

Debido a la baja germinación que presentaron las líneas tetraploides y triploides y a la variabilidad en la calidad del fruto triploide sin semilla, se vio que era necesario un

trabajo en gran escala para poder utilizar comercialmente estos resultados, el que quedó temporalmente postergado ante trabajos de mayor prioridad.

R E S U M E N

Se produjo sandía triploide de la variedad chilena Chilefén por duplicación cromosomal del diploide y cruzamiento de los tetraploides resultantes por los diploides.

El fruto triploide mostró textura, forma y sabor variables, y pesaba casi sólo rudimentos de semillas vacías.

S U M M A R Y

Triploid watermelon of the chilean variety Chilefén was produced by chromosomal duplication with colchicine and by crossing these resulting tetraploids with the diploids.

Triploid fruit showed variable texture, shape and taste, and it had mostly rudimentary empty seeds.

LITERATURA CITADA

1. KIHARA, H. Triploid Watermelons. Proc. Am. Soc. for Hort. Sci. Vol. 58: 217-230. 1951.

Preparación del virus del mosaico del tabaco para observaciones al microscopio electrónico

Mario Alvarez A. y Primo Accatino L.¹

INTRODUCCION

El microscopio electrónico, o ultramicroscopio, es el único instrumento capaz de proporcionar al hombre una visión directa de los virus. Si bien es cierto que las imágenes obtenidas hace unos 20 años mostraban apenas unas formas vagas, en la actualidad es posible obtener fotografías tan claras que permiten establecer con bastante precisión el tamaño y la forma de estos organismos. Este perfeccionamiento se debe al avance de las técnicas, especialmente en lo que a preparaciones microscópicas se refiere, y a la fabricación de instrumentos más complejos y perfectos (8).

El microscopio electrónico se ha constituido últimamente en una gran ayuda en el diagnóstico de enfermedades de las plantas. Aunque el diagnóstico de todos los virus vegetales es posible sólo en casos muy limitados, en Alemania, por ejemplo, se usa extensivamente en la determinación de virus de la papa (7). Aun así, el tamaño y forma de los virus llamados esféricos no se conocen suficientemente, pues se necesitan técnicas especiales para su purificación. Sin embargo, si consideramos la necesidad de aplicar los postulados de Koch en virología, el ultramicroscopio nos puede permitir abarcar esa necesidad, que significa poder observar un parásito dentro de su huésped (1, 3, 4).

¹Ingenieros Agrónomos, Proyecto Fitopatología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

Los autores desean dejar especial constancia de sus agradecimientos a los Drs. Juan de Dios Vial y Manuel Rodríguez, de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Chile, por su eficaz y desinteresada colaboración, sin la cual este trabajo no habría podido realizarse. El Dr. Vial asesoró en las preparaciones microscópicas y obtuvo las fotografías del virus, en tanto que el Dr. Rodríguez facilitó los medios para llegar a la purificación del virus.

En todo caso, con referencia al uso del microscopio electrónico para fines directos de aplicación práctica, es indudable que los grandes aspectos negativos para ello, lo constituyen su complejidad y alto costo, que por años han sido los principales factores limitantes

para el uso más extensivo de este instrumento.

OBJETIVOS DEL TRABAJO — Los objetivos que persiguieron los autores, tuvieron principal relación con la observación del virus del mosaico del tabaco al microscopio electrónico y las técnicas de purificación del virus para su ulterior fotografía. Estos objetivos se pueden condensar en los siguientes puntos:

- a) Observar y fotografiar al virus causante del mosaico del tabaco, mediante el empleo del microscopio electrónico, único instrumento mecánico que proporciona esta posibilidad;
- b) Determinar el mejor método de purificación del virus, para ser observado y fotografiado mediante el empleo del aparato mencionado.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. **GENERALIDADES** — El límite de visualidad o límite del poder de resolución de un microscopio común, es decir, de iluminación por la luz blanca, es de aproximadamente 200 μ . Las partículas de tamaño menor sólo pueden observarse usando un sistema adecuado de contraste luminoso entre ellas y el fondo de observación, pero sus tamaños no pueden en este caso medirse en forma precisa. El poder de resolución de estos microscopios se ve limitado por la apertura numérica del lente del objetivo y la longitud de onda de la luz; es por esta razón que la visión podría aumentarse a un límite de 100 μ , siempre que la luz blanca fuese sustituida por luz ultravioleta de menor longitud de onda. Es así como usando un microscopio de luz ultravioleta se ha logrado fotografiar, y aun medir, algunas partículas de virus animales, pero nunca, hasta ahora, vegetales, ya que estos últimos sólo pueden ser observados al microscopio electrónico (2, 5).

Como principio básico, el microscopio electrónico puede ser considerado análogo al microscopio común, con la diferencia que en aquel instrumento la fuente de luz y los lentes de vidrio han sido reemplazados por una fuente electrónica y campos magnéticos, respectivamente, lo cual hace que la imagen del espécimen se logre por radiación transmitida. La fuente de radiación es un filamento caliente que emite electrones termoiónicamente al vacío y acelerados a través de 50-100 kilowatts de potencial. La longitud de onda asociada con un haz de electrones acelerados a través de este potencial, es de sólo 0.005 μ (0.05 Å), comparado con una longitud de onda de 500 μ y 200 μ de la luz blanca y ultravioleta, respectivamente, razón que le da al micros-

copio electrónico su alto poder de resolución (2, 5, 8).

2. **ANTECEDENTES** — Se considera que la primera aislación parcial de un virus vegetal se realizó en el año 1892, cuando el ruso Iwanoski demostró que el agente causal del mosaico del tabaco pasaba a través de filtros que eran capaces de retener a las bacterias (5).

Los primeros especímenes observados se prepararon dejando deshidratar, sobre una membrana de colodión, gotas de una solución que los contenía. Sin embargo, las fotografías obtenidas con este sistema no eran suficientemente claras, pues los virus poseen menor poder de absorción de electrones que las membranas. Así, las partículas que se deseaba observar aparecían como sombras oscuras sobre un fondo gris, a pesar de lo cual fue posible confirmar la forma de algunos virus (2).

La primera visualización de partículas virales fue realizada por Buist en 1887, al observar pequeños cuerpos de un tamaño estimado en $\frac{1}{4}$ de micrón presentes en fluidos obtenidos de infecciones de Pox. La era moderna de la visualización realmente segura empezó el año 1931, cuando Woodruff y Goodpasture lograron obtener una correlación entre el número de cuerpos aislados y observados, con respecto a la virulencia (o infectividad) de las preparaciones (9).

Las primeras fotografías se obtuvieron sólo hace 26 años, cuando en 1939 se demostró la presencia de ciertas partículas asociadas con el virus del mosaico del tabaco; estas primeras fotografías demostraban que esas partículas tenían forma de bastón y que, en todo caso, eran de un tamaño muy reducido. Posteriormente, Stanley y Anderson fotografiaron una serie de virus, entre otros al mosaico del pepino, al "Bushy stunt" del tomate y al causante de la necrosis del tabaco (9).

A continuación surge el gran avance de la microscopía electrónica al descubrirse el uso del sombreo metálico, técnica que ha permitido la definición en blanco y negro de las partículas a observar, en lugar de las sombras difusas que se visualizaban hasta ese momento (8, 9).

A grandes rasgos, el método consiste en evaporar al vacío una pequeña cantidad de metal, el que se deposita en forma de una delgada película sobre el espécimen. Debido a que esta operación se hace en forma oblicua sobre las preparaciones, el grosor del metal variará de un lugar a otro del espécimen, dependiendo de los contornos de éste. En otras palabras, los costados de los especímenes más alejados de la fuente de evaporación, recibirán muy poco metal, por lo cual estas áreas aparecerán en las fotos como sombras oscuras con respecto a aquellos lugares en donde la ca-

pa metálica es más gruesa (8). Además, el sombrero permite calcular la altura o espesor de los objetos que están siendo observados, mediante la medición de la longitud de las sombras que producen. La desventaja del sombrero es que oscurece parcialmente los detalles internos del objeto, además del hecho de no poder obviar la principal desventaja del microscopio electrónico, cual es el poder examinar solamente los especímenes ya inactivados (8, 9).

La elección de un metal destinado al sombrero depende de una serie de cualidades, tales como su densidad, número atómico, punto de fusión y facilidad de evaporación. En general, se considera que deben formar sombras con una película de 5-40 Å de espesor (de acuerdo al metal) y no deben granularse demasiado cuando se exponen a un rayo electrónico. Los metales más usados para estos fines son: paladio, platino, oro, cromo y uranio. Este último, por ejemplo, permite resolver objetos de unos 30 Å, y si estos objetos son alargados o filamentosos, se pueden resolver hasta tamaños de 10-20 Å. El empleo del cromo como metal específico para el sombrero, tendría, según Williams (9), excelentes cualidades, pues no produce distorsiones significativas en la forma de los virus sombreados.

Por otra parte, y como complemento del sombrero, existe la tinción de los virus, que permite aumentar la opacidad electrónica, al elevar el poder de contraste con respecto al sustrato. El ácido ósmico ha sido el compuesto químico que más se ha usado con este fin (9).

MATERIAL Y METODO

Para la realización del presente trabajo y mejor logro de los objetivos señalados, se usó el virus del mosaico del tabaco, *Nicotiana virus 1*, por ser uno de los virus más infectivos y estables (y por lo tanto fácil de manipular), como lo comprueban sus características físicas: se inactiva a más alta temperatura que cualquier otro virus, pudiendo resistir hasta 93°C por 10 minutos; no se destruye por desecamiento, condición que le permite permanecer viable aun en cigarrillos manufacturados; tolera grandes diluciones, de hasta 1:1.000.000, y mantiene su viabilidad *in vitro*, es decir, en jugo filtrado, por varios años (1).

1. OBTENCIÓN Y MULTIPLICACIÓN DEL VIRUS — Con el fin de contar con suficiente material para la experimentación se procedió a multiplicar *Nicotiana virus 1* sobre 50 plantas de *Nicotiana tabacum* var. White Burley. El inóculo usado se obtuvo de algunos ejemplares infectados que se mantenían en los invernaderos de la Estación Experimental La Platina. La multiplicación se realizó por el mé-

todo de inoculación mecánica consistente en frotar savia proveniente de plantas enfermas, sobre hojas de plantas sanas, previo agregado de un abrasivo. Todas las plantas inoculadas contrajeron la infección, manifestándose claramente los primeros síntomas de mosaico a los siete días que siguieron a la inoculación.

Con el fin de que se demostrase la presencia efectiva del virus, se utilizó la planta indicadora *Nicotiana glutinosa*, la que reaccionó a la inoculación de savia procedente de las plantas enfermas, con formación de las lesiones locales características que indicaban la presencia del mosaico del tabaco.

2. TRATAMIENTOS — Como se indicó anteriormente, los tratamientos tenían por objeto establecer cuál sería la mejor metodología a seguir en la obtención de preparaciones microscópicas destinadas a usar en la observación y obtención de fotografías del mosaico del tabaco, mediante el empleo del ultramicroscopio. Los tratamientos usados fueron cinco, de los cuales cuatro incluyeron procesos de purificación, diferenciados solamente de acuerdo a la metodología seguida en cada caso. El quinto tratamiento consistió sencillamente en la obtención de savia directamente extraída de una hoja enferma con el virus (Figura 1).

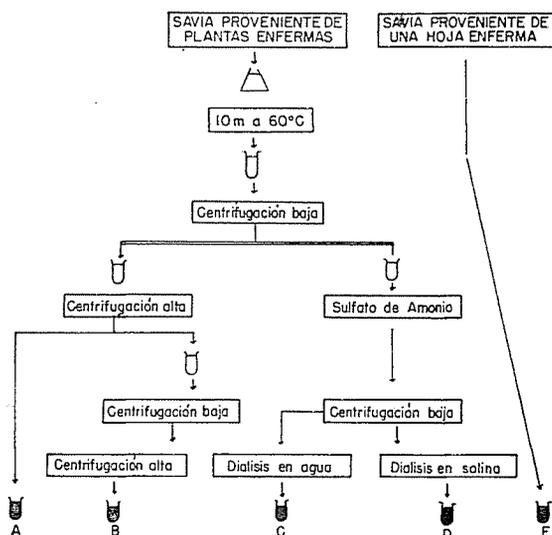


Figura 1 — Esquema de los diferentes tratamientos usados en la purificación del mosaico del tabaco.

Los cuatro primeros tratamientos incluyeron, en un principio, un proceso común: las hojas de las plantas enfermas que se mantenían en invernadero fueron cosechadas y maceradas en juguera eléctrica, previo agregado de agua destilada para homogenizar la mezcla. De esta manera se obtuvieron alrededor de

dos litros de savia, que luego fue calentada a 60°C con el fin de coagular la mayor cantidad posible de las proteínas normales de las plantas. Posteriormente, el líquido se dividió en cuatro partes, cada una de las cuales recibió un proceso diferente de purificación:

Tratamiento A) Centrifugación diferencial

- Centrifugación baja a 3.000 rpm durante 30 minutos.
- Se eliminó el precipitado, pues la centrifugación baja debería precipitar solamente las proteínas normales de la planta; el sobrenadante se centrifugó a velocidad alta de 20.000 rpm durante 90 minutos, mediante el uso de una centrifuga SPINCO. En este caso se eliminó el sobrenadante, pues los virus deberían precipitar a esa velocidad; al precipitado se le agregó agua destilada.

Tratamiento B) Doble centrifugación diferencial.

- Centrifugación baja a 3.000 rpm durante 30 minutos.
- Centrifugación alta a 20.000 rpm durante 90 minutos.
- Centrifugación baja a 3.000 rpm durante 30 minutos.
- Centrifugación alta a 20.000 rpm durante 90 minutos.

Tratamiento C) Purificación con sulfato de amonio y diálisis en agua destilada.

- Centrifugación baja a 3.000 rpm durante 30 minutos.
- El sobrenadante obtenido se trató con sulfato de amonio con el fin de precipitar las proteínas-virus existentes en el líquido. Con este fin, se agregó 30 grs. de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ por cada 100 cc. de líquido savial.
- Después de dejarse en reposo por 30 minutos a 4°C para ayudar a la precipitación, se centrifugó nuevamente por media hora a 3.000 rpm; en esta forma se obtuvo un precipitado constituido solamente por las proteínas-virus, descartándose el líquido sobrenadante.
- Al precipitado se le agregó agua destilada y se procedió a la diálisis del líquido obtenido, con el propósito de eliminar el exceso de sulfato de amonio presente en la solución. Para ello, el líquido se introdujo en un tubo de celofán de un metro de largo, el que se mantuvo por 24 horas en agua corriente, y 24 horas en agua destilada. Teóricamente, el sulfato de amonio se elimina por osmosis, quedando solamente el virus purificado.

Tratamiento D) Purificación con sulfato de amonio y diálisis en solución salina.

- Centrifugación baja a 3.000 rpm durante 30 minutos.
- Igual al paso b) del tratamiento anterior.
- Igual al paso c) del tratamiento anterior.
- El proceso de la diálisis se efectuó también, en este caso, con el fin de eliminar el exceso de sulfato de amonio contenido en la solución resultante, con la diferencia que en lugar de usar agua corriente y luego destilada, se empleó una solución salina (NaCl al 0,89%) en la que se sumergió el tubo de celofán por 48 horas.

Tratamiento E) Obtención directa de savia de hoja enferma.

Este tratamiento fue incluido en el trabajo, en base a referencias recientes acerca de su uso en diversos países, ya que presenta una gran ventaja con respecto a los otros métodos de purificación, cual es la rapidez del proceso, el que puede llevarse a cabo en pocos minutos. Sin embargo, según Brandes (3), el método del exudado, usado actualmente en Alemania con buenos resultados, sería sólo aplicable a aquellos virus con forma de bastón, que no se confunden fácilmente con algunos componentes celulares de la planta.

El método se aplicó cortando longitudinalmente una hoja de tabaco que mostraba síntomas claros de mosaico. El proceso se repitió varias veces hasta obtener en uno de los casos un corte nítido y con el menor daño posible de los bordes de la hoja. A los dos o tres minutos ésta exudó por sus venas, pequeñas gotas de savia, las que se usaron para ser observadas al microscopio electrónico.

3. PREPARACIONES MICROSCÓPICAS — Una gota del líquido final obtenido de cada uno de los

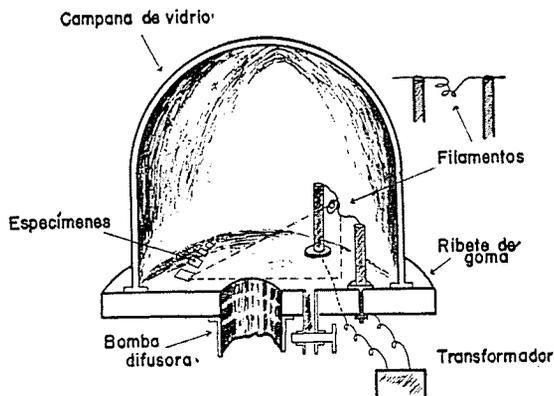


Figura 2 — Representación esquemática de un aparato usado en el sombreado de especímenes para el microscopio electrónico (según Burnet y Stanley).



Figura 3 — Partículas del virus, correspondientes al tratamiento de la doble centrifugación diferencial; obsérvese el gran número de unidades visibles, algunas unidas por sus extremos. También es posible observar cierta tendencia al apareamiento lateral de las partículas.

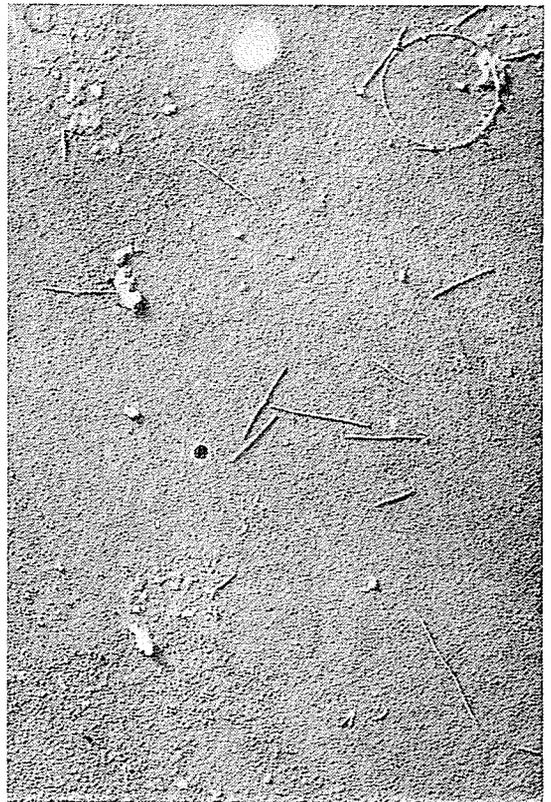


Figura 4 — Partículas en forma de bastón del virus del mosaico del tabaco, correspondientes al tratamiento que incluyó la centrifugación diferencial.

cinco tratamientos, fue depositada sobre sendos portaobjetos o grillas formados por pequeñas rejillas metálicas, de aproximadamente 1,5 mm de diámetro, los que fueron cubiertos por una delgadísima capa de "Formvar" (repelente de agua) disuelto en cloroformo. Esto tiene por finalidad evitar que las gotas resbalen sobre la superficie de los portaobjetos. Además, por ser esta película totalmente transparente, no afecta la visión de los especímenes examinados sobre los cuales se hacen pasar los electrones.

4. TEÑIDO DE LOS ESPECÍMENES — El teñido o fijado de las partículas de cada una de las grillas se logró sometiendo las muestras a los vapores del ácido ósmico durante algunos minutos.

5. SOMBREO METÁLICO — El sombreado metálico destinado a permitir una observación más precisa de los especímenes, es una de las técnicas principales usadas en la microscopía electrónica.

El método consistió en evaporar 7 mgr. de cromo metálico, mediante el calentamiento electrónico al rojo de un filamento de metal.

La operación se llevó a cabo bajo una campana de vidrio al vacío para evitar una rápida dispersión de los electrones por efecto del aire o vapor de agua.

Los especímenes colocados en sus respectivas grillas (cada una de las cuales correspondía a un tratamiento diferente), fueron ubicados en ángulo oblicuo (aproximadamente 30°) con respecto al canastillo que contenía el metal. El ángulo de sombreado fue determinado para establecer un grado de contraste de regular intensidad. El empleo de un ángulo demasiado oblicuo producirá distorsiones demasiado grandes en los especímenes (Figura 2).

6. OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO Y OBTENCIÓN DE FOTOGRAFÍAS — Las grillas con los especímenes teñidos al ácido ósmico y sombreados mediante cromo metálico, fueron colocadas para su visualización en el microscopio electrónico ZEISS, de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Chile.

La visión de los preparados demostró la diferencia cualitativa y cuantitativa de los tratamientos: en algunos fue posible observar una gran cantidad de virus, representados por las



Figura 5 — Tratamiento correspondiente a la precipitación con sulfato de amonio y diálisis en agua destilada; en la fotografía, la única partícula del virus que fue posible observar.

partículas en forma de bastón; en otros no se logró observar partícula alguna. Una vez obtenido el campo propicio para cada tratamiento, se fotografiaron los especímenes que aparecían en la pantalla del aparato a un aumento de $\times 7.500$. Las fotografías se ampliaron a un tamaño 3 veces mayor, lo que permitió obtener un aumento total de 22.500 veces.

RESULTADOS

Las fotografías resultantes de cada tratamiento se muestran en negativos; así las partes no sombreadas aparecen negras, lo que hace resaltar la nitidez de los objetos. En esta forma se obtienen mejores contrastes con un efecto relativamente tridimensional, lo que, a la vez, da cierta indicación de la altura de los especímenes de acuerdo a la sombra que ellos proyectan.

Según las fotografías, el mejor tratamiento fue aquél que se efectuó en base a una doble centrifugación diferencial, sin usar compues-



Figura 6 — Tratamiento efectuado con sulfato de amonio como precipitante y solución salina para diálisis; en la foto no se observa partícula alguna del virus. Hay gran cantidad de impurezas, causadas, posiblemente, por el exceso de cloruro de sodio. Por coincidencia aparece parte del cuerpo de un bacterio, posiblemente del tipo monótrico, cuyo cilio se distingue notoriamente en la fotografía.

tos químicos para la precipitación del virus (Figura 3).

El resto de los tratamientos es inferior en calidad: el tratamiento sometido a centrifugación diferencial simple, demostró que hubo demasiada pérdida de partículas de virus (Figura 4); los dos tratamientos efectuados con la ayuda del sulfato de amonio como precipitante, no dieron el resultado esperado, pues el dializado en agua destilada muestra apenas una sola partícula (Figura 5), en tanto que el dializado en solución salina resultó un fracaso. En este último caso no fue posible observar ningún ejemplar de virus y el campo fotográfico apareció lleno de impurezas (Figura 6). La fotografía resultante del exudado directo de la hoja de tabaco enferma, demostró que, a pesar que el método no permite la obtención de un número alto de partículas, puede recomendarse por la gran facilidad que significa la operación (Figura 7).



Figura 7 — Algunas partículas del virus obtenidas por simple exudado de una hoja de planta enferma.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Es indudable que el microscopio electrónico usado por los autores de la experiencia, ha

demostrado ser lo suficientemente apropiado para obtener fotografías de virus de óptima calidad. La principal dificultad estuvo, evidentemente, en efectuar los diferentes tratamientos de purificación del virus que se deseaba observar.

El virus causante del mosaico del tabaco ha sido, sin lugar a dudas, el más estudiado, observado y fotografiado. De acuerdo a lo descrito por innumerables autores se trata de un virus en forma de bastón, con un ancho aproximadamente de 15 $m\mu$ y un largo de 300-500 $m\mu$. En las fotografías obtenidas por los autores se puede observar que la forma del virus corresponde exactamente a la descrita, pero existen grandes variaciones en la longitud de las partículas, las que varían desde tamaños muy pequeños hasta muy grandes. Incluso puede observarse, mirando las fotografías con un lente de aumento, que algunas partículas están unidas por sus extremos, o bien apareadas en forma lateral, lo que hace suponer una posible atracción electromagnética de ellas. Además, hay que recalcar que, en muchos casos, la calibración del aparato es difícil, por lo cual el porcentaje de error en lo que respecta al aumento exacto del microscopio, suele ser alto. Por esta razón es que los autores consideran que la identificación de virus por medio del ultramicroscopio es sumamente difícil, pues un gran número de virus difieren en poco más o menos 10 $m\mu$ en sus longitudes medias, siendo morfológica y estructuralmente similares. En todo caso, el microscopio electrónico puede abrir, sin lugar a dudas, un nuevo campo en la investigación de virus.

R E S U M E N

Se realizó un experimento destinado a determinar la eficacia de diversos tratamientos de purificación del virus del mosaico del tabaco, para su observación y fotografía al microscopio electrónico. Estos tratamientos fueron los siguientes:

- A) Centrifugación diferencial;
- B) Doble centrifugación diferencial;
- C) Precipitación con sulfato de amonio y diálisis en agua destilada;
- D) Precipitación con sulfato de amonio y diálisis en solución salina;
- E) Exudado directo de savia de una planta enferma.

Los resultados, de acuerdo a lo aparecido en las fotografías, demostraron que el mejor tratamiento es aquél que incluye la doble centrifugación diferencial, y que el método del exudado directo de la hoja puede usarse provechosamente, por la ventaja que significa la rapidez de la operación.

S U M M A R Y

Experiments on Tobacco Mosaic Virus purification methods were made in order to obtain electron microscopy photographs.

The following methods were used:

- A) Differential centrifugation;
- B) Double differential centrifugation;

- C) Ammonium sulphate precipitation and distilled water dialysis;
 D) Ammonium sulphate precipitation and saline dialysis;
 E) Sap exudation of diseased plant.

Results based on photograph study indicated that the best treatment was that of the double differential centrifugation method, and that although the sap exudation method is not so efficient, it can be used advantageously as a time saving one.

LITERATURA CITADA

1. ALVAREZ, MARIO y ACCATINO L., PRIMO. Elaboración del antisero para el virus causante del mosaico del tabaco. Agricultura Técnica. Año XXII, 153-162. Dic. 1962.
2. BAWDEN, F. C. Plant viruses and virus diseases. Chronica Botanica Company. Waltham, Mass. USA: 228, 1956.
3. BRANDES, JÜRGEN. Some remarks on the diagnosis of potato viruses by means of the electron microscope. Proc. of the 4th Conference on Potato Virus Diseases, Wageningen: 170. 1961.
4. BRUYN OUTBOTER, MARÍA; BEIJER, J. J. y SLOGTEREN E., VAN. Diagnosis of Plant Diseases by Electron-microscopy. Laboratorium voor Bloembollenonderzoek. N° 91. Marzo, 1951.
5. BURNET, F. M. y STANLEY, W. M. The Viruses. Vol. 1. Academic Press. New York, London: 287-291. 1959.
6. DORSTEN, A. C. VAN. A simplified electron microscope. Proc. of 2nd. Conference on Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen: 185. 1954.
7. KÖHLER, E. Elektronenmikroskopische untersuchungen über Kartoffel Virus X. Proc. Of the Conference on Potato Virus Diseases, Wageningen-Lisse: 81. 1951.
8. VALENTINE, ROBIN C. Contrast enhancement in the electron microscopy of viruses. Advances in virus research. Vol. 8: 287-316. 1961.
9. WILLIAMS ROBLEY C. Electron microscopy of viruses. Advances in virus research. Vol. II: 183. 1954.

NOTAS CIENTIFICAS

Dos especies nuevas de Strepsiptera en Chile

Walter Hofmann P.¹

La primera noción de la existencia de este orden en Chile data de hace algo más de cien años. En 1859, Frederick Smith² en su enumeración, cita *Chlorion spinolae* Smith, de Chile, en cuyo cuerpo se encontró una exuvia. Cincuenta años más tarde, Pierce da a conocer además *Priononyx chilensis* Lepeletier³, colectado por E. C. Reed, que contenía la exuvia de un macho. Recientemente, en 1964, el Prof. Vicente Pérez D'Angelo nos enumera cuatro especies más de Hymenoptera estilopizadas: *Hypodynerus vespiformis* Haliday, *Hypodynerus coarctatus* Saussure, *Stenodynerus scabriusculus* y *Chlorion (Priononyx) neoxenun* (Kohl). Ahora podemos agregar otra especie en el orden Hymenoptera: *Polistes versicolor peruvianus* y un Cicadellidae (Homoptera).

A continuación se describen dos especies de estos parásitos.

X E N I D A E, Semenow, 1902.

Xenos boharti, n. sp.

HEMBRA — Cefalotórax trapezoidal, truncado anteriormente, testáceo en el ápice, café obscuro en la base. Faz

dorsal cóncava. Faz ventral con una hendidura transversal, poco aparente, a la altura de la abertura genital; otra bastante profunda en el tercio basal. Largo del cefalotórax 1,313 mm., ancho 1,194 mm., distancia entre las mandíbulas 0,194 mm., largo total de la hembra 7 mm. aproximadamente. Abertura bucal ovalada. Mandíbula poco prominente, cada una con dos pequeñas protuberancias en su extremo. Abertura genital a un quinto del ápice, ligeramente curva hacia la base. Cuatro conductos genitales.

TRIUNGULINIDO — Largo, 0,235 - 0,291 mm.; largo, incluyendo las cerdas caudales, 0,373 mm.; anchura mayor 0,119 - 0,126 mm.; ancho de la cabeza, 0,074 mm.; ancho del noveno segmento abdominal 0,059 mm. La cabeza es transversal, más ancha que larga. Los ojos se componen de seis ocelos. Las antenas son pequeñas y llevan un filamento apical, aparentemente constan de dos artejos. En la faz dorsal, la cabeza está provista de pequeñas cerdas (Figura 4). Pronoto con dos cerdas muy cortas en el borde anterior y dos en el borde posterior; mesonoto y metanoto con dos cerdas posteriores cada uno. El prosterno con una cerda a cada lado en el ángulo ántero-lateral. Los segmentos abdominales I a VI con una cerda lateral, el séptimo segmento con tres cerdas y el octavo con dos cerdas largas. El noveno segmento está provisto de dos cerdas látero-posteriores; en su faz dorsal tiene dos tubérculos, cada uno de ellos con una cerda larga. Los segmentos abdominales I a VII con una hilera de pelitos irregularmente distribuidos en su borde

¹Taxónomo, Proyecto Entomología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

²Smith, Frederick. A contribution to the history of Stylops, with an enumeration of such species of exotic Hymenoptera as have been found to be attacked by those parasites. Trans. Ent. Soc. Lond. 2nd ser., vol. 3, p. 127-133. 1859.

³Actualmente *Priononyx* es considerado subgénero de *Chlorion*.