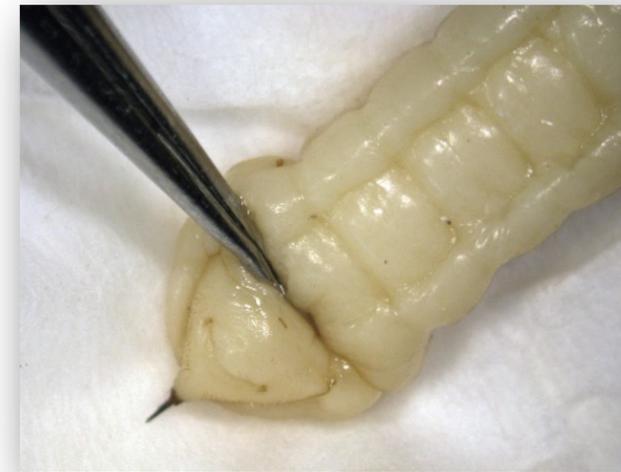


FIGURA 28
Larva macho de *S. noctilio*.



FIGURA 29
Larva hembra de *S. noctilio*

2.4.2 Análisis interno de larvas

El análisis interno de las larvas permite detectar la presencia de parásitos y parasitoides, sean éstos ecto o endoparasitoides, y/o enfermedades.

2.4.2.1 Parasitismo larval por nemátodos

Varios estudios indican que el agente de control biológico más importante para *S. noctilio* es el nemátodo *Deladenus siricidicola* Bedding (Nematoda, Neotylenchidae), descubierto en Nueva Zelanda en 1962 (Nutall, 1980). Bedding (1967, 1972, 1984) describió el ciclo de vida de estos nemátodos, el cual involucra un gran dimorfismo de las hembras, las que desarrollan una fase micetófaga de vida libre y una fase parasítica. Externamente, las larvas parasitadas del insecto presentan pequeñas cicatrices circulares de color café oscuro en la cutícula (Fig. 30) y al disectar una larva de *S. noctilio* parasitada por una raza efectiva del nemátodo se pueden contabilizar hasta 100 nemátodos hembras de entre 5 y 25 mm de longitud, muchas de las cuales son de coloración verdoso brillante (Fig. 31).

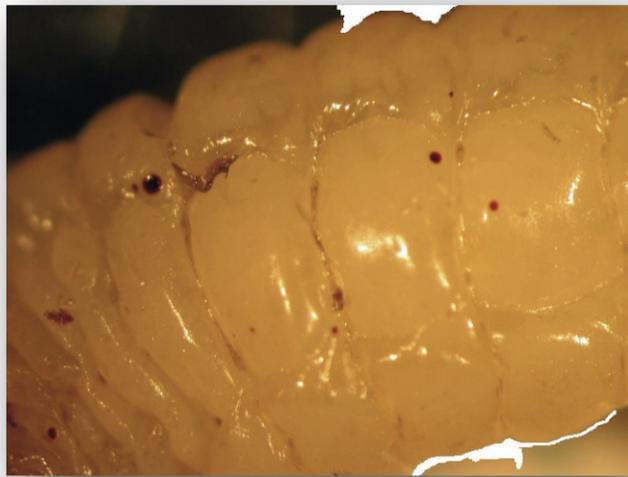


FIGURA 30

Larva de *S. noctilio* con cicatrices en los orificios por los cuales ingresó *D. siricidicola*.



FIGURA 31

Disección de larva parasitada por *D. siricidicola*.

2.4.2.2 Parasitismo larval por *Ibalia* sp.

El género *Ibalia* (Hymenoptera, Ibalidae), comprende varias especies conocidas por su relación parasítica sobre larvas de Sirícidos, siendo *Ibalia leucospoides* Hochenwarth, la especie más conocida por su relación con *S. noctilio*. La hembra adulta de *Ibalia* deposita sus huevos, normalmente uno, dentro del huevo o larva de primer y/o segundo estadio de *Sirex* (Madden, 1968).

El primer estadio larval es polipodeiforme. Los segmentos 1 al 12 llevan un par de procesos digitiformes y el segmento 13 es alargado (Fig. 32, Fig. 33, Fig. 34). La larva de segundo estadio no tiene los procesos (Fig. 35). El tercer estadio tiene un par de espiráculos en los segmentos 2 y 3 y es el que abandona al hospedero (Fig. 36) comenzando a barrenar hacia la superficie del tronco. El cuarto estadio larval mide aproximadamente 10 mm de longitud por 3 a 4 mm de ancho y posee 10 pares de espiráculos (Chrystal, 1930) (Fig. 37).



FIGURA 32-34

Larvas de primer estadio de *I. leucospoides*.



FIGURA 35

Larvas de *U. gigas* parasitadas por larvas de segundo estadio de *I. leucospoides*



FIGURA 36

Larva de *U. gigas* parasitada por larva de tercer estadio de *I. leucospoides*



FIGURA 37

Larva de *I. leucospoides* de cuarto estadio



FIGURA 38

Restos de larva de *U. gigas*, devorada por *I. leucospoides*

Una vez que la larva, ya sea *Sirex* o *Urocerus* ha sido devorada completamente por *Ibalia* es posible encontrar restos cuticulares disgregados en el aserrín, en el cual se distinguen restos de cápsula cefálica, mandíbulas y postcornus (Fig. 38), para identificar la especie parasitada, se procede de la misma forma que en el caso de restos de exuvias de larvas en el aserrín (capítulo 2.7), siendo factible su identificación a nivel de especie.

Una forma de preparación de las larvas de *Sirex*, válida también para otras especies de insectos se encuentra en el instructivo ea/I-22 "Instructivo para la preparación y montaje de larvas" en los laboratorios de Entomología del SAG (Anexo 3). Otra forma alternativa es la detallada a continuación.

Las larvas muy pequeñas del hospedero no evidencian signo de este parasitoide, para lo cual es necesario disectar el material y/o llevarlo a ebullición a baño María en hidróxido de potasio (KOH) al 10%, por 10 min, lo cual hace posible la degradación de las grasas y por lo tanto la observación al interior de la larva hospedera (Fig. 39), en algunos casos es necesario someter la larva en forma posterior al tratamiento con KOH a lavados en alcohol 70° y luego a una nueva ebullición a baño María con líquido aclarador ya sea ácido láctico o en una mezcla 1:1 fenol:hidrato de cloral durante 10 min. Estos productos químicos son altamente tóxicos requiriendo tomar medidas adecuadas de seguridad, como el uso de guantes quirúrgicos y el calentamiento bajo campana de extracción.

Posteriormente al aclarado, la larva se enjuaga con etanol 70° y se deja durante períodos de 10 min en etanol 70°, 80°, 95° y etanol absoluto sucesivamente. Posterior a ello se recomienda dejar la larva en cellosolve por seis horas para finalmente hacer el montaje microscópico en euparal.

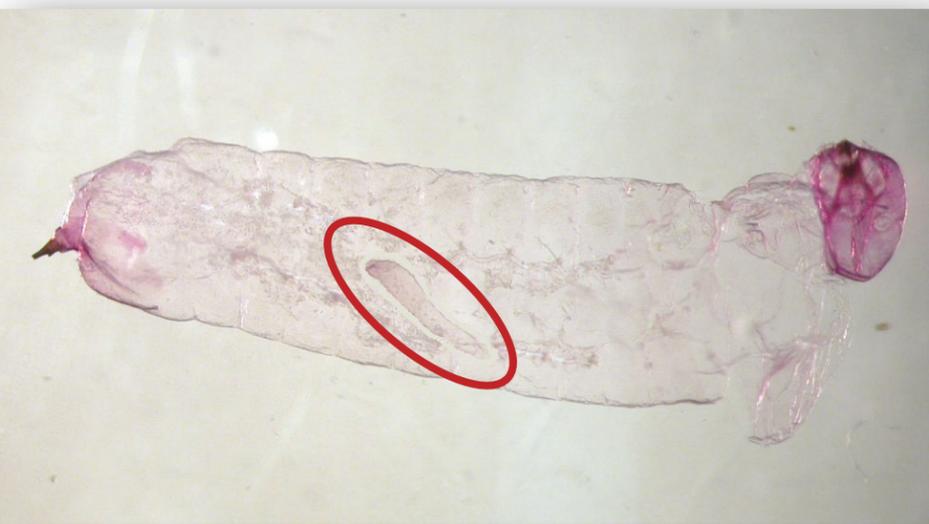


FIGURA 39

Larva de *S. noctilio* parasitada por larva de primer estadio de *I. leucospoides*

2.5 Análisis de pupas

Al igual que para el análisis de los otros estados de desarrollo del insecto, las pupas deben ser contadas, medidas e identificadas correctamente en el laboratorio. En este estado, el insecto alcanza la forma y proporciones del insecto adulto y se examinarán tanto externa como internamente.

2.5.1 Análisis externo de pupas

Las pupas de la familia Siricidae son exaratas, con apéndices libres, de color blanco cremoso y apariencia similar a los adultos (Fig. 40). El reconocimiento del sexo es fácilmente realizado debido a que en las hembras se observa claramente la forma del ovipositor y el cuerno posterior al ano de forma triangular, diferente a las hembras de *Urocerus*, en cuyo caso el cuerno posterior al ano es más alargado y presenta un estrangulamiento en la zona media. Los machos son distinguibles tanto por la ausencia de ovipositor como por el engrosamiento de las patas posteriores, especialmente en la proporción largo/ancho máximo de los basitarsos.



FIGURA 40

Pupa macho de *S. noctilio*

2.5.2 Análisis interno de pupas

Internamente, las pupas presentan un desarrollo gradual de los ovarios y ya se puede detectar la presencia de parasitismo por nemátodos al ser disectada. Cuando la larva de *Sirex* pupa, el nemátodo comienza a producir juveniles que migran a los testículos u ovarios en desarrollo. Los nemátodos producen atrofia de los ovarios y esterilidad en las hembras pero no en machos porque al momento de alcanzar los testículos (a los cuales producen hipertrofia), los espermatozoides ya han alcanzado las vesículas seminales (Nutall, 1980).

2.6 Análisis de adultos

El insecto adulto es el responsable de la reproducción y disseminación. Los análisis realizados a este estado de desarrollo son similares a los realizados para los otros. Estos no sólo serán extraídos muertos en las galerías o vivos a punto de emerger del leño, sino también como muestras procedentes ya sea de capturas en trampas o de otras actividades.

2.6.1 Ubicación taxonómica de *S. noctilio*

En relación a la familia a la cual pertenece el género *Sirex*, algunas características que permiten distinguirla de otras familias son las siguientes:

Insectos holometábolos con dos pares de alas membranosas unidas por un hamuli, ala posterior más pequeña que la anterior, aparato bucal masticador o lamedor.	Orden Hymenoptera
Alas membranosas bien desarrolladas. Cuerpo en vista dorsal con muy poca o ninguna constricción cerca de la mitad de los segmentos abdominales 1 y 2.	Sub-orden Symphyta
Protibia con una espina como espuela apical. Hembra a menudo con un ovipositor largo y delgado. Pronoto en vista lateral con superficie dorsal horizontal. Último tergo en la hembra o último esterno en el macho con una proyección como cuerno.	Familia Siricidae

2.6.1.1 Clave para géneros de insectos adultos de la familia Siricidae.

La siguiente clave corresponde a la reportada por Smith y Schiff (2002), para la identificación de géneros Norteamericanos de la familia Siricidae.

1.	Tibia posterior con dos espinas apicales (Fig. 41); antena con 18 o más segmentos.	2
-	Tibia posterior con una espina apical (Fig. 42); antena con más de 22 segmentos en <i>Xeris</i> y menos de 22 segmentos en <i>Tremex</i> y <i>Eriotremex</i> .	3

2.	Cabeza usualmente con una gran mancha amarillenta por detrás de cada ojo (Fig. 43); el cornus de la hembra largo y delgado, constreñido en la base (Fig. 44); el basitarso del macho delgado (Fig. 45), con el primer segmento 4 o más veces más largo que ancho, comúnmente 5-6 veces más largo, segundo y tercer segmento 2 veces o más largo que ancho.	<i>Urocerus</i>
-	Cabeza negra (Fig. 46); cornus de la hembra corto, triangular, no constreñido en su base (Fig. 47); tarso posterior del macho robusto (Fig. 45), lateralmente aplastado, primer segmento 4 veces o menos más largo que ancho, segundo y tercer segmentos triangulares, levemente más largo o casi tan largo como ancho.	<i>Sirex</i>
3	Antena con 15-21 segmentos; cabeza sin carina genal por detrás de los ojos; ovipositor de la hembra más corto que el ala anterior; alas posteriores con celdillas anales.	4
-	Antena con 23 o más segmentos; cabeza con una carina genal por detrás de cada ojo; ovipositor de la hembra más largo que el ala anterior; alas posteriores sin celdillas anales.	<i>Xeris</i>
4	Antena con 14-15 segmentos; cuerpo sin pelos dorados largos.	<i>Tremex</i>
-	Antena con 20-21 segmentos; cuerpo con pelos dorados largos.	<i>Eriotremex</i>



FIGURA 41

Tibia posterior con dos espinas apicales.



FIGURA 42

Tibia posterior con una espina apical.



FIGURA 43

Cabeza de *Urocerus* sp.



FIGURA 44

Cornus en hembra de *Urocerus* sp.



FIGURA 45

Pata posterior de macho de *Urocerus* (izquierda) y de *Sirex* (derecha)



FIGURA 46

Cabeza de *Sirex* sp.



FIGURA 47

Cornus en hembra de *Sirex* sp.

2.6.1.2. Clave para especies del género *Sirex*.

La siguiente clave corresponde a la publicada por Smith y Schiff (2002), en el texto se han adaptado algunos conceptos, para hacer más comprensible su traducción.

1.	Hembra.	2
-	Macho.	9
2.	Ovipositor más largo que el ala anterior.	3
-	Ovipositor más corto que el ala anterior.	4
3.	Tibias y tarsos rojos.	<i>S. longicauda</i> Middlekauff
-	Patas completamente negras o negras azuladas.	<i>S. areolatus</i> (Cresson)
4.	Abdomen mayoritariamente rojo, pero puede ser oscurecido con un tinte pardusco castaño a negro en la base, lateral o centralmente.	5
-	Abdomen completamente negro o negro azulado.	6
5.	Patas negras, solo los tarsos castaño rojizos, alas pardusco castaño uniformes.	<i>S. nigricornis</i> (Fabricius)
-	Patas con tibia y tarso café rojizo; alas hialinas, ala anterior con una banda gris oscura debajo del estigma y en el margen apical.	<i>S. behrensii</i> (Cresson)
6.	Patas negras.	<i>S. edwardsii</i> Brullé
-	Patas principalmente anaranjadas.	7
7.	Segmento tarsal apical negro, vaina de la sierra (válvula 3) más corta que la placa oblonga (válvula 2); longitud del ovipositor tan largo como la distancia desde la base del ala a la base de la celdilla radial; mesopleuron densamente punturado, en el medio con interespacios mayoritariamente más pequeños que las punturas; orificios de la lanceta grandes y estrechamente unidos; antena negra.	<i>S. noctilio</i> (Fabricius)
-	Tarso amarillo a anaranjado; válvula 3 tan larga o más larga que la válvula 2; longitud del ovipositor tan largo como la distancia desde la base del ala hasta más allá de la celdilla radial; punturas en la mitad del mesopleuron alejados, con interespacios planos brillantes mayoritariamente más amplios que las punturas; orificios de la lanceta pequeños y distanciados unos de otros; antena negra o café en la base.	8
8.	Válvula 3 más larga que la válvula 2; longitud del ovipositor tan largo como la distancia desde la base del ala al ápice de la celdilla radial; antena negra.	<i>S. cyaneus</i> (Fabricius)
-	Válvula 3 igual a la válvula 2; longitud del ovipositor tan largo como la distancia desde la base del ala a la mitad de la celdilla radial; segmentos basales de la antena a menudo café rojizos.	<i>S. juvencus</i> (Linnaeus)
9.	Abdomen rojo, con sólo 1 ó 2 segmentos basales negros.	10
-	Abdomen negro tanto en la base como en el ápice, negro en el ápice puede ser sólo en el dorso o el vientre del segmento apical.	12
10.	Fémur, tibia y tarso rojo; antena descolorida en la base; alas hialinas.	<i>S. behrensii</i> (Cresson)
-	Patas posteriores negras o negras con fémur rojo; patas del medio negras; antena negra, alas amarillentas.	11

11.	Patas posteriores negras, segmentos apicales tarsales 2 amarillentos.	<i>S. nigricornis</i> (Fabricius)
-	Patas posteriores con fémur rojo, tibia y tarsos negros.	<i>S. cyaneus</i> (Fabricius)
12.	Patas completamente negras (segmentos abdominales 2-7 anaranjados; alas hialinas, estigma del ala anterior negra).	<i>S. areolatus</i> (Cresson)
-	Patas en parte café rojizas a anaranjadas.	13
13.	Fémur y resto de la pata posterior negro.	14
-	Fémur anaranjado; segmentos apicales 2-3 del tarso posterior anaranjado.	15
14.	Segmentos abdominales 5 y 6 y algunas veces parte del 7 anaranjados; alas amarillas, estigma del ala anterior amarilla.	<i>S. edwardsii</i> Brullé
-	Segmentos abdominales 3-7 y algunas veces el 8 anaranjados; alas claras, hialinas, estigma del ala anterior negro.	<i>S. longicauda</i> Middlekauff
15.	Segmentos antenales basales anaranjados; segmentos apicales tarsales amarillos a anaranjados; punturas del mesopleuron separados por interespacios planos brillantes, usualmente más amplios que las punturas.	<i>S. juvenicus</i> (Linnaeus)
-	Antena negra; los dos segmentos apicales tarsales negruscos; punturas del mesopleuron estrechamente unidos, interespacios usualmente más cortos que las punturas.	<i>S. noctilio</i> (Fabricius)

2.6.2. Análisis externo de adultos

Los adultos de *S. noctilio*, al igual que *U. gigas* poseen un cuerpo robusto, cilíndrico y alargado, con grandes diferencias de tamaño según las condiciones de alimentación, humedad y temperatura del hospedero, en general miden entre 1 y 3,5 cm de largo, siendo las hembras de mayor tamaño (Zondag y Nutall, 1977). *Sirex noctilio* posee una proyección como cuerno en el tergito abdominal apical en la hembra y en el esternito en el caso del macho (CSIRO, 1991), llamado cornus, siendo la estructura distintiva que les confiere el nombre común de colas de cuerno "horntails" (Middlekauff, 1960). Se distinguen las hembras por presentar en el caso de *Sirex* un color azul metálico oscuro con antenas negras y patas rojizas (Fig. 48), mientras que la hembra adulta de *U. gigas* es de color negro con las antenas, patas, borde posterior del ojo y los últimos segmentos abdominales de color amarillo (Fig. 49). Por su parte, los machos de *S. noctilio* poseen las patas anteriores y medias de color café amarillento a rojizo al igual que los segmentos abdominales tres al siete. El último par de patas es de color castaño rojizo y más engrosado que en las hembras (Fig. 50). El resto del cuerpo, al igual que las antenas es de color azul metálico oscuro. El macho de *U. gigas* es similar en apariencia al macho de *S. noctilio*, pero se distingue por presentar las antenas y el borde posterior del ojo de color café amarillento y los esternitos abdominales más oscuros que los tergitos (Fig. 51).



FIGURA 48
Hembra adulta de *S. noctilio*.



FIGURA 49
Hembra adulta de *U. gigas*.

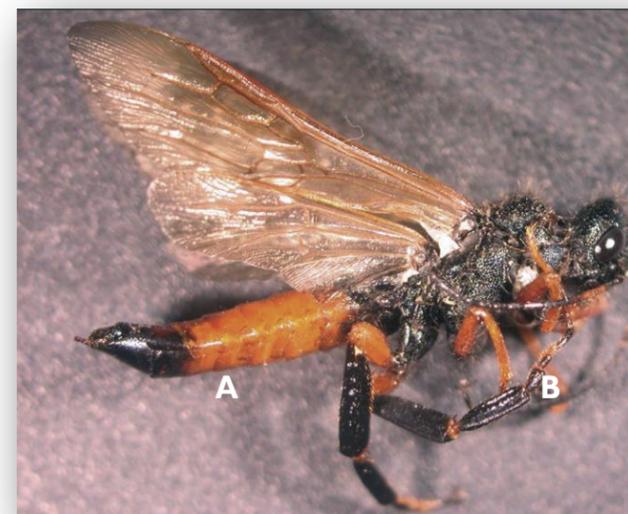


FIGURA 50
Macho adulto de *S. noctilio*.



FIGURA 51
Macho adulto de *U. gigas*.

2.6.3. Análisis interno de adultos

Para la disección de individuos adultos estos deben ser colocados lateralmente sobre una placa Petri y bajo lupa se corta completamente la zona de unión entre el tórax y el primer segmento abdominal con una tijera de disección (Fig. 52). Luego se corta con las tijeras a lo largo de la membrana que une los tergitos con los esternitos, levantando el área disectada. Aquí es posible observar el estado de los ovarios, el reservorio y glándulas de mucus y los sacos intersegmentales llamados también micangias ubicadas en la base del ovipositor en las cuales se almacenan las artrosporas del hongo simbiote *Amylostereum areolatum* (Fr.) Boidin (Spradberry 1973; Coutts 1969) (Fig. 53, Fig. 54), y si se trata de una hembra oviplena (Fig. 55), de una hembra que ya ha ovipuesto (Fig. 56) o de individuos parasitados por nemátodos.



FIGURA 52
Disección de hembra adulta de *S. noctilio*.

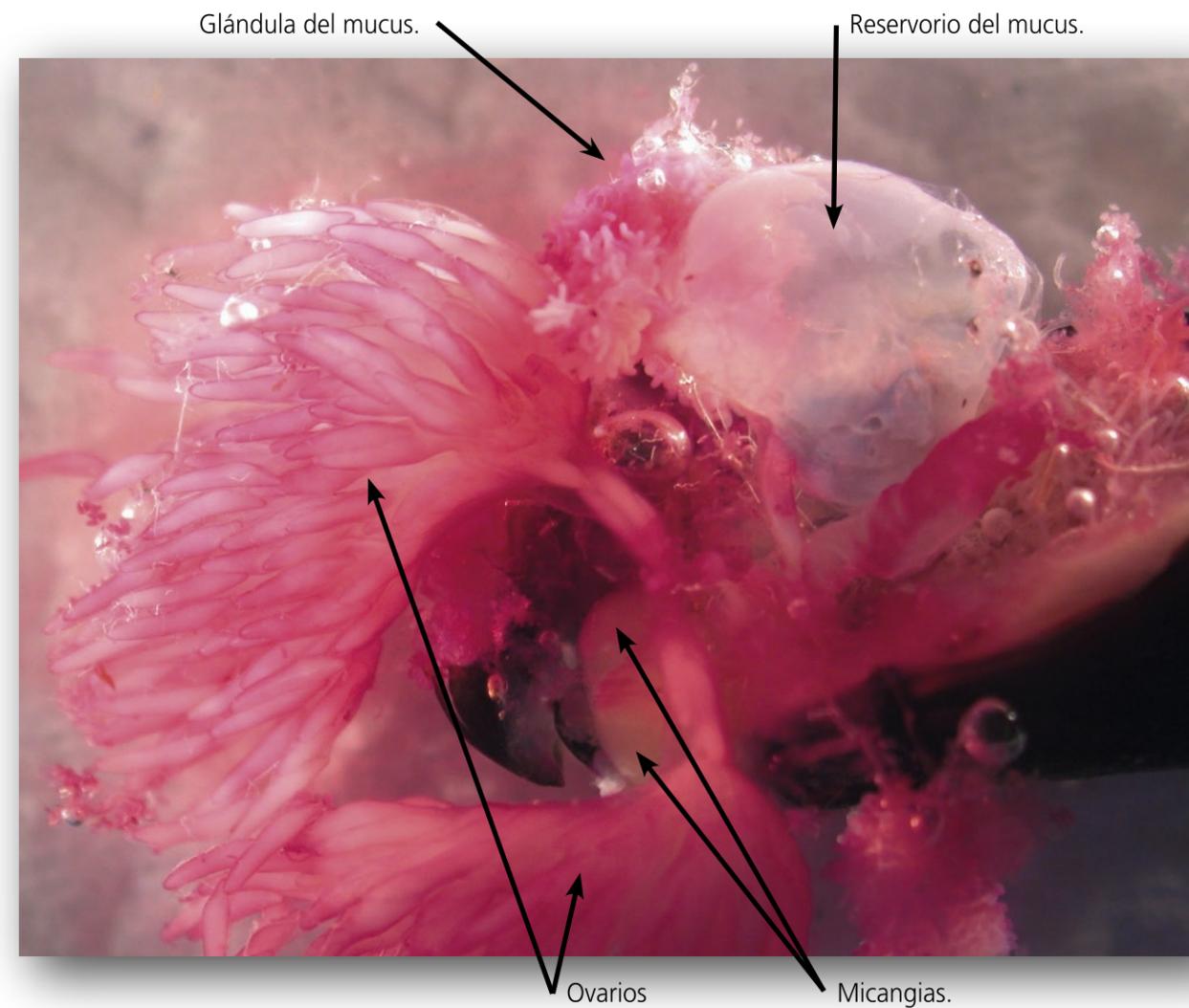


FIGURA 55
Órganos internos en hembra oviplena de *S. noctilio*



FIGURA 53
Hembra en buenas condiciones.

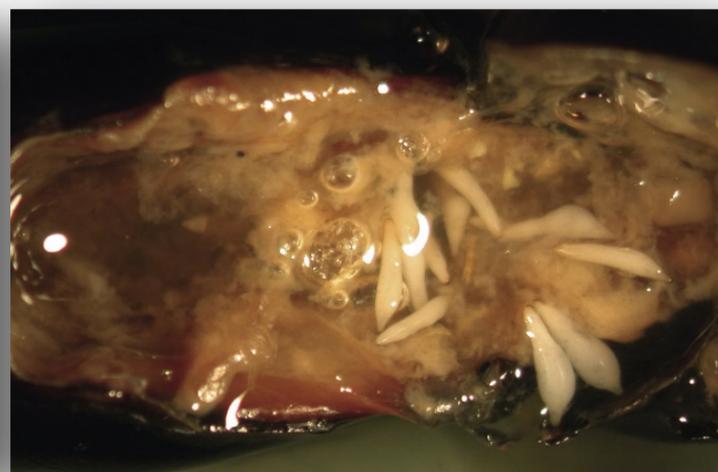


FIGURA 54
Contenido interno en descomposición.

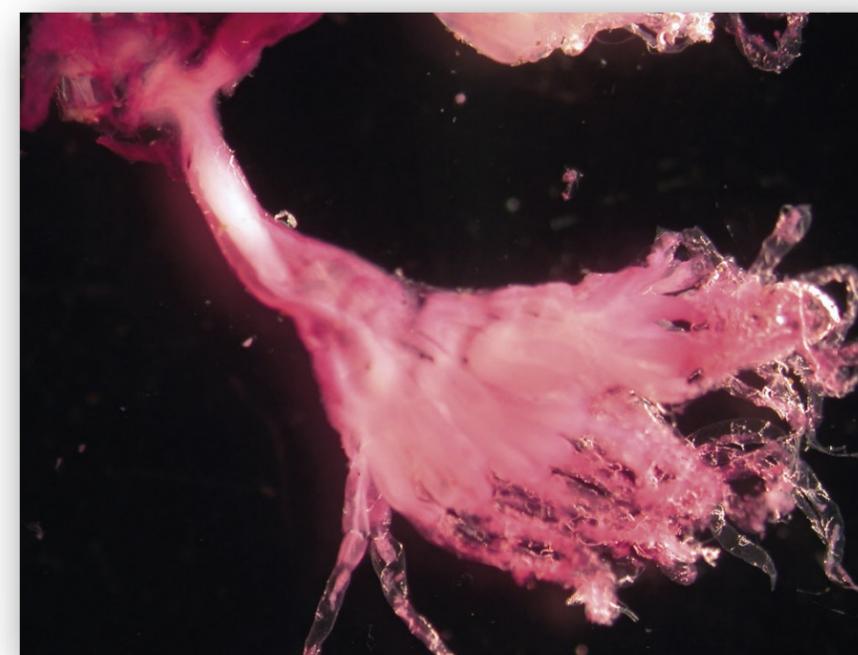


FIGURA 56
Ovario de *S. noctilio* sin huevos

Para la observación de *D. siricidicola* al interior de los adultos vivos de *Sirex*, se recomienda realizar la disección sumergiendo el contenido en solución Ringer, la cual consiste en agregar a 1 L de agua destilada 9 g de NaCl, 0,42 g de KCl, 0,37 g CaCl₂ *2 H₂O y 0,2 g NaHCO₃ (Solomon et al., 1999). Esta solución permite una buena sobrevivencia temporal de los nemátodos, entre una y dos semanas.

Deladenus siricidicola puede presentarse produciendo daño en distintos niveles según su raza y virulencia. Por ello es posible encontrar hembras adultas con los ovarios totalmente atrofiados (Fig. 57) o con los ovarios en buenas condiciones, lo que les permitirá obtener descendencia. También estos nemátodos pueden presentarse libremente en los ovarios y estar dentro (Fig.58, Fig. 59) o fuera de los huevos (Fig. 60). Al respecto, Nutall (1980) señala que en Nueva Zelanda se estableció una cepa que esteriliza los huevos de las hembras de *S. noctilio* y otra que no lo hace.

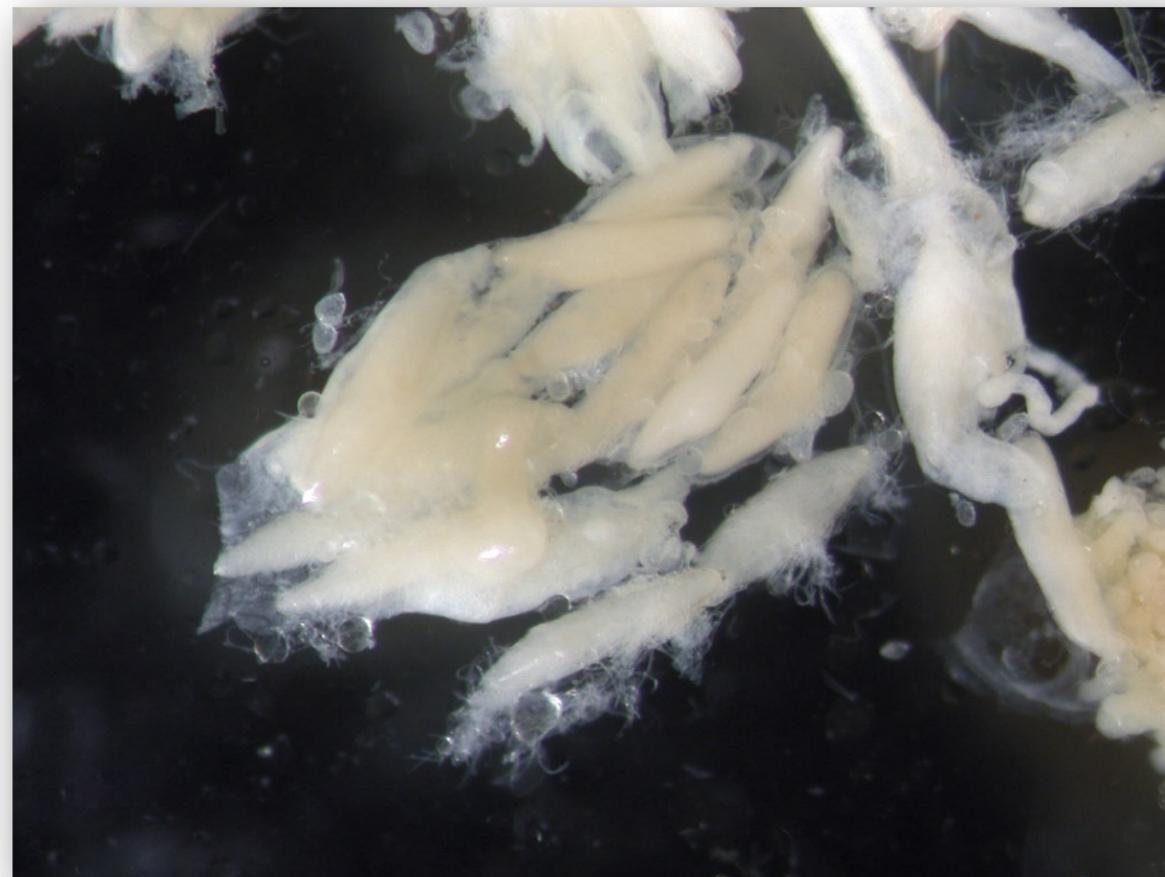


FIGURA 57
Ovario atrofiado por *D. siricidicola*

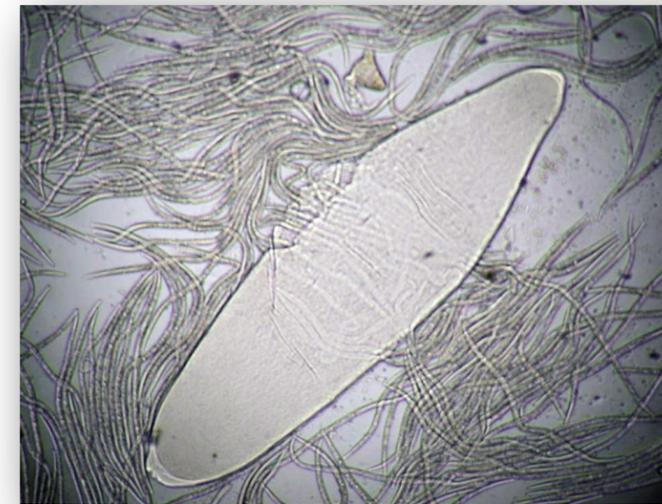


FIGURA 58
Huevo de *S. noctilio* parasitado por *D. siricidicola*



FIGURA 59
Huevos de *S. noctilio* con y sin nemátodos



FIGURA 60
Huevo de *S. noctilio* con nemátodos en su exterior

2.7. Análisis de orificios de emergencia y galerías larvales

Cuando se presentan orificios de emergencia (Fig. 61) y/o galerías (Fig. 62) y no hay larvas debido a que los insectos adultos ya emergieron o porque el leño se encuentra en proceso de descomposición, se debe trasladar trozos con los daños y signos respectivos al laboratorio donde se extraerán las exuvias de las larvas que mudaron en la galería (Fig. 63, Fig. 64). Debido a que estas larvas van comprimiendo el aserrín en la medida que van avanzando alimentándose y pasan de un estadio larval a otro, sus exuvias quedan compactadas en dicha galería por eso es necesario observar con lupa las áreas oscurecidas donde se encuentran restos de cutícula. Estos deben ser cuidadosamente retirados desde el aserrín y depositados en placas Petri correctamente identificadas, en ellas el material debe ser lavado cuidadosamente con agua destilada y remojadas por media hora en etanol 70%. Posteriormente, con ayuda de pinzas finas, aguja enmangada y pincel fino, se procede a retirar el aserrín y se estira el resto de cutícula observando así la pilosidad y el postcornus (Fig. 65). En esta fase es posible saber si fue *Sirex* u otra especie la que estuvo alojada en esa galería.



FIGURA 61
Orificio de emergencia de *S. noctilio*.



FIGURA 62
Galería con exuvio larval.



FIGURA 63
Exuvio larval en aserrín.



FIGURA 64
Exuvio larval en etanol.

En algunas ocasiones sólo es posible recuperar el postcornus y en consecuencia se puede observar directamente al microscopio mediante una preparación simple en una gota de agua destilada cubierta con cubreobjeto. Allí se observa que el postcornus de la larva de último estadio de *S. noctilio* presenta dos pequeñas protuberancias tanto dorsales como ventrales (Fig. 66), mientras que el postcornus de la larva de *U. gigas* sólo presenta desarrolladas las protuberancias dorsales (Fig. 67).



FIGURA 66
Postcornus de larva de último estadio de *S. noctilio*



FIGURA 67
Postcornus de larva de último estadio de *U. gigas*



FIGURA 65
Exuvia larval preparada a partir de restos cuticulares comprimidos en el aserrín .

3. BIBLIOGRAFIA

- BEDDING, R. 1967. Parasitic and free-living cycles in entomogenous nematodes of the genus *Deladenus*. Nature 214: 174-175.
- BEDDING, R. 1972. Biology of *Deladenus siricidicola* (Neotylenchidae) an entomophagous-mycetophagous nematode parasitic in siricid woodwasps. Nematologica 18: 482-493.
- BEDDING, R. 1984. Nematode Parasites of Hymenoptera. pp 755-795. In: Nikle, W. (ed). Plant and Insect Nematodes. Marcel Dekker, Inc. New York.
- BEÉCHE, M. y MUÑOZ, R. 1991. Caracteres morfológicos diferenciables entre larvas de *Sirex noctilio* Fabricius y *Urocerus gigas* Linnaeus (Hymenoptera: Siricidae) de América del Sur. Boletín de Divulgación Interno. Servicio Agrícola y Ganadero. Departamento de Protección Agrícola, Subdepartamento de Defensa Fitosanitaria. Santiago de Chile. 8 p.
- CHRYSTAL, R. 1930. Studies of the *Sirex* parasites. Oxford Forestry Memoirs 11: 1-63.
- CHU, H. Y CUTKOMP, L. 1992. How to know the immature insects. Second edition. Wm. C. Brown Communications, Inc., Dubuque, Iowa. USA. 346 p.
- COUTTS, M. 1969. The mechanism of pathogenicity of *Sirex noctilio* on *Pinus radiata*. II. Effects of *S. noctilio* mucus. Australian Journal of Biological Sciences 22: 1153-1161.
- COUTTS, M. Y DOLEZAL, J. 1966. Polyphenols and resin in the resistance mechanism of *Pinus radiata* attacked by the woodwasp, *Sirex noctilio*, and its associated fungus. Australian Forestry and Timber Bureau. Leaflet No. 101. 19p.
- COUTTS, M. Y DOLEZAL, J. 1969. Emplacement of fungal spores by the woodwasp, *Sirex noctilio*, during oviposition. Forest Science 15: 412-416.
- CSIRO, 1991. The insects of Australia. Volume II. Second edition. Melbourne University Press. Australia. pp 543.1137.
- EVANS, E.; FINLAYSON, T.; MCGINLEY, R.; MIDDLEKAUFF, W. Y SMITH, D. 1987. Order Hymenoptera. pp. 597-710. In Stehr, F. W. (ed.). Immature Insects. Kendall/Hunt, Dubuque, Iowa. USA.
- GILBERTSON, R. 1984. Relationships between insects and wood-rotting basidiomycetes. pp 130-165. In: Wheeler, Q. y Blackwell, M. (Eds.). Fungus-Insects relationships. Perspectives in ecology and evolution. Columbia University Press, New York. 513p.
- MADDEN, J. 1968. Behavioural responses of parasites to the symbiotic fungus associated with *Sirex noctilio* F. Nature 218 (13): 189-190.
- MADDEN, J. 1974. Oviposition behaviour of the woodwasp, *Sirex noctilio* F. Australian Journal of Zoology 22: 341-351.
- MIDDLEKAUFF, W. 1960. The siricid wood wasps of California (Hymenoptera: Symphyta). Bulletin of the California Insect Survey 6 (4): 59-78.
- MORGAN, F. 1968. Bionomics of Siricidae. Annual Review of Entomology 13: 239-256.
- NICHOLSON, R. Y HAMMERSCHMIDT, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. Annual Review of Phytopathology 30: 369-389.
- NUTALL, M. 1980. *Deladenus siricidicola* Bedding (Nematoda: Neotylenchidae). Nematode parasite of *Sirex*. New Zealand Forest Service, Forest and timber insects in New Zealand. No 48.
- SAG. 2005. ea/I-22. Instructivo para la preparación y montaje de larvas. In: Manual de procedimiento de análisis de una muestra entomológica. ea/P-02- última versión. Unidad de Entomología. Departamento Laboratorio y Estaciones Cuarentenarias Agrícola y Pecuaria, SAG, Lo Aguirre, Santiago de Chile.
- SMITH, D. Y SCHIFF, N. 2002. A review of the siricid woodwasp and their ibaliid parasitoids (Hymenoptera: Siricidae, Ibalidae) in the Eastern United States, with emphasis on the Mid-Atlantic Region. Proceedings of the Entomological Society of Washington 104 (1): 174-194.
- SOLOMON, A.; PAPERNA, I. Y GLAZER, I. 1999. Dessication survival of the entomopathogenic nematodo *Steinernema feltiae*: induction of anhidrobiosis. Nematology 1(1): 61-68.
- SPRADBERRY, J. 1973. A comparative study of the phytotoxic effects of siricid woodwasps on conifers. Annals of Applied Biology 75: 309-320.

SPRADBERRY, J. 1977. The oviposition biology of siricid woodwasps in Europe. Ecological Entomology 2: 225-230.

TAYLOR, K. 1981. The *Sirex* woodwasp: ecology and control of an introduced forest insect. Pp 231-248 In: Kitching, R. y Jones, R. (eds). The Ecology of Pest – Some Australian Case Histories. CSIRO, Australia.254p.

ZONDAG, R. Y NUTALL, M. 1977. *Sirex noctilio* Fabricius (Hymenoptera: Siricidae), *Sirex*. New Zealand Forest Service, Forest and timber insects in New Zealand. No 20.

ANEXOS

ANEXO 1

Materiales y equipos

Productos químicos y reactivos

Reactivos: Hidróxido de potasio, fenol, hidrato de cloral, etilen-glicol-monoetil eter (cellosolve).

Alcohol 70°, 80°, 95° y alcohol absoluto

Medio de montaje: Euparal o equivalente

Solución Ringer

Agua destilada

Tinción doble (10 ml solución 55% de rosa lignina + 5ml solución de fucsina ácida).

Material de escritorio

Lápices marcadores permanentes, lápices portaminas, etiquetas, reglas, pinceles finos.

Equipos e instrumentos de laboratorio

Microscopio estereoscópico

Microscopio compuesto

Refrigerador

Plato térmico

Estufa de secado

Campana de extracción de gases

Insumos de laboratorio

Placas Petri plásticas y de vidrio

Frascos de plástico de 100 ml, pipetas, probetas, pizetas, vasos precipitados.

Material de disección: pinzas finas, tijeras, agujas enmangadas, bisturí

Porta y cubreobjetos

Gradillas y tubos de ensayo de 15 ml.

Guantes quirúrgicos.

Materiales y equipos para sala y personal de picado

Motosierra
Hacha de mano
Cuchillos de mesa
Pinzas
Frascos de plástico de 200ml.
Placas Petri desechables.
Vestuario anticortes: chaleco, pantalones, guantes
Protectores de ojos y casco, zapatos de seguridad

ANEXO 2 GLOSARIO

- Apoda:** Sin patas
- Arrenotoquia:** Forma de reproducción partenogenética en la cual se originan machos desde huevos no fertilizados.
- Artrospora:** Célula uninucleada especializada que funciona como una espora y se deriva de la desarticulación de células de una hifa.
- Basitarso:** Segmento proximal del tarso.
- Cambium:** Tejido meristemático del cual se origina el crecimiento secundario en tallos y raíces de plantas.
- Cápsula cefálica:** Cabeza de un insecto.
- Carina genal:** Elevación de la cutícula en la mejilla o área esclerosada al lado de la cabeza por debajo del ojo compuesto de un insecto.
- Celdillas anales:** Espacios entre las venas anales.
- Celdillas radiales:** Cualquier celda del ala delimitada anteriormente por una rama del radio; celdilla marginal en Hymenoptera.
- Control Biológico:** Estrategia de control de las plagas en que se utilizan enemigos naturales, antagonistas o competidores vivos, u otras entidades bióticas capaces de reproducirse.
- Cornus:** Proceso tergal como cuerno o cola cerca del ápice del cuerpo larval.
- Cutícula:** Cubierta más externa de un insecto formada por varias capas no celulares que contienen quitina, cera, proteínas y es secretada por las células epidermales.
- Digitiforme:** En forma de dedo.
- Dimorfismo:** Que tiene dos diferentes formas.

Erradicación: Aplicación de medidas fitosanitarias para eliminar una plaga de un área.

Esclerito: Cualquier porción dura del integumento del insecto separado de áreas similares por membranas y suturas.

Esclerotización: Proceso físico químico por los cuales se forman los escleritos.

Estadio: Intervalo de tiempo entre dos mudas sucesivas durante el desarrollo larval de insectos.

Esternito: Placa ventral de un segmento abdominal.

Estigma: Mancha pigmentada usualmente en el margen costal de un ala.

Exuvia: Porción del integumento de una larva, ninfa o náyade, que es dejada durante el proceso de muda.

Hamuli: Serie de pequeños ganchos en el margen anterior del ala posterior de Hymenoptera que se une al ala anterior.

Holometábolo: Tipo de metamorfosis en la cual se distinguen claramente los estados de huevo, larva, pupa y adulto.

Mesopleuron: La parte lateral del mesotórax.

Mesotórax: Segundo segmento torácico o del medio el cual lleva las patas medias y las alas anteriores.

Micangias: Órganos específicos que poseen algunos insectos para el transporte y protección de hongos.

Micropila: Pequeño poro o apertura en el huevo del insecto, por el cual pasan los espermatozoides durante la fertilización.

Ovario: Órgano de la hembra que produce huevos.

Ovipositor: Estructura en forma de tubo del abdomen de un insecto hembra para depositar huevos.

Parásito: Organismo que vive dentro o sobre un organismo mayor, alimentándose de éste.

Parasitoide: Insecto que es parasítico solamente durante sus etapas inmaduras, matando al hospedero en el proceso de su desarrollo y que vive libremente en su etapa adulta.

Plaga cuarentenaria: Plaga de importancia económica potencial para el área en peligro cuando aún la plaga no existe o, si existe, no está extendida y se encuentra bajo control oficial.

Polifenoles: Grupo heterogéneo y diverso de metabolitos secundarios de las plantas, los cuales poseen múltiples funciones como antioxidantes y de resistencia a plagas y enfermedades.

Polipodeiforme: Larva segmentada con proyecciones flexibles, cortas, pareadas de los segmentos torácicos y abdominales.

Resina: Sustancias de alto peso molecular, que incluyen ácidos de resina, esteres y terpenos, se encuentran en mezclas en plantas y a menudo son exudadas desde heridas, protegiéndolas contra insectos y hongos.

Simbionte: Asociación entre dos organismos distintos.

Sucesión ecológica: Serie de cambios que experimenta un ecosistema en la composición de sus especies a través del tiempo.

Tergito: Esclerito dorsal de un segmento abdominal de un insecto.

ANEXO 3

ea/I-22. Instructivo para la preparación y montaje de larvas (SAG, 2005)

22.1. Objetivos y alcance

Este método se utiliza para preparar y realizar montaje de larvas de insectos para ser identificados.

Este instructivo debe ser aplicado por todos los especialistas de la Unidad de Entomología en el análisis de muestras de larvas de insectos para poder realizar su identificación.

22.2. Equipos

- Lupa estereoscópica
- Plato térmico
- Estufa de secado

22.3. Materiales

- Acido acético
- Agua destilada
- Alcohol diferentes concentraciones
- Crisol con tapa
- Cristalizador
- Espátula fina
- Marcador permanente
- Medio de montaje
- Pinzas
- Porta y cubre objeto
- Solución caústica
- Solución Essig con colorante (optativo)
- Solvente clarificador
- Tijera de disección

22.4. Método

1. Mate la larva en agua caliente, mantenga hasta que el agua se enfríe.
2. Traspase a alcohol 70°. Con tijera de disección haga un corte lateral de la larva a través de la línea de espiráculos, puede desprender o no la cabeza.
3. Traspase a KOH 10%, deje durante la noche.
4. Lave varias veces con agua destilada, remueva contenido interior y descártelo.
5. Traslade a alcohol 70° más pocas gotas de ácido acético, continúe la limpieza y lavado.
6. Deje en solución Essig más colorante por 30 minutos (optativo).

7. Lave en alcohol absoluto y luego traspase a Eugenol por 1 a varias horas.

8. Monte en portaobjeto con medio de montaje, ubique ordenadamente las estructuras, cubra, rotule y deje secar en estufa a 40° C.

