



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

DIRECCIÓN DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Trabajo de Tesis

**Revisión de especies del grupo
Ips calligraphus (Germar, 1824) (Coleoptera,
Curculionidae) presentes en los bosques de
Pino (*Pinus* spp.) del norte de Nicaragua**

Autores

Br. Roberto José Castillo Estrada

Br. Javier Alexander Altamirano Godínez

Asesores

MSc. Oswaldo Rodríguez Flores

MSc. Isaías Sánchez Gómez

Ing. Víctor Valdivia Vílchez

Presentado a la consideración del honorable comité
evaluador como requisito final para optar al grado de
Ingeniero en Sanidad Vegetal

Managua, Nicaragua

Abril, 2025

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el Honorable Comité Evaluador designado por la Dirección de Ciencias Agrícolas como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero en Sanidad Vegetal

Miembros del Comité Evaluador

MSc. Jorge Gómez Martínez

Presidente

MSc. Víctor Monzón Ruiz

Secretario

MSc. Rosa Estrada Hernández

Vocal

Lugar y fecha: Managua, Nicaragua, 29/abril/2025

DEDICATORIA

Con profunda gratitud, dedico este logro primero a Dios, fuente de sabiduría y fortaleza que me ha guiado en cada paso de esta travesía académica.

A mis amados padres, Marlene Estrada y Roberto Castillo, les dedico este logro con todo mi amor y gratitud. Su apoyo incondicional y sacrificio han sido mi mayor inspiración.

Agradezco sinceramente a mis respetados profesores, Oswaldo Rodríguez e Isaías Sánchez, por su dedicación y conocimiento compartido, que han sido faros en mi camino educativo.

A mi querida hermana Romarlen Castillo, agradezco por ser mi compañera constante en este viaje. Tu apoyo y aliento han sido invaluable y han iluminado mi camino.

A la querida Familia Mora Estrada, expresar mi eterno agradecimiento. En momentos de necesidad, su apoyo ha sido fundamental. Este logro también es suyo.

Roberto José Castillo Estrada

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a todos aquellos que me apoyaron de manera incondicional en este proceso largo y cansado, a mis padres y abuelos, que con su apoyo me permitieron estudiar y realizar este estudio.

También dedico nuestro trabajo a quienes fueron indispensables como mis asesores de tesis; MSc. Oswaldo Rodríguez, MSc. Isaías Sánchez, Ing. Víctor Valdivia, y personas que influyeron altamente en el desarrollo de este estudio como la MSc. Rosa Estrada Hernández, mi compañero de tesis Roberto Castillo que apoyaron persistentemente, su guía, apoyo, paciencia y comprensión fueron clave.

Por último, quiero dedicar nuestro logro a la familia Moreira García por su apoyo durante mi formación profesional y académica, quienes brindaron apoyo incondicional y que sin ellos no hubiese sido capaz de culminar.

Javier Alexander Altamirano Godínez

AGRADECIMIENTO

Con profundo reconocimiento, extiendo mis agradecimientos a aquellos que fueron pilares fundamentales en mi camino académico e investigativo.

A mis queridos padres, Marlene Estrada y Roberto Castillo, les expreso mi gratitud con un corazón rebosante por su apoyo incondicional y amor constante.

Aprecio la invaluable sabiduría, orientación y dedicación de mis respetados asesores, MSc. Oswaldo Rodríguez y MSc. Isaías Sánchez, Ing. Víctor Valdivia Vílchez, elementos esenciales para mi desarrollo académico.

Al señor Alcides Centeno, mi más sincero agradecimiento por poner a disposición su finca forestal, enriqueciendo de manera significativa mi investigación.

Al Museo de Entomología y al Laboratorio de Biología Molecular “Mario José Cabrera Gómez” de la Universidad Nacional Agraria, que, por medio de las gestiones de sus responsables Oswaldo Rodríguez Flores y Andrea Zamora Jarquín respectivamente, se garantizó el acceso, uso de los equipos y colecciones, además por la colaboración con algunas sustancias y materiales requeridos para los procesos realizados en la presente investigación.

A la MSc. Rosa Estrada Hernández, mi más sincero reconocimiento por su apoyo en la realización de diversos muestreos de campo, así como por el tiempo y la ayuda brindada para llevarlos a cabo.

Este logro no solo es mío, sino de aquellos que generosamente compartieron su tiempo, conocimientos y recursos. A cada persona que ha sido parte de este viaje, agradezco su contribución significativa a mi crecimiento académico y personal.

Roberto José Castillo Estrada

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a todas las personas que han contribuido al éxito de esta tesis. En especial, deseo reconocer y agradecer al MSc. Oswaldo Rodríguez, MSc. Isaías Sánchez, Ing. Víctor Valdivia, MSc. Rosa Estrada Hernández y a mi compañero Roberto Castillo por su invaluable orientación, paciencia y apoyo constante, elementos cruciales que han llevado a la culminación exitosa de este trabajo de investigación.

Además, quiero dedicar un agradecimiento especial a mis padres y abuelos, quienes han sido una fuente inagotable de apoyo, aliento y comprensión a lo largo de este proceso. Su apoyo y sacrificio han sido la base sobre la cual he construido mis logros académicos. Agradezco su constante respaldo y motivación.

A todos los demás que de alguna manera han contribuido, ya sea brindando recursos, compartiendo conocimientos u ofreciendo apoyo moral, les estoy agradecido. Este logro no habría sido posible sin la colaboración y el respaldo de cada uno de ustedes.

Javier Alexander Altamirano Godínez

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1 Importancia económica de los bosques de pinos en Nicaragua	4
3.2 Principales insectos plagas que afectan a los pinares en Nicaragua	4
3.3 Descortezadores del pino del género <i>Ips</i>	4
3.4 Características morfológicas de los descortezadores de Pino del género <i>Ips</i>	5
3.5 Bioecología de los insectos del género <i>Ips</i>	6
3.6 Daños que ocasionan los escarabajos del género <i>Ips</i>	6
3.7 Género <i>Ips</i> como plaga primaria y secundaria	7
3.8 Potencial de las especies del género <i>Ips</i> como plaga primaria en el contexto de cambio climático	8
3.9 Especies del género <i>Ips</i> en Nicaragua	9
3.10 Características del grupo <i>Ips calligraphus</i>	10
3.11 Presencia de las especies del grupo <i>Ips calligraphus</i> en Nicaragua	11
3.12 Problemas que conlleva la inadecuada identificación de una especie plaga en los programas de manejo de plagas	12
3.13 Confusión en la identificación de las especies <i>I. calligraphus</i> e <i>I. apache</i>	12
3.14 Identificación taxonómica de <i>I. apache</i> e <i>I. calligraphus</i>	13
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	14
4.1 Ubicación del estudio	14
4.2 Material biológico	14
4.2.1 Especímenes en colecciones científicas nacionales	14

4.2.2	Especímenes procedentes de Estados Unidos	15
4.2.3	Capturas de especímenes en bosques de pino	15
4.3	Identificación de especies del grupo <i>I. calligraphus</i>	16
4.3.1	Identificación por caracteres morfológicos externos	17
4.3.2	Identificación por morfometría de la genitalia masculina (edeago)	17
4.3.3	Identificación molecular	18
4.4	Variables evaluadas	20
4.5	Recolección de datos	21
4.6	Análisis de datos	21
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
5.1	Identificación por caracteres morfológicos externos	22
5.2	Identificación por morfometría de la genitalia masculina (edeago)	24
5.3	Identificación molecular de las especies del grupo <i>Ips calligraphus</i>	26
5.4	Distribución geográfica de las especies del grupo <i>Ips calligraphus</i>	29
VI.	CONCLUSIONES	33
VII.	RECOMENDACIONES	34
VIII.	LITERATURA CITADA	35
IX.	ANEXOS	43

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1.	Identificación taxonómica de las especies del grupo <i>I. calligraphus</i> presentes en los bosques de pino del norte de Nicaragua por medio de estructuras morfológicas	22
2.	Comparación morfológica del edeago de las especies del grupo <i>I. calligraphus</i> presentes en los bosques de pino del norte de Nicaragua	25
3.	Distribución geográfica de <i>I. apache</i> en los bosques de pino del norte de Nicaragua.	30

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1.	Genitalias de especies del grupo de <i>I. calligraphus</i> utilizadas en el presente estudio. A, <i>I. calligraphus</i> ; B, <i>I. cf. apache</i> ; C, <i>I. apache</i> (mediciones del edeago: <i>le</i> , longitud; <i>aa</i> , ancho anterior del lóbulo medio; <i>ap</i> , ancho posterior del lóbulo medio).	24
2.	Resultados de amplificación mediante PCR convencional para <i>I. apache</i> , <i>I. calligraphus</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i> . M: Marcador de peso molecular 100 pb, 1 y 2: amplificado de <i>I. apache</i> (muestra control); 3, 4 y 5: <i>I. cf. apache</i> ; 6, control negativo (C-); 7: <i>I. calligraphus</i> (muestra control). Ia= <i>I. apache</i> , Ir= <i>I. cf. apache</i> , Ic= <i>I. calligraphus</i> .	26
3.	Resultados de la electroforesis del producto PCR de <i>I. apache</i> , <i>I. calligraphus</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i> sometido a la digestión de la enzima HinfI. M: marcador de peso molecular 100 pb, 1 y 7: espécimen control de <i>Ips apache</i> , 2: espécimen control de <i>Ips calligraphus</i> , 3, 4 y 5: especímenes de la morfoespecie <i>I. cf. apache</i> , 6: control negativo.	27
4.	Distribución geográfica conocida de <i>I. apache</i> en los bosques de pino del norte de Nicaragua. El tamaño de los puntos rojos está relacionado con la cantidad de especímenes encontrados en la localidad donde fueron encontrados.	29
5.	Representación gráfica de tamaños de fragmentos a obtener después de la digestión con la enzima HinfI para las especies <i>I. apache</i> e <i>I. calligraphus</i> . M: Marcador de peso molecular.	46

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		PÁGINA
1.	Descripción del método salting-out para la extracción de ADN evaluado por Amini <i>et al.</i> , (2020) y modificado para la presente investigación	45
2.	Descripción del proceso de amplificación del ADN utilizado en el presente estudio	45
3.	Descripción de la técnica de la digestión con enzimas de restricción con los productos PCR	46
4.	Estadísticos descriptivos para la variable longitud del edeago de <i>I. calligraphus</i> , <i>I. apache</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i>	47
5.	Comparación estadística de la variable longitud del edeago de <i>I. calligraphus</i> , <i>I. apache</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i> por medio de la prueba Kruskal-Wallis con un nivel de confianza de 0.05	47
6.	Prueba de efectos entre sujetos (Post-hoc) para la variable longitud del edeago de <i>I. calligraphus</i> , <i>I. apache</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i> por medio de la prueba de Dunn	47
7.	Estadísticos descriptivos para la variable ancho anterior del lóbulo medio del edeago de <i>I. calligraphus</i> , <i>I. apache</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i>	47
8.	Comparación estadística de la variable ancho anterior del lóbulo medio del edeago de <i>I. calligraphus</i> , <i>I. apache</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i> por medio de la prueba Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de confianza de 0.05	48
9.	Pruebas de los efectos entre sujetos (Post-hoc) para la variable ancho anterior del lóbulo medio del edeago de <i>I. calligraphus</i> , <i>I. apache</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i> por medio de la prueba Tukey HSD	48
10.	Estadísticos descriptivos para la variable ancho posterior del lóbulo medio del edeago de <i>I. calligraphus</i> , <i>I. apache</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i>	48
11.	Comparación estadística de la variable ancho posterior del lóbulo medio del edeago de <i>I. calligraphus</i> , <i>I. apache</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i> por medio de la prueba Kruskal-Wallis con un nivel de confianza de 0.05	48
12.	Prueba de efectos entre sujetos (Post-hoc) para la variable ancho posterior del lóbulo medio del edeago de <i>I. calligraphus</i> , <i>I. apache</i> y la morfoespecie <i>I. cf. apache</i> por medio de la prueba de Dunn	49

RESUMEN

En Nicaragua dos especies del grupo *Ips calligraphus* están reportadas: *Ips calligraphus* e *Ips apache*, las cuales son consideradas plagas ocasionales u oportunistas. Sin embargo, existen reportes nacionales y científicos que indican que estas especies ocasionan pérdidas importantes en los sistemas forestales de pino. De *I. calligraphus* se conocen varios aspectos bioecológicos y económicos, pero pocos de *I. apache*. La conducta biogeográfica y el estatus taxonómico de estas dos especies, en Nicaragua y otros países de Centroamérica, no se han abordado apropiadamente. Esto conlleva a problemas de eficiencia para los programas de prevención, monitoreo y manejo para estas plagas forestales. Por lo tanto, se realizó una investigación para caracterizar las especies del grupo *I. calligraphus* presentes en Nicaragua desde aspectos taxonómicos, morfológicos y de distribución geográfica. Se realizó el registro de datos geográficos y la identificación taxonómica de los especímenes del grupo *I. calligraphus* presentes en las colecciones entomológicas nicaragüenses, además se realizaron capturas en localidades del norte del país. La identificación taxonómica se hizo por caracteres morfológicos y por técnicas moleculares. Los registros geográficos y las abundancias de especies se analizaron por estadísticos descriptivos, las mediciones morfométricas se analizaron con estadísticos inferenciales. La identificación taxonómica con caracteres morfológicos externos reveló que, de 2123 especímenes, un 82.81% eran *I. apache*, la cantidad restante (17.19%) tampoco clasificaron como *I. calligraphus*, denominando a este grupo como morfoespecie *I. cf. apache*. Las mediciones morfométricas del edeago de *I. apache*, *I. calligraphus* y la morfoespecie no permitieron diferenciar si esta última era una variante morfológica de estas especies. El análisis molecular confirmó que la morfoespecie era una variante morfológica de *I. apache*. Los registros geográficos de *I. apache* son amplios, ubicándose en la mayoría de los sitios donde están los pinares de Nicaragua. Se concluye que *I. apache* es la única especie del grupo *I. calligraphus* presente en los bosques de pino del norte de Nicaragua y que tiene una amplia distribución geográfica en el país. Para la diagnosis taxonómica de *I. apache* e *I. calligraphus* con caracteres morfológicos se propone las mediciones de la anchura anterior y posterior del edeago.

Palabras clave: Biogeografía, escarabajos descortezadores del pino, grabador del pino, *Ips apache*, pinares, plagas forestales.

ABSTRACT

In Nicaragua, two species from the *Ips calligraphus* group have been reported: *Ips calligraphus* and *Ips apache*, which are considered occasional or opportunistic pests. However, national and scientific reports indicate that these species cause significant losses in pine forest systems. Several bioecological and economic aspects of *I. calligraphus* are known, but little is known about *I. apache*. The biogeographic behavior and taxonomic status of these two species in Nicaragua and other Central American countries have not been properly addressed. This leads to inefficiencies in prevention, monitoring, and management programs for these forest pests. Therefore, a study was conducted to characterize the species of the *I. calligraphus* group present in Nicaragua from taxonomic, morphological, and geographical distribution perspectives. Geographic data were recorded, and taxonomic identification was carried out on specimens from the *I. calligraphus* group found in Nicaraguan entomological collections. Additionally, captures were conducted in northern regions of the country. Taxonomic identification was performed using morphological characteristics and molecular techniques. External morphological taxonomic identification revealed that, out of 2,123 specimens, 82.81% were *I. apache*. The remaining 17.19% did not classify as *I. calligraphus* either and were designated as the morphospecies *I. cf. apache*. Morphometric measurements of the aedeagus in *I. apache*, *I. calligraphus*, and the morphospecies did not allow differentiation of whether the latter was a morphological variant of these species. Molecular analysis confirmed that the morphospecies was a morphological variant of *I. apache*. The geographical records of *I. apache* are extensive, covering most of the pine forest sites in Nicaragua. It is concluded that *I. apache* is the only species from the *I. calligraphus* group present in the pine forests of northern Nicaragua and that it has a broad geographical distribution in the country. For the taxonomic diagnosis of *I. apache* and *I. calligraphus* using morphological characteristics, measurements of the anterior and posterior width of the aedeagus are proposed.

Keywords: Biogeography, bark beetles, coarsewriting engraver beetle, *Ips apache*, pine forests, forest pests.

I. INTRODUCCIÓN

Los bosques de pinos en Nicaragua cubren alrededor de 514,879 hectáreas de pino (Ministerio Agropecuario Forestal [MAGFOR], 2005). En estos bosques destaca el género *Pinus* Lindl. (Programa Socioambiental y de Desarrollo Forestal [POSAF], 2006) que en Nicaragua está representado por cuatro especies, como son: *Pinus caribaea* var. *hondurensis* (Sénécl.) W.H. Barrett & Golfari, *P. maximinoi* H.E. Moore, *P. oocarpa* Schiede ex Schltdl. var. *oocarpa* y *P. tecunumanii* F. Schwerdtf. ex Eguiluz & J.P. Perry) (Salas, 1993). Las especies del género *Pinus* son considerados recursos valiosos por su importancia económica, la diversidad de su uso, además que representan un gran potencial turístico, contribuyendo a la generación de oxígeno, al equilibrio climático y a la proporción y preservación de un hábitat natural indispensable para la vida silvestre (Gradis y Trujillo, 2006).

Las plagas forestales es uno de los factores que están amenazado los bosques de pino en Nicaragua (Instituto Nacional Forestal [INAFOR], 2008). Los períodos de sequías prolongados, incendios forestales y la debilitación de los árboles por otros factores, han facilitado el ataque de plagas en el bosque de pinos, principalmente por los gorgojos descortezadores de los géneros *Dendroctonus* e *Ips* (Sediles y Álvarez, 2001). En el país en los últimos 20 años se han reportados más de 32,873.46 hectáreas afectadas por las plagas de los descortezadores del pino, ocasionando una pérdida económica de unos 37 millones de dólares (INAFOR, 2008). Dos los dos géneros de descortezadores de pino conocidos para Nicaragua, se le reconoce mayor importancia fitosanitaria a *Dendroctonus* denominándole descortezador primario (Wood, 1982; Armendáriz-Toledano *et al.*, 2018).

Las especies del género *Ips* se consideran como especies descortezadoras secundarias (Camacho, 2012) porque frecuentemente los árboles afectados están muertos, estresados, debilitados o después del ataque de especies del género *Dendroctonus* (Hernández, 2015; Cognato, 2015). Sin embargo, existen evidencias que, en ocasiones, especies de este género llegan a destruir miles de hectáreas de árboles sanos, existiendo casos en los cuales las especies de este género se comportan como descortezadores primarios en pino (Cognato, 2015; Morales-Martínez *et al.* 2023). Además, las especies de este género están relacionados con el manchado azul de la madera de pino (Rodríguez-Flores y Estrada-Hernández, 2024).

En especies de escarabajos descortezadores primarios del género *Dendroctonus*, se ha identificado una relación positiva entre la abundancia y el gradiente altitudinal (Soto-Correa *et al.*, 2019) lo que en ciertas condiciones limitaría a estas especies primarias. En cambio, las especies del género *Ips* tienen una mayor distribución geográfica. Esto se ha evidenciado en Panamá, donde *I. apache* Lanier, 1991 se ha encontrado entre los 874 a 1496 msnm (Smith y Cognato, 2009), mientras que *I. calligraphus* (Germar, 1824) afectando plantaciones de *P. caribaea* entre los 28 y 49 msnm (Jaén, 2013). La condición de amplia distribución geográfica de estas especies, en el contexto del cambio climático según Laštůvka (2009), puede ocasionar cambios en la ocurrencia e importancia de las plagas, especialmente en especies con mayores rangos de adaptación a las condiciones de sequía.

En diferentes investigaciones realizadas en los bosques de pino de Nicaragua la especie de *Ips* dominante identificada ha sido *Ips calligraphus* (Maes y Téllez, 1988; Maes, 1992; Maes, 1998; Nunes y Arce, 2004; Jiménez *et al.*, 2005). También se ha reportado *I. apache* (INAFOR *et al.*, 2020). Ambas especies son las que conforman el grupo taxonómico *Ips calligraphus* (Atkinson, 2023), Estas especies tienen distribuciones geográficas diferentes, *I. apache* tiene una distribución neotropical, mientras que *I. calligraphus* su distribución es más neártica (Douglas *et al.*, 2019). Sin embargo, en Panamá se ha reportado la presencia de ambas especies (Smith y Cognato, 2009; Jaén, 2013). Esto genera dos interrogantes principales, una relacionada con la distribución geográfica conocida de ellas y la otra relacionada con la apropiada identificación taxonómica en ambas localidades, esto último, según Macias-Sámano *et al.*, (2024), es algo requerido para las especies presentes en Panamá y en la región centroamericana.

Según Gómez *et al.*, (2020) para Centroamérica el manejo de las plagas de descortezadores del pino debe basarse en la ciencia regional. La cual debe incluir aspectos taxonómicos, biogeográficos y ecológicos porque, según la FAO (2006), la detección e identificación adecuada de plagas son cruciales para la aplicación adecuada de medidas fitosanitarias. Además, que las estrategias efectivas de manejo de plagas de insectos se construyen sobre la base de la precisa identificación y comprensión de la historia de vida y los hábitos del insecto (Gibb, 2014). En Nicaragua no se ha realizado una investigación enfocada en la identificación precisa y la distribución geográfica de las especies del grupo *I. calligraphus*, por tal razón la presente investigación busca a contribuir con dicho conocimiento.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Caracterizar la taxonomía, morfología diagnóstica y distribución geográfica de las especies del grupo *Ips calligraphus* presentes en los bosques de pino del norte de Nicaragua.

2.2 Objetivos específicos

Determinar taxonómicamente, por medio de estructuras morfológicas y comparación molecular, las especies del grupo *Ips calligraphus* capturadas en los bosques de pino.

Identificar características morfológicas diagnósticas para la determinación taxonómica de las especies del grupo *Ips calligraphus* capturadas en los bosques de pino del norte de Nicaragua.

Describir la distribución geográfica de las especies del grupo *Ips calligraphus* en los bosques de pino.

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Importancia económica de los bosques de pinos en Nicaragua

En Nicaragua, los bosques de pino se encuentran distribuidos principalmente en las regiones del Atlántico, Norte y Pacífico (POSAF, 2006). Este bosque está integrado por especies del género *Pinus* Lindl., el cual, en el país, está representado por cuatro especies (*Pinus caribaea* var. *hondurensis* (Sénécl.) W.H. Barrett & Golfari, *P. maximinoi* H.E. Moore, *P. oocarpa* Schiede ex Schltdl. var. *oocarpa* y *P. tecunumanii* F. Schwerdtf. ex Eguiluz & J.P. Perry) que ocurren naturalmente (Steven *et al.*, 2001). Los bosques de pino desempeñan diferentes funciones sobre la tierra o sobre el sistema natural y se pueden agrupar en protectoras, reguladoras y productivas, las cuales, adquieren un valor económico de acuerdo con el uso y valor que le asigne (POSAF, 2006). En el país todas las especies del género *Pinus* son importantes fuentes de madera y resina, también son un recurso natural importante y las semillas son muy apreciadas para los proyectos de reforestación en los trópicos (Steven *et al.*, 2001). Las especies del género *Pinus* son las que más aportan a la producción de madera del Nicaragua (INAFOR, 2008).

3.2 Principales insectos plagas que afectan a los pinares en Nicaragua

En Nicaragua se han identificados 15 problemas fitosanitarios relacionados con plagas y enfermedades que afectan las especies de pino (INAFOR *et al.*, 2020). Una causa importante del deterioro de los pinares en el país son las plagas forestales, siendo los gorgojos descortezadores las plagas más destructoras (Billings *et al.*, 2004). Sin embargo, por prácticas inadecuadas en los pinares de Centroamérica, como los incendios forestales, los pinos se debilitan, producen menos resina y se defienden peor contra los ataques iniciales de los gorgojos primarios (*Dendroctonus* spp.) y secundarios (*Ips* spp.) (Billings *et al.*, 2004).

3.3 Descortezadores del pino del género *Ips*

Los descortezadores de pino del género *Ips* son insectos del orden Coleóptera que pertenecen a la familia Curculionidae, subfamilia Scolytinae (Lawrence & Newton, 1995). Las especies de este género tienen hábitos alimenticios del tipo fleófago atacando plantas de la familia Pinaceae, de los géneros *Pinus*, *Picea* y *Larix*, siendo habitual ataques en pinares cortados, caídos,

estresados o debilitados por ataques del género *Dendroctonus* (Douglas *et al.*, 2019; Hernández, 2015; Wood, 1982).

Según Douglas *et al.*, (2019) es un género representado por 37 especies validas, teniendo una distribución nativa dominante en Norteamérica. Sin embargo, este mismo autor indica que tiene presencia de algunas de sus especies en Europa y Asia. En Centroamérica, el género está representado por siete especies como son: *Ips cribricollis* (Eichhoff, 1868), *I. integer* (Eichhoff, 1869), *I. bonanseai* (Hopkins, 1905), *I. apache* Lanier, 1991, *I. grandicollis* (Eichhoff, 1868), *I. lecontei* Swaine, 1924 e *I. calligraphus* (Germar, 1824) (Douglas *et al.*, 2019; Jaén, 2013; Macias *et al.*, 2021; Rodríguez *et al.*, 2011; Smith y Cognato 2009). Sin embargo, según Macias-Sámano *et al.*, (2024) es posible que esta cantidad sea menor por los problemas de identificación que conlleva la diagnosis taxonómica de *I. calligraphus* a través de caracteres morfológicos.

El género *Ips* en América, se distribuye desde los bosques de coníferas de Alaska (Estados Unidos) hasta Panamá, incluyéndose también la presencia en países del Caribe (Arguedas, 2007; Douglas *et al.*, 2019).

3.4 Características morfológicas de los descortezadores de Pino del género *Ips*

Los huevos de las especies del género *Ips* son color blanco brillante ovalados y perlados; las larvas son apodas de color blanco, presentando la cabeza ligeramente esclerotizada con un par de tubérculos en la frente (en ciertas especies); la pupa es del tipo exarata blanca en donde se aprecia las antenas y alas las cuales se oscurecen conforme madura (Camacho, 2012). Los adultos de *Ips*, son de forma cilíndrica con una coloración que varía de café oscuro a negro, con una longitud de 2.1 a 6.9 mm (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza [CATIE], 1991) las antenas constan de cinco segmentos funiculares y con una maza antenal ovalada con suturas que divide la cara anterior las cuales varían en forma. El declive elitral es cóncavo con espinas a lo largo de los márgenes laterales. En la genitalia masculina, el canal seminal presenta formas variables, pero consistentemente representado como dos varillas ya sea paralelos o cruzados entre sí y terminando en una punta aguda o ancha (Cognato, 2015).

3.5 Bioecología de los insectos del género *Ips*

Las especies del género *Ips* son polígamos y depende entre las especies la cantidad de hembra que permite introducir en la cámara nupcial, variando de dos a seis hembras por cámara (Cognato, 2015). El macho es el que coloniza al árbol el cual perfora parte de la corteza hasta llegar al floema construyendo su cámara nupcial y las galerías rudimentarias para los huevos que depositará la hembra las cuales son atraídas por feromonas de agregación que produce el macho (Tkacs *et al.*, 1998). Después del apareamiento las hembras siguen excavando las galerías en el floema, colocando de 20 a 30 huevos a lo largo de las paredes de la galería que en dependencia de la temperatura los huevos eclosionan después de los siete días y los estadios larvarios se alimentan bajo la corteza durante tres a seis semanas hasta la pupa (Cognato, 2015).

La fase larvaria se alimenta exclusivamente de floema, manteniendo los adultos las galerías limpias del aserrín que se genera, posteriormente la larva excava en el floema para empupar en una celda oval, eclosionando el adulto alrededor de uno a tres semanas, cuando el adulto emerge permanece corto tiempo alimentándose debajo de la corteza cerca de la cámara pupal durante una a dos semanas (Ostmark, 1966; Cognato, 2015). Una vez que se esclerotiza sale de la galería siendo capaz de volar y poder dispersarse comenzando una vez más el ciclo (Garraway, 1986). Dependiendo del clima el ciclo biológico de los *Ips* puede desarrollarse entre seis a ocho semanas, ocurriendo de una a cinco generaciones por año (Cognato, 2015).

3.6 Daños que ocasionan los escarabajos del género *Ips*

Estos insectos afectan a especies de la familia Pinacea, especialmente del género *Pinus* (Douglas *et al.*, 2019). Este es un recurso natural importante y las semillas son muy apreciadas para los proyectos de reforestación en los trópicos, además de que muchas especies son maderables (Stevens *et al.*, 2001).

Los daños que presentan los árboles afectados por *Ips* es que una vez que los adultos se reproducen en las galerías que realizan, las larvas se alimentan del floema anillando la parte interior de la corteza impidiendo el flujo de nutrientes a las raíces marchitándose el follaje prosiguiéndole la muerte del árbol (López *et al.*, 2009). En general el ataque de las diferentes

especies de *Ips* puede darse en el tronco principal, ramas o copa de los árboles (Hernández, 2015).

En algunas ocasiones, descortezadores del género *Ips* realizan ataques primarios en árboles sanos, pudiendo afectar grandes extensiones de bosques, ocasionando de esta manera daños económicos considerables al momento de atacar bosques de coníferas, tal y como sucedió en República Dominicana en el 2019 con la especie de *Ips calligraphus* que para su manejo se invirtió alrededor de \$4.6 millones (Wood, 1982; Corcino 2019; Hernández *et al.*, 2022). Otro daño que está asociado con estos insectos es el ser vectores de hongos del manchado azul de la madera (Guerra *et al.*, 1989; Rodríguez-Flores y Estrada-Hernández, 2024).

3.7 Género *Ips* como plaga primaria y secundaria

Aunque los *Ips* se consideran plaga secundaria, en ocasiones, especies de este género se comporta como especies primarias (Hernández, 2015), pudiendo destruir miles de hectáreas de árboles sanos (Cognato, 2015). Los *Ips* pasan a ser plagas primarias por diferentes razones como la preferencia de árboles con diámetro de tallo pequeño (Fonseca *et al.*, 2008), las existencias de zonas donde solo se encuentra descortezadores del género *Ips* (Garraway, 1986), por sitios con árboles menos espaciados y dañados por diversos factores, siendo estos susceptible de ser invadidos (Villa y Wagner, 1996). También por pueden ocasionar ataques primarios en árboles con daño por fuego en la copa (Bradley & Tueller, 2001), por su reproducción de manera masiva atacando así árboles jóvenes y sanos (McMillin & DeGomez, 2008), desarrollándose en pinos tumbados, tronco de pino apilados, promoviendo la explosión poblacional de insectos de este género (Villa y Wagner, 1996).

Existen situaciones o condiciones en las cuales especies del género *Ips* se comportan como descortezadores primarios, llegando a causar la mortalidad de árboles de pino. A continuación, se mencionan registros de ataques con especies del género *Ips* como protagonistas: *I. confusus* ha afectado a un total de 95 hectáreas de *Pinus cembroides* en la Región Central de Chihuahua México en el periodo 2000-2014 (Maldonado, 2015), en el sureste de los Estados Unidos, esta misma especie en el periodo 2001-2004 ocasionó entre un 15-30% de mortalidad en pinos piñoneros en un área de 1.6 millones de hectárea (Williams *et al.*, 2010, como se citó en Hernández, 2015). La especie *I. typographus* se relaciona con la mortalidad en *Picea abies*

(Schröder & Lindelow, 2002) causando en Europa la muerte de miles de hectáreas de estos árboles conocidos como abetos (Li *et al.*, 2021).

En Cuba los mayores daños las plantaciones de *Pinus* recaen en las especies *I. grandicollis* e *I. calligraphus* (López *et al.*, 2009). En República Dominicana, Guzmán (2020, como se citó en Jiménez *et al.*, 2022) señala que *I. calligraphus* es responsable de la destrucción de 8000 hectáreas de bosque de *Pinus occidentalis*, en el último ataque reportado, 2019, se asocia con la tala de 303,000 pinos afectados (Corcino, 2019). En Panamá esta misma ha afectado, entre los años 2009 y 2011, áreas con *P. caribaea* var. *horudensis* de 14 y 30 años, siendo responsable de un 38% de mortalidad de árboles por hectárea (Jaén, 2013).

En México se registró el ataque de *I. apache* en vivero con plantitas de *Pinus devoniana* Lindl. con alturas de 90 cm, los daños fueron ocasionados en tallos y ramas (Morales-Martínez *et al.*, 2023). En Panamá, Rodríguez-Flores y Estrada-Hernández (2024), plantean que esta especie es la involucrada en daños indirectos (vectores del hongo del manchado azul) en la madera de *P. caribaea* var. *horudensis* producida en una reserva forestal del este país.

3.8 Potencial de las especies del género *Ips* como plaga primaria en el contexto de cambio climático

La temperatura es el principal impulsor del desarrollo y la abundancia de insectos herbívoros (Ayres y Lombardero, 2000). Con respecto a la influencia del clima en los eventos epidémicos de gorgojos descortezadores, Rivera *et al.*, (2010) reforzó esta influencia, encontrando una correlación entre la temperatura y la precipitación que influyen en momentos determinados (brotes) y en áreas afectadas por gorgojos descortezadores en Honduras. A medida que aumentan las temperaturas, se espera que muchas especies de insectos plagas respondan aumentando su número de generaciones por año, además que algunos fitófagos tengan un mayor desarrollo y reproducción bajo niveles elevados de dióxido de carbono (CO₂) producto del calentamiento global (Whittaker, 2001).

También se han observado disminuciones en las concentraciones de compuestos defensivos en tallos de árboles afectados por la sequía (Kainulainen *et al.*, 1998). Estas reducciones en los químicos de defensa podrían hacer que los árboles sean más susceptibles a las plagas del tallo, como los barrenadores del tallo y los escarabajos de la corteza (Old y Stone, 2005).

En especies de escarabajos descortezadores primarios del género *Dendroctonus*, se ha identificado una influencia de las variables climáticas: sensación térmica, presión atmosférica y precipitación en las abundancias de sus poblaciones (López *et al.*, 2017) lo cual está relacionados con el gradiente altitudinal del hábitat, existiendo una relación positiva entre la abundancia y el gradiente altitudinal (Soto-Correa *et al.*, 2019) lo que en ciertas condiciones limitaría a estas especies primarias. En cambio, las especies del género *Ips* tienen una mayor distribución geográfica, en Panamá *I. apache* se ha encontrado entre los 874 a 1496 msnm (Smith y Cognato, 2009), *I. calligraphus* afectando plantaciones de *P. caribaea* entre los 28 y 49 msnm en la franja pacífica de este país (Jaén, 2013).

Esta condición de amplia distribución geográfica de estas especies indica que poseen mayor adaptabilidad y elasticidad ecológica que las especies de descortezadores primarios, que, en condiciones de cambio climático, según Laštůvka (2009) se pueden dar cambios en la ocurrencia e importancia de las plagas, especialmente en especies con mayores rangos de adaptación a las condiciones de sequía.

3.9 Especies del género *Ips* en Nicaragua

Las especies del género *Ips* registradas para Nicaragua son: *I. calligraphus*, *I. cribricollis*, *I. grandicollis*, *I. lecontei* e *I. apache* (Maes, 1998; Nunes y Arce, 2004; Jiménez *et al.*, 2005; INAFOR *et al.*, 2020). De estas especies reportadas para Nicaragua, es *I. calligraphus* la especie más agresiva, teniendo la capacidad de vencer la resistencia de los árboles en pie (López *et al.*, 2009).

El Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA, 2021) en su “Lista de plagas No cuarentenarias en Nicaragua” señala únicamente a *I. calligraphus* e *I. grandicollis* como plagas en pinares. Douglas *et al.*, (2019) en un reciente trabajo taxonómico señala que de centroamérica se encontraron cinco especies del género *Ips*, como son: *I. cribricollis*, *I. bonanseai*, *I. integer*, *I. lecontei* e *I. apache*. Este mismo autor, en su trabajo sólo registro dos especies para Nicaragua, como son: *I. apache* y *I. cribricollis*, además indica que la distribución geográfica de *I. calligraphus* está dentro del subcontinente norteamericano y en algunas islas del Caribe.

Tomando en cuenta con reportes de los países centroamericanos, en Honduras la especie de *Ips* registrada es *I. apache* (Douglas *et al.*, 2019), sin embargo, existe la confusión por el reporte

previo *I. calligraphus* (Thunes *et al.*, 2005;). En Panamá, Jaén (2012) señala la presencia de *I. calligraphus* afecta a los bosques de pino del país, no obstante Smith & Cognato (2009) reportaron a *I. apache* en parches de pino en este país. En Costa Rica, Arguedas (2007), reporta a *I. calligraphus* se encuentra afectando los pinares establecidos.

Según Macias-Sámano *et al.*, (2024) el caso de *I. calligraphus* en Panamá resulta especialmente interesante, porque la literatura taxonómica reciente, Douglas *et al.*, (2019) no reporta la presencia de esta especie en Panamá. Esto, según Rodríguez-Flores y Estrada-Hernández (2024), pudiera ser una equivocación en la determinación de la especie, porque estos autores plantean que, por la presencia geográfica, la especie que afecta los pinares en Panamá es *I. apache*.

Si se toma de referencia que *I. calligraphus* es una especie que se distribuye en la región del Neártico (Douglas *et al.*, 2019), se podría considerar que la especie presente en Nicaragua es *I. apache* en vez de *I. calligraphus*. Sin embargo, dado que Panamá es un centro de logística mundial, además que se tiene la duda si ambas especies existen en este país o es una sola, surge la necesidad revisar el estado poblacional de estas especies en Nicaragua y en los demás países centroamericanos. Asumir por defecto, puede ser irresponsable y, de cierto modo, peligroso para la seguridad forestal del país y la región centroamericana.

3.10 Características del grupo *Ips calligraphus*

Hopping (1963) organizó las especies del género *Ips* en diez grupos basándose en las esclerotizaciones de la genitalia de los machos. El grupo *Ips calligraphus* (Germar, 1824) está compuesto de escarabajos descortezadores del género *Ips* DeGeer, 1775, que poseen seis espinas a cada lado de los márgenes laterales del declive elitral (Lanier, 1991). Las características morfológicas generales de este grupo fueron dadas por Hopping (1965), Lanier (1972) y Wood (1982). Las especies que integran este grupo ha sido motivo de controversia: Hopping (1963, 1965) designó cuatro especies (*I. calligraphus*, *I. ponderosae*, *I. interstitialis* e *I. sexdentatus*), Lanier (1972) realiza una revisión de este grupo considerando que sólo dos especies lo integran (*I. calligraphus* e *I. interstitialis*), Wood (1982) indicó que sólo la especie *Ips calligraphus* podía ser incluida en este grupo, porque no encontró los caracteres morfológicos descritos por Lanier (1972) para separar las especies y subespecies propuestas por este autor.

Lanier *et al.*, (1991) reconoció dos especies del grupo *I. calligraphus*, como son: *I. calligraphus* e *I. apache*, de la especie *I. calligraphus* reconoció tres subespecies (*I. calligraphus calligraphus*, *I. calligraphus ponderosae* e *I. calligraphus interstitialis*). Según Atkinson (2023) en la actualidad las subespecies de *I. calligraphus* propuestas por Lanier *et al.*, (1991) no se reconocen debido a las dificultades prácticas que implica volver a examinar un gran número de especímenes, especialmente de los registros publicados. Por lo tanto, hoy en día sólo las especies *I. calligraphus* e *I. apache* se consideran las integrantes del grupo *I. calligraphus*.

3.11 Presencia de las especies del grupo *Ips calligraphus* en Nicaragua

La información generada en Nicaragua, indica que las dos especies, *I. apache* e *I. calligraphus*, del grupo *Ips calligraphus* están presentes en el país. Investigaciones realizadas en el país indican que *I. calligraphus* es la especie dominante y relacionada con los ataques de descortezadores. Douglas *et al.*, (2019) indican que solo la especie *I. apache* de este grupo se conoce de Nicaragua, sin embargo, en el país no existe un estudio revise detalladamente los aspectos biogeográficos y taxonómicos de estas especies, así como que aclare en realidad el estatus de estas especies en el país.

La historia de vida, hábitos de biogeografía de *I. calligraphus* están documentadas por varias investigaciones realizadas en Norteamérica (Wood y Stark, 1968; Zamora y Lapis, 1987; Lanier *et al.*, 1991; Camacho, 2012; Cognato, 2015; Douglas *et al.*, 2019; Jiménez *et al.*, 2022). En cambio, de *I. apache* se conoce muy poco de sus aspectos biológicos y ecológicos, esto porque es una especie de muy baja prevalencia y de menor impacto económico en países con tradición y recursos de investigación.

La distribución geográfica de *I. apache* ocurre desde limite sur de los Estados Unidos hasta Panamá (Lanier *et al.*, 1991; Douglas *et al.*, 2019), prácticamente en la parte norte de la región neotropical, lo repercute en el conocimiento de su historia natural. Esto porque, si bien es cierto que es una región mega diversa, la disponibilidad de recursos técnicos y económicos para estudiar, manejar y conservar a los elementos de la biodiversidad en las regiones mega diversas del neotrópico es desigual en comparación de los países desarrollados (Rodríguez *et al.*, 2005).

3.12 Problemas que conlleva la inadecuada identificación de una especie plaga en los programas de manejo de plagas

La detección e identificación adecuada de plagas son cruciales para la aplicación adecuada de medidas fitosanitarias (FAO, 2006). Las estrategias efectivas de manejo de plagas de insectos se construyen sobre la base de la precisa identificación y comprensión de la historia de vida y los hábitos del insecto (Gibb, 2014).

La incorrecta identificación de las especies de *Ips* dominantes en los sistemas forestales de Nicaragua, incurre en aplicar medidas de prevención y manejo de una especie que posiblemente no se encuentre en el país o que existen especies crípticas y sintópicas en los ecosistemas afectados. Esto pone en riesgo la efectividad de estos programas de manejo para las especies locales. Según Gómez *et al.*, (2020) para Centroamérica el manejo de las plagas de descortezadores del pino debe basarse en la ciencia regional.

3.13 Confusión en la identificación de las especies *I. calligraphus* e *I. apache*

Ips calligraphus tiene un tamaño de 3.9-5.9 mm de largo de apariencia robusta de forma cilíndrica, presentando una coloración café rojiza muy oscura casi negra en el caso de adultos maduros y color café claro en adultos inmaduro, siendo una característica para su diagnóstico el presentar seis espinas en cada lado de su declive elitral (Cribian *et al.*, 1995). *Ips apache* es muy similar a *I. calligraphus*, presenta un tamaño de 3.8-5.3 mm presentado variación, su color es un marrón rojizo oscuro hasta negro, esta especie tiene 6 pares de espinas en su declive elitral, (Douglas *et al.*, 2019; Thunes *et al.*, 2005), con la similitud que presentan ambas especies provoca cierto nivel de dificultad, para identificar con certeza la especie correcta.

Las claves dicotómicas más reciente publicada que separa ambas especies, es la publicada por Douglas *et al.*, (2019) “Dichotomous and matrix-based keys to the *Ips* bark beetles of the World (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)” dicha publicación separa a las especies del género *Ips* en general, en el caso de *I. calligraphus* e *I. apache*, la última clave que separa a cada especie se basa en la anchura pronotal de cada especie, siendo de 1.7mm o menos para *I. apache* y de 2 mm o más para *I. calligraphus*, existiendo un vacío en la clave, no entrando los especímenes que cuenten con una anchura pronotal de 1.71-1.99mm.

3.14 Identificación taxonómica de *I. apache* e *I. calligraphus*

Lanier *et al.*, (1991) indica que existe validez en distinguir *I. apache* dentro de las especies del grupo *I. calligraphus*, dentro de los caracteres que este autor evaluó, encontró pequeñas, pero consistentes diferencias morfológicas que permiten separar esta especie. Para la separación de *I. apache* e *I. calligraphus*, Cognato (2015) y Douglas *et al.*, (2019), indican que ambas especies se pueden separar por el tamaño de dos caracteres morfológicos: anchura del pronoto (1.615 ± 0.021 mm para *I. apache* y de 2.033 ± 0.018 mm para *I. calligraphus*) y por el ancho de la separación de los bordes estridulatorios en las hembras (valores medios: *I. apache* = $0.9 \mu\text{m}$; *I. calligraphus* = $1.0 \mu\text{m}$). Camacho (2012) establece que la distancia del tubérculo frontal y el margen epistomal, el diámetro de las punturaciones de las interestrías en comparación de las punturaciones de las estrías elitrales y la presencia de estas punturaciones interestríales en las interestrías 2 y 3, permiten separar ambas especies.

Un posible método para la identificación de estas especies de *Ips*, es la extracción de edeago. Castañeda-Vildózola *et al.*, (2007) indica que en los coleópteros la genitalia, especialmente en la del macho, posee características únicas a nivel de especie, siendo una manera de distinguir especies de aspecto muy parecido. En el caso de las especies del género *Ips* Lanier *et al.*, (1991) realizó morfometría del edeago (genitalia masculina) de cuatro variables, como son las longitudes del lóbulo medio, del canal seminal y de los apodemas, así como la anchura del lóbulo medio. Este autor identificó que existen diferencias en las dimensiones de la genitalia que permiten separar las especies del género *Ips*.

Aunque Lanier *et al.*, (1991) indica que existen diferencias morfológicas consistentes que permiten separar ambas especies. La determinación taxonómica utilizando caracteres morfológicos enfrenta obstáculos, entre ellos: mala preservación de los insectos, pérdida de caracteres y el tamaño pequeño (Dowell *et al.*, 1999; Liu, 2010). Por lo cual el uso de herramientas moleculares es de suma importancia para la acertada identificación de estas especies, una de ellas es la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para amplificar tramos cortos de ADN; en especies de *Ips* se utiliza el gen mitocondrial del citocromo C oxidasa subunidad I (COI) (Gijón-Hernández *et al.*, 2016).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del estudio

La investigación se realizó con especímenes del grupo *I. calligraphus* capturados en investigaciones previamente realizadas en los bosques de pino de Nueva Segovia y Estelí, además se realizaron capturas en estos sitios. Los especímenes capturados en investigaciones previas se encontraban depositados en las colecciones científicas de los Museos de Entomología de la Universidad Nacional Agraria y del Museo Entomológico de León.

El bosque de pino del norte de Nicaragua está restringido a las tierras altas la zona norcentral del país (Stevens *et al.*, 2001). Aunque la zona norcentral incluye parte de los departamentos de Chinandega, León, Managua, Boaco, Chontales y la Costa Caribe, los departamentos que incluye en toda su extensión son los departamentos de Estelí, Madriz y Nueva Segovia (POSAF, 2006). Estelí limita al norte con Madriz, al sur con Matagalpa y León, al este con Jinotega y oeste con Chinandega y Madriz; Nueva Segovia se ubica en el extremo noroeste de Nicaragua, el cual limita al sur con el departamento de Madriz, al este con el departamento de Jinotega y al oeste y norte con la Republica de Honduras (Instituto Nacional de Información de Desarrollo [INIDE] y MAGFOR, 2013). En los pinares de Nueva Segovia la especie de pino dominante es *P. oocarpa*, representando un 85.7% (INAFOR, 2009) especie que también es dominante en las reservas naturales del departamento de Estelí (MARENA, 2021a; MARENA, 2021b).

4.2 Material biológico

El material biológico utilizado en el presente trabajo fueron especímenes de especies del grupo *I. calligraphus* procedentes de tres orígenes: colecciones nacionales, capturas realizadas en Estados Unidos (donación) y capturas realizadas en bosques de pino ubicados en norte de Nicaragua.

4.2.1 Especímenes en colecciones científicas nacionales

Se revisaron todos los especímenes de especies del grupo *I. calligraphus* existentes en las colecciones entomológicas del Museo de Entomología de la Universidad Nacional Agraria (MEUNA) y del Museo Entomológico de León (MEL). Los especímenes del MEUNA proceden

de investigaciones previas realizadas en bosques de pino ubicados en los departamentos de Nueva Segovia y Estelí. Los métodos de capturas utilizadas en estas investigaciones consistían en captura con trampas Lindgren cebadas con semioquímicos y capturas directas realizadas durante brotes.

4.2.2 Especímenes procedentes de Estados Unidos

Se dispuso de 12 especímenes de la especie *I. calligraphus* procedentes de Estados Unidos preservados en alcohol etílico al 96%. Estos fueron donados e identificados por Thomas H. Atkinson (especialista en sistemática, ecología comparativa y biogeografía de las subfamilias Scolytinae y Platypodinae neotropicales). El propósito de tener especímenes de esta especie fue para utilizarlos como referencia morfológica y molecular.

4.2.3 Capturas de especímenes en bosques de pino

Se realizaron capturas de especímenes de especies del grupo *I. calligraphus* por medio de dos métodos: capturas con trampas y capturas directas. Las capturas fueron realizadas en bosques de pino ubicados en el municipio de San Fernando, Nueva Segovia y en la Reserva Natural El Tisey ubicada en el municipio de Estelí, Estelí.

Capturas con trampas

Las capturas se hicieron por medio de trampas multiembudos del tipo Lindgren con 12 embudos, cebadas con los semioquímicos aguarrás y etanol al 70% mezclados en proporciones 1:1. En cada sitio se instalaron cuatro trampas ubicadas a distancia de 50 metros entre ellas formando una parcela de 50 x 50 m (0.5 hectárea). Las trampas se colgaron a 1.50 metros del suelo, sostenidas con cuerdas entre dos árboles. Los vasos colectores de las trampas contenían refrigerante vehicular a base de etilenglicol para el sacrificio y conservación de los especímenes.

Las trampas permanecieron activas durante siete días. Los insectos capturados se retiraron a través de un proceso de tamización, que consistía en colocar una hoja de papel toalla en un colador metálico sobre un vaso de precipitado plástico. El líquido con insectos se vertió sobre el papel toalla en el colador, una vez escurrido todo el líquido del colador, el papel toalla con los insectos que quedaron filtrados fueron depositados en una bolsa plástica transparente. En la

bolsa con los especímenes se ingresó una etiqueta con el nombre del lugar, coordenadas, fecha y atrayente utilizado y tipo de trampa utilizada (Anexo 1).

Capturas directas

Estas capturas se hicieron en árboles recién derribados en el bosque de pino y en trozas frescas de un aserradero del municipio de San Fernando. El procedimiento para la captura directa consistió en descortezar áreas del fuste de los árboles con ayuda de un formón metálico de una pulgada de ancho y un mazo de goma. Los especímenes del género *Ips* encontrados fueron capturados con un aspirador bucal y depositados en un vial de vidrio con alcohol etílico al 96%. Cada vial que contenía los especímenes fue etiquetado con la siguiente información: nombre del lugar, coordenadas, fecha, método de captura, especie de pino muestreada y nombre de la persona que capturó los especímenes.

Procesamiento de las muestras

Los especímenes capturados con los métodos anteriormente descritos fueron llevados al Museo de Entomología de la Universidad Nacional Agraria (UNA). Las muestras capturadas con trampas fueron lavadas con agua destilada para posteriormente ser depositadas individualmente en micro viales plásticos del tipo Eppendorf, rotulados con la información respectiva y sometidas a una temperatura de refrigeración de -16°C. El procedimiento anterior también fue realizado a los especímenes obtenidos por captura directa con la excepción de que no fueron lavados en agua destilada.

4.3 Identificación de especies del grupo *I. calligraphus*

La identificación taxonómica se realizó por dos métodos: identificación morfológica (caracteres externos y morfometría de genitalia) e identificación molecular. Las identificaciones morfológicas y mediciones morfométricas se realizaron en el MEUNA y la identificación molecular en el Laboratorio de Biología Molecular Mario José Cabrera Gómez de la UNA.

4.3.1 Identificación por caracteres morfológicos externos

Este procedimiento se realizó a todos los especímenes de las colecciones científicas revisadas. Para la identificación taxonómica se utilizaron los criterios morfológicos de las claves dicotómicas de Camacho (2012) y de Douglas *et al.*, (2019). También se utilizaron los especímenes de *I. calligraphus* provenientes de Estados Unidos donados e identificados por el especialista Thomas H. Atkinson con el propósito de ser utilizados como referentes morfológicos. Los especímenes fueron observados con un estereomicroscopio marca Motic modelo SMZ-168 con magnificación de 7.5 a 50x.

4.3.2 Identificación por morfometría de la genitalia masculina (edeago)

Se realizaron mediciones morfométricas básicas la de la genitalia masculina (longitud del lóbulo medio, ancho anterior y ancho posterior del lóbulo medio) de las especies y morfoespecies encontrados con la identificación con caracteres morfológicos externos.

Para realizar las mediciones se utilizó una proporción de los especímenes masculinos identificación con caracteres morfológicos externos y la identificación molecular. Para determinar la proporción de especímenes masculinos para extracción de genitalia se utilizó un estadístico de estimación de una muestra representativa de una población finita (Aguilar-Barojas, 2005). La fórmula utilizada fue:

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Donde:

n = tamaño de muestra buscado.

N =tamaño de la población o universo.

Z =parámetro estadístico que depende del nivel de confianza (95% establecido para este estudio=1.96 Z_{α}).

d =error de estimación máximo aceptado (5% establecido para este estudio).

p =probabilidad de que ocurra el evento estudiado (para este estudio no se conoce por lo tanto se le asigno un valor a p de 50%)

$q=(1 - p)$ =probabilidad de que no ocurra el evento estudiado.

Para la extracción y preparación de genitalia, como primer paso, los especímenes fueron sometidos a agua caliente (90°C) durante cinco minutos, posteriormente se retiró el abdomen del cuerpo colocándose en un vial de vidrio con 0.5 ml de hidróxido de potasio (KOH) a una concentración de al diez por ciento. Estos viales se colocaron en un horno a una temperatura de 60°C durante 30 minutos. Pasado este tiempo se extrajeron los abdómenes del KOH y se sumergieron en ácido acético glacial por cinco segundos. Posteriormente cada abdomen se colocó en un plato de Petri con alcohol etílico al 70% y se procedió a extraer el edeago del abdomen por medio de leznas entomológicas. Una vez extraído el edeago se colocó en un portaobjeto excavados con 0.1 ml de glicerina para la observación, medición y fotografiado.

Las mediciones se realizaron con un microscopio óptico marca Motic modelo BA310E con magnificación de 40 a 1000x. El microscopio tiene un lente micrométrico calibrado con un micrómetro de 2 mm con divisiones de 0.1 mm. Las fotografías de las estructuras morfológicas presentadas en el presente trabajo fueron realizadas con una cámara reflex marca Canon modelo Rebel 2 montada en un estereomicroscopio marca Motic modelo SMZ-168. El apilamiento y la edición de las fotografías fue realizado con el programa Adobe PhotoShop versión 21.1.0.

4.3.3 Identificación molecular

Este tipo de identificación se realizó a especímenes identificados, por medio de la identificación morfológica, como *Ips apache*, *I. calligraphus* (procedentes de Estados Unidos) y los especímenes considerados atípicos (morfoespecies con características morfológicas que fuera de los establecidos de las claves dicotómicas utilizadas). Para lograr la identificación se realizaron tres procedimientos: 1) extracción del Ácido Desoxirribonucleico (ADN), 2) amplificación de un segmento de ADN y 3) digestión con enzimas de restricción.

Extracción del ADN

Para identificar molecularmente las especies de *Ips* encontradas en la identificación morfológica se tomaron especímenes representantes de las especies *I. apache* e *I. sp.* (atípico). también se incluyeron especímenes de *I. calligraphus* procedentes de Estados Unidos. A estos especímenes se les extrajo el ADN utilizando el método de extracción de ADN por precipitación por sales (salting-out) evaluado por Amini *et al.*, (2020) para escarabajos descortezadores (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae).

Para la selección de este método de extracción salting-out, se evaluaron otros métodos, como son el de Bromuro de Cetiltrimetilamonio (CTAB en inglés) y el protocolo rápido propuesto por Gijón-Hernández *et al.*, (2016); siendo el método salting-out el más sobresaliente en cantidad y calidad de ADN (Anexo 1). Sin embargo, el método salting-out evaluado por Amini *et al.*, (2020) fue ajustado en las concentraciones de las sustancias y en tiempos de incubación para mejorar su eficacia (Anexo 1).

Amplificación de un segmento de ADN

Para la amplificación de un segmento de ADN se utilizó la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Los cebadores utilizados fueron LR-N-13398 (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3' cebador directo) y LR-J-12883 (5'-CTCCGGTTTGAAGTCAGATC-3' cebador reverso) los cuales reconocen segmentos del gen ARN ribosomal 16S (Yeon Han *et al.*, 2011). El producto de PCR se obtuvo en un termociclador de la marca Eppendorf. La verificación del producto PCR se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %, utilizando una fuente de alimentación programable modelo Owl EC3000 XL, marca Thermo Scientific. Los productos de PCR se visualizaron en un transiluminador 2 UV LM-26 de la marca Benchtop. El procedimiento detallado del proceso de amplificación de ADN se detalla en el Anexo 2.

Digestión con enzimas de restricción

Para determinar si las especies *I. apache* e *I. sp.* (atípico) eran la misma especie o diferentes se utilizó la técnica de digestión con enzimas de restricción conocida popularmente como PCR-RFLP (en inglés). Para mejorar la visualización de la digestión de las enzimas se realizó una

concentración del producto PCR, lo cual se logró por medio de una segunda amplificación del primer producto amplificado.

Para determinar cuál o cuáles trabajaban mejor con los productos PCR se realizó una prueba multi-enzimas, en la cual se utilizaron las enzimas: HinfI, AluI, MspI, RsaI, DclI e HindIII. Basado en dicha prueba se decidió por el uso de la enzima HinfI. La separación de los fragmentos se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 %, utilizando una fuente de alimentación programable modelo Owl EC3000 XL, marca Thermo Scientific. Los productos de PCR se visualizaron en un transiluminador 2 UV LM-26 de la marca Benchtop. El procedimiento detallado de digestión con enzimas de restricción se detalla en el Anexo 3.

4.4 Variables evaluadas

Cantidad de especies identificadas por identificación morfológica: por medio de la identificación con las claves dicotómicas se contabilizó la cantidad de especies del grupo *I. calligraphus* en el estudio.

Cantidad de especies identificadas por identificación molecular: a través de la identificación molecular se contabilizó la cantidad de especies del grupo *I. calligraphus* en el estudio.

Cantidad de especímenes atípicos encontrados: se contabilizó la cantidad de especímenes con características del grupo *I. calligraphus* que no posean las características morfológicas requeridas en las claves dicotómicas para separar a las especies *I. calligraphus* e *I. apache*.

Cantidad de especímenes por especie: se contabilizó por medio de una tabla de frecuencia la cantidad de especímenes de cada una de las especies identificadas en el estudio.

Longitud del edeago de cada una de las especies y morfoespecies: a cada espécimen seleccionado se le midió en milímetros la longitud total del edeago, desde la base del lóbulo medio hasta el ápice de los apodemas.

Ancho basal y apical del edeago de cada una de las especies y morfoespecies: a cada espécimen seleccionado se le midió en milímetros el ancho de la parte basal y posterior del edeago.

Frecuencia de registros geográficos por especies encontradas: se contabilizó por medio de una tabla de frecuencia los registros geográficos para cada una de las especies identificadas en el estudio.

4.5 Recolección de datos

Para la recolección de la información taxonómica, distribución geográfica y mediciones morfométricas realizadas (ancho del pronoto, dimensiones del edeago) se diseñó una base de datos en la cual se registraron cada uno de los especímenes revisados. Cada espécimen fue codificado con un código único, este código fue ingresado en la base de dato, además de ingresar, por cada espécimen, la información de colección entomológica donde está ubicado, localidad de captura, método de captura, fecha de captura, nombre del colector, nombre del identificador, identificación taxonómica alcanzada por los métodos propuestos (morfológicos y molecular). La base de datos fue elaborada con el programa Microsoft® Excel® para Microsoft 365 MSO, versión 2110.

4.6 Análisis de datos

Las variables relacionadas con conteos de las especies y morfoespecies encontrados, así como las de registros geográficos fueron tratadas con estadísticos descriptivos (tablas de frecuencia, sumatorios y proporciones). Los estadísticos descriptivos fueron determinados con el programa STATISTICA versión 8.

Las variables morfométricas se analizaron por pruebas estadísticas para comparaciones múltiples. Se realizaron pruebas estadísticas de Kruskal Wallis con datos con características estadísticas no paramétricos y la prueba ANDEVA en datos paramétricos. En caso de que las pruebas determinaran diferencias estadísticas entre las variables se realizó separación de medias de Tukey para ANDEVA y prueba de Dunn para Kruskal Wallis. Para comprobación de los supuestos estadísticos y las pruebas de comparación múltiples se utilizó el programa STATISTICA versión 8. Para las pruebas estadísticas se estableció un nivel de significancia estadística de 0.05.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Identificación por caracteres morfológicos externos

Se revisaron un total de 2,123 especímenes del grupo *I. calligraphus* (Cuadro 1) provenientes de capturas realizadas en los bosques del norte de Nicaragua. Por medio de los caracteres morfológicos diagnósticos propuestos Douglas *et al.*, (2019), consistentes en la anchura pronotal, se identificaron como *I. apache* un 82.81% de los especímenes. La cantidad restante, 17.19%, no clasificaron como *I. apache*, pero tampoco como *I. calligraphus*, esto porque la anchura pronotal de estos especímenes era mayor a 1.7 mm, pero no alcanzaba los 2 mm, que son los establecidos para *I. calligraphus*. Los especímenes con las dimensiones pronotales entre 1.71 y 1.99 mm se establecieron como un grupo separado denominado morfoespecie *I. cf. apache* por el considerarse una variación de *I. apache* que necesita confirmación taxonómica por otros medios.

Por medio de los caracteres morfológicos diagnósticos propuestos por Camacho (2012), que consiste en la separación del tubérculo frontal con el margen epistomal, se encontró que el total de especímenes revisados (100%) pertenecen a la especie de *I. apache* (Cuadro 1). No se encontraron especímenes con los caracteres morfológicos diagnósticos para *I. calligraphus* propuesto por este autor. Tampoco los especímenes designados como *I. cf. apache* presentaron diferencias con este carácter con los especímenes identificados como *I. apache*.

Cuadro 1. Identificación taxonómica de las especies del grupo *I. calligraphus* presentes en los bosques de pino del norte de Nicaragua por medio de estructuras morfológicas

Estructuras y claves utilizadas	Especímenes revisados	Cantidad y proporciones de especies y morfoespecies encontradas					
		<i>I. apache</i>		<i>I. calligraphus</i>		<i>I. cf. apache</i>	
		No.	%	No.	%	No.	%
Anchura del pronoto (Douglas <i>et al.</i> , 2019)	2123	1758	82.81	0	0	365	17.19
Tubérculo frontal (Camacho, 2012)		490	100	0	0	0	0
Promedio	N/A	N/A	91.41	N/A	0.0	N/A	8.6

Los resultados de la identificación morfológica considerando los caracteres morfológicos propuestas por Douglas *et al.*, (2019) indican que la especie dominante fue *I. apache*, no se encontraron especímenes de *I. calligraphus*. La proporción (17.19%) de los especímenes clasificados como morfoespecie *I. cf. apache* tienen dimensiones pronotales fuera de los establecidos por Douglas *et al.*, (2019) para *I. apache* y para *I. calligraphus*.

Las variaciones de tamaño de los insectos en una población no son extrañas, Chown y Gaston (2010) indican que se conoce mucho sobre la forma en que la selección natural conduce a la variación del tamaño a nivel de individuo. Los resultados de la identificación morfológica utilizando los caracteres morfológicos propuestas por Camacho (2012) indicaron que todos los especímenes revisados clasificaron como *I. apache*, no encontrándose especímenes con las características de *I. calligraphus*, ni tampoco especímenes identificados como la morfoespecie *I. cf. apache*.

Los resultados encontrados indican que es muy poco probable que *I. calligraphus* esté presente en los bosques de Nicaragua. No obstante, la identificación morfológica utilizada en el presente estudio deja una parte de los especímenes como sospechosos o en dudas de ser considerados *I. apache* o *I. calligraphus*. Esto se solucionará con la identificación molecular que dejará en claro la composición taxonómica definitiva del grupo *I. calligraphus* en Nicaragua. Sin embargo, dado que la distribución geográfica conocida de *I. calligraphus*, es principalmente en los bosques de Norteamérica (Douglas *et al.*, 2019), es poco probable que esta especie esté presente en los bosques del norte de Nicaragua.

Otro aspecto que no sustenta la presencia de esta especie en Nicaragua es que las áreas climáticamente adecuadas para ella están ubicadas en las zonas húmedas subtropicales (Li *et al.*, 2021). Estas áreas están ubicadas dentro de las latitudes medias, entre 20° N y 35°S, siendo las regiones principales el sureste de Estados Unidos, el sureste de China y de América del Sur y el este de Australia (Hernández-Ochoa y Asseng, 2018). En cambio, la presencia de *I. apache* en la región neotropical, que incluye a Nicaragua, se ha reportado de varias localidades de Centroamérica (Douglas *et al.*, 2019) y México (Camacho, 2012; Morales-Martínez *et al.*, 2023).

5.2 Identificación por morfometría de la genitalia masculina (edeago)

Un análisis visual de los edeagos de las especies *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache* indicó que la forma del edeago entre las especies y la morfoespecie son similares. No se identificaron caracteres morfológicos diferenciables con los medios tradicionales de observación (microscopio) utilizados en los laboratorios entomológicos (Figura 1).

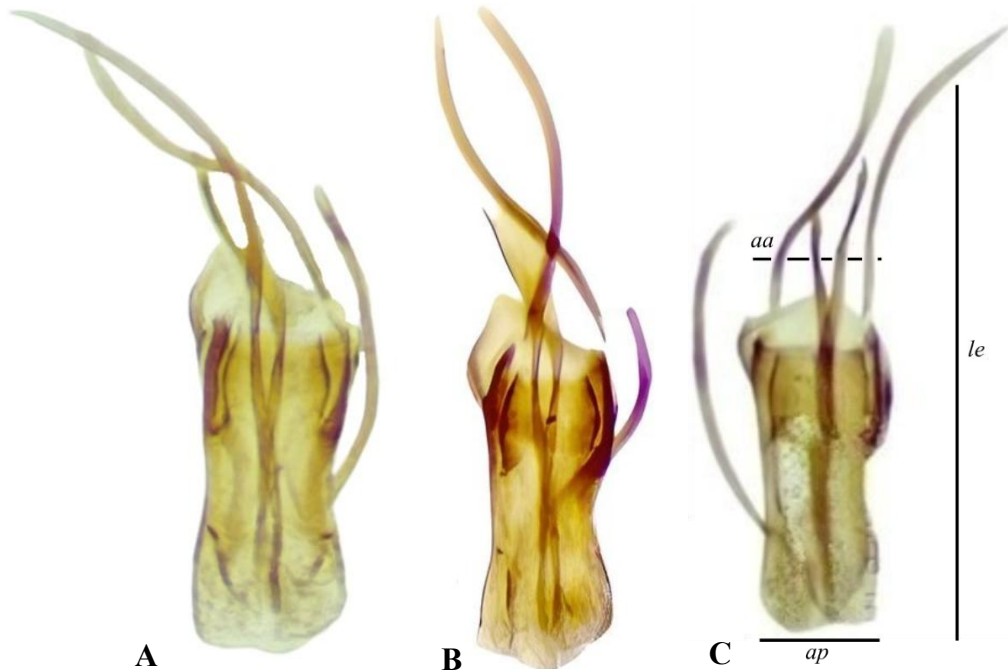


Figura 1. Genitalias de especies del grupo de *I. calligraphus* utilizadas en el presente estudio. A, *I. calligraphus*; B, *I. cf. apache*; C, *I. apache* (mediciones del edeago: *le*, longitud; *aa*, ancho anterior del lóbulo medio; *ap*, ancho posterior del lóbulo medio).

Las mediciones realizadas en el edeago de las especies y morfoespecies encontradas en el presente estudio (Cuadro 2) presentaron diferencias estadísticas en la longitud del edeago ($\chi^2(2) = 6.09$, $p= 0.048$), (Anexo 5), ancho anterior ($F=14.04$, $p=0.000004$), (Anexo 8) y ancho posterior ($\chi^2(2) = 14.35$, $p=0.0008$), (Anexo 11) al momento de ser comparados.

La longitud del edeago de *I. calligraphus* es diferente a la de *I. apache* ($Z=2.19$, $p=0.029$), pero no diferente a la de *I. cf. apache* ($Z=1.68$, $p=0.094$), tampoco hay diferencias estadísticas en la longitud del edeago entre la morfoespecie *I. cf. apache* e *I. apache* ($Z=1.53$, $p=0.13$). Con respecto a las anchuras posterior y anterior del lóbulo medio del edeago, esta medición fue diferente estadísticamente entre todas las especies y la morfoespecie (Anexo 6), por lo tanto, las

dimensiones del ancho anterior y el ancho posterior del edeago son marcadas en *I. calligraphus* en comparación de *I. apache* y de la morfoespecie e *I. cf. apache*.

Cuadro 2. Comparación morfológica del edeago de las especies del grupo *I. calligraphus* presentes en los bosques de pino del norte de Nicaragua

Especies y morfoespecies comparados	Porcentaje de similitud en la forma de la genitalia (%)	Dimensiones promedio del edeago ^a		
		Longitud	Ancho anterior	Ancho posterior
<i>I. calligraphus</i> vs <i>I. apache</i>	100	1.83 vs 1.61*	0.42 vs 0.32*	0.41 vs 0.33*
<i>I. calligraphus</i> vs <i>I. cf. apache</i>	100	1.83 vs 1.64	0.42 vs 0.36*	0.41 vs 0.35*
<i>I. apache</i> vs <i>I. cf. apache</i>	100	1.61 vs 1.64	0.32 vs 0.36*	0.33 vs 0.35*

^a Los valores marcados con un asterisco (*) indican que se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$).

La longitud del edeago fue diferente estadísticamente entre *I. apache* e *I. calligraphus* siendo más grande en este último. Sin embargo, esta característica del edeago no es aplicable para separar a la morfoespecie *I. cf. apache* de *I. calligraphus*, ni de *I. apache*. Lanier *et al.*, (1991) encontró resultados similares al medir la longitud del edeago de *I. apache* e *I. calligraphus*, dando a entender que esta medición permite separar las especies del grupo *I. calligraphus*; sin embargo, con los especímenes encontrados en nuestra revisión, no es posible definir si la morfoespecie encontrada es una variante de *I. apache* o de *I. calligraphus* o una especie diferente.

Aparte del estudio Lanier *et al.*, (1991) no existen otros estudios que involucren morfometría del edeago de las especies del género *Ips*, por consiguiente, basado en nuestros resultados de la longitud del edeago, aún no se puede llegar a una conclusión acertada sobre las especies del grupo *I. calligraphus* presentes en Nicaragua.

Las dimensiones de anchura anterior y anchura posterior del edeago no se habían involucrado en estudios previos. Estas mediciones, novedosas, permiten separar a las especies (*I. apache* e *I. calligraphus*) y a la morfoespecie de estas. Así que, en orden de tamaño, existen tres dimensiones dominadas en tamaño por *I. calligraphus*, seguidos de *I. cf. apache* y por último *I. apache*.

Una vez confirmadas la pertinencia taxonómica de la morfoespecie *I. cf. apache* por vía molecular, las dimensiones de las anchuras anteriores y posteriores del edeago serán de utilidad para realizar identificaciones taxonómicas ya sea que esta morfoespecie sea una variante de *I. apache* o de *I. calligraphus* o una especie diferente a estas. Por lo tanto, a través del presente estudio se aportan nuevas mediciones del edeago que contribuyen a separar las especies *I. apache* e *I. calligraphus*.

5.3 Identificación molecular de las especies del grupo *Ips calligraphus*

Utilizando ADN de *I. apache*, *I. cf. apache* e *I. calligraphus* y la técnica PCR con los cebadores directo LR-N-13398 (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') y reverso LR-J-12887 (5'-CTCCGGTTTGAAGTCAGATC-3') se obtuvieron fragmentos de 600 pares de bases (pb) (Figura 2). Estos resultados concuerdan con los de Simons *et al.*, (1994), que obtuvieron fragmentos de 500-650 pb en diferentes especies de insectos de diferentes órdenes taxonómicos.



Figura 2. Resultados de amplificación mediante PCR convencional para *I. apache*, *I. calligraphus* y la morfoespecie *I. cf. apache*. M: Marcador de peso molecular 100 pb, 1 y 2: amplificado de *I. apache* (muestra control); 3, 4 y 5: *I. cf. apache*; 6, control negativo (C-); 7: *I. calligraphus* (muestra control). Ia=*I. apache*, Ir=*I. cf. apache*, Ic=*I. calligraphus*.

Los especímenes de *I. cf. apache* (codificados Ir1, Ir3 e Ir10 en el gel de agarosa) fueron identificados como *I. apache* mediante la técnica PCR-RFLP, debido a que los sitios de corte

con la enzima bacteriana *HinfI* mostraron fragmentos de 490 y 130 pb aproximadamente (Figura 3), similares con los de *I. apache* (confirmados por morfología y utilizados como muestra control durante el ensayo). Con respecto a la especie *I. calligraphus* los fragmentos observados fueron de 490 y 150 pb aproximadamente, siendo un fragmento mayor por 20 pb en comparación de *I. apache*.

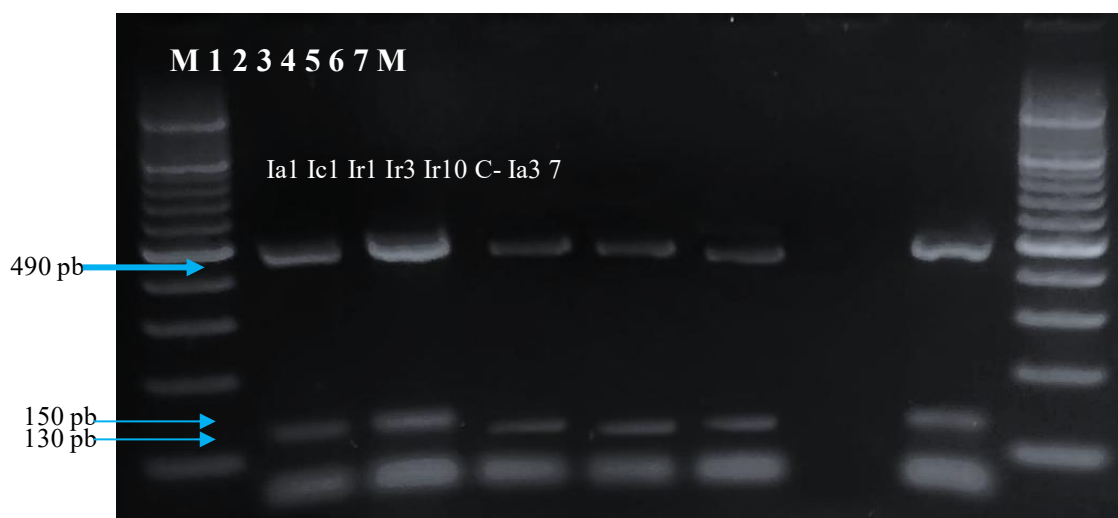


Figura 3. Resultados de la electroforesis del producto PCR de *I. apache*, *I. calligraphus* y la morfoespecie *I. cf. apache* sometido a la digestión de la enzima *HinfI*. M: marcador de peso molecular 100 pb, 1 y 7: espécimen control de *Ips apache*, 2: espécimen control de *Ips calligraphus*, 3, 4 y 5: especímenes de la morfoespecie *I. cf. apache*, 6: control negativo.

La identificación molecular indicó que los especímenes sometidos al proceso pertenecían a la especie *I. apache*. Sin embargo, aunque exista una proporción de especímenes que están fuera de los requisitos morfológicos de Douglas *et al.*, (2019) el análisis molecular evidenció que todos los especímenes colectados en Nicaragua sometidos a este proceso pertenecen a la especie *I. apache*, no encontrándose la especie *I. calligraphus*.

Cognato y Vogler (2001) utilizó varios tipos de cebadores incluyendo uno de los cebadores utilizados en este presente estudio con el propósito de realizar secuenciación y filogenia de varias especies del género *Ips*. La PCR realizó ampliificaciones de segmentos de ADN comprendidos entre 680 y 706 pb.

Vogler *et al.*, (1993) utilizó los cebadores usados en nuestro estudio para amplificar y secuenciar escarabajos tigre (Coleoptera, Carabidae), el producto amplificado del segmento de ADN fue

de 742 pb aproximadamente correspondiente al gen 16S rRNA. De igual forma, Xiong y Kocher (1991) utilizó los cebadores utilizados en nuestro estudio con ligeras modificaciones hacia arriba de la secuencia, logrando amplificar un segmento de ADN de aproximadamente 500 pb del gen 16S rRNA en el genoma mitocondrial de la mosca negra. La amplificación fue obtenida a partir de una sola glándula salival larvaria y/o un adulto individual que se conservó en fijador de Carnoy.

Con estos resultados y técnicas utilizadas, además de permitir identificar una variante morfológica no conocida de *I. apache*, permitieron identificar una técnica de diagnóstico confirmativo para las dos especies del grupo *I. calligraphus*. Esto debido a la diferencia de segmentos observados, producto de la digestión con la enzima de restricción. Es de considerarse que este es primer estudio que hace uso de la enzima HinfI para identificación de especies del grupo *I. calligraphus*, lo cual es porque la mayoría de las investigaciones se basan en métodos más costosos como la secuenciación.

Las variaciones morfológicas identificadas en *I. apache* que no eran conocidas previo a este estudio se basan en el mayor tamaño de la anchura pronotal y la anchura anterior y posterior del lóbulo medio del edeago. Según los resultados obtenidos el criterio de anchura pronotal (de 1.7 mm o menos) propuesto en la clave de Douglas *et al.*, (2019) no es aplicable para la separación de las especies de *I. apache* e *I. calligraphus*, especialmente en especímenes capturados en la región Neotropical. Basado en lo anterior y hallazgos obtenidos, lo recomendable es la identificación molecular, sin embargo, al no disponer de esta técnica, la medición de la anchura anterior y posterior del lóbulo medio del edeago resulta de utilidad para separación de las especies *I. apache* e *I. calligraphus*.

La prevalencia exclusiva de *Ips apache* en los bosques de conífera de la región norcentral de Nicaragua como resultado la presente concuerda con lo indicado por diferentes autores: Douglas *et al.*, (2019), Lannier (1991), Macias *et al.*, (2021) y Cognato (2015). Estos autores mencionan que esta especie se distribuye a partir del sur de Estados Unidos hasta el norte de Nicaragua y Panamá. En el caso de *I. calligraphus* está distribuido en Canadá, Estados Unidos, México, Las Islas de las Bahamas, Jamaica, República Dominicana, Filipinas, Cuba y China (Cognato 2015; Douglas *et al.*, 2019; López *et al.*, 2010).

5.4 Distribución geográfica de las especies del grupo *Ips calligraphus*

En la revisión de especímenes en colecciones entomológicas la especie *I. apache* se encontró en tres departamentos de la zona norte de Nicaragua: Nueva Segovia, Estelí y Madriz. De estos departamentos, Nueva Segovia es el que posee la mayor cantidad de registros de presencia y de localidades de *I. apache* (Figura 4). Las localidades donde se encontraron especímenes de esta especie estaban ubicadas en los municipios de San Fernando, Ocotal, Mozonte, Dipilto y El Jícaro, siendo San Fernando el que cuenta con mayor cantidad de especímenes (2590) capturados esta localidad, seguido por Dipilto (950).

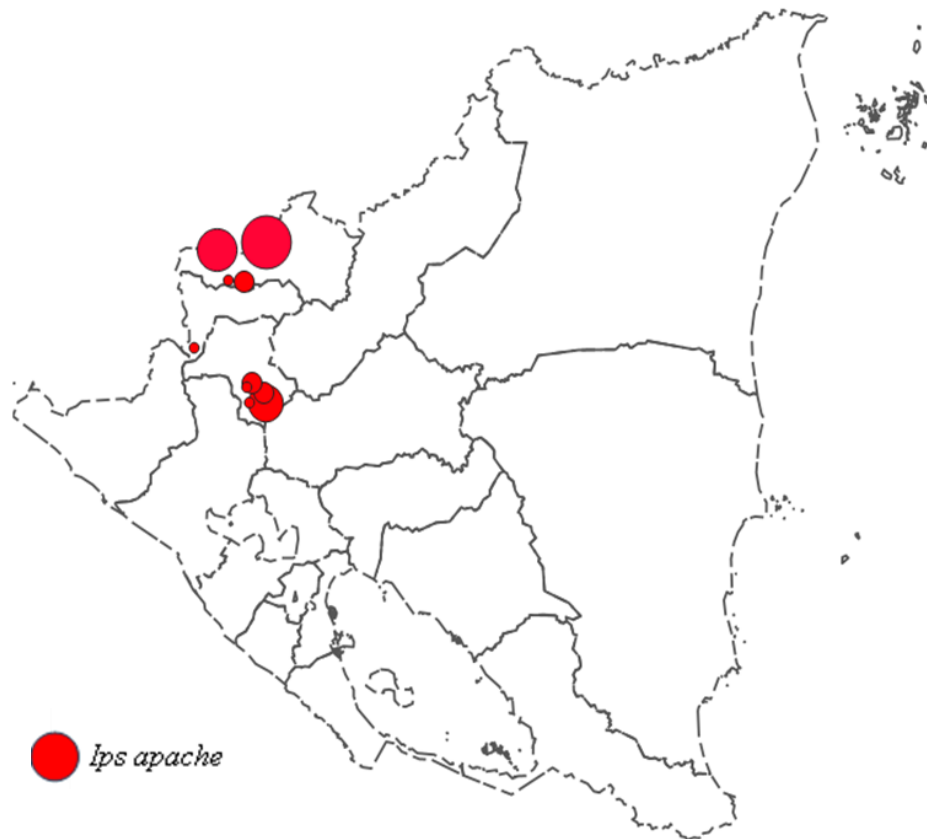


Figura 4. Distribución geográfica conocida de *I. apache* en los bosques de pino del norte de Nicaragua. El tamaño de los puntos rojos está relacionado con la cantidad de especímenes encontrados en la localidad donde fueron encontrados.

En el municipio de Estelí, Departamento de Estelí, se encontraron especímenes de *I. apache* capturados en cuatro de sus áreas protegidas, siendo la Reserva Natural Cerro Tomabú la localidad con mayor registro de especímenes (370). Del Departamento de Madriz sólo de una localidad en el municipio de San José de Cusmapa se tiene registro de dos especímenes.

En la revisión de literatura se encontraron citas de *I. apache* (identificada como *I. calligraphus*) en tres departamentos (Nueva Segovia, Estelí y Matagalpa) y en una región autónoma (Región Autónoma de la Costa Caribe Norte) del norte de Nicaragua. El departamento con mayores registros publicados es Nueva Segovia, siendo del municipio de Dipilto de donde se han realizado la mayoría de los registros científicos de *I. apache* (Cuadro 3). Los departamentos de Estelí y Matagalpa y la Región Autónoma de la Costa Caribe Norte cada uno cuenta con un registro de presencia de esta especie por medio de literatura.

Cuadro 3. Distribución geográfica de *I. apache* en los bosques de pino del norte de Nicaragua.

Localización geográfica en Nicaragua			Cantidad de registros	
Departamento	Municipio	Localidad	Colecciones científicas	Reportes en literatura
Nueva Segovia	San Fernando	Finca Forestal San Nicolas	2590	González (2023)
		Ocotal	2	González (2023)
		Mozonte	78	González (2023)
		Dipilto	950	López y Toledo (2005) ^a , Jiménez <i>et al.</i> , (2005) ^a , González (2023)
		El Jícaro	160	López y Toledo (2005) ^a , González (2023)
		Jalapa	-	Sediles y Álvarez (2001) ^a , Maes (1999) ^a
			Reserva Natural El Tisey	40
Estelí	Estelí	Reserva Natural Cerro Quiabú Las Brisas	24	Maes (1992) ^a
		Reserva Natural Cerro Tomabú	370	-
		Paisaje Terrestre Protegido Miraflores-Moropotente	3	-
Madriz	San José de Cusmapa	San José de Cusmapa	2	-
Matagalpa	San Ramón	Reserva Genética Yucul	-	Ordoñez (2019)
Región Autónoma de la Costa Caribe Norte	-	-	-	Maes (1999) ^a

^aRegistrado como *I. calligraphus*.

Por medio de la revisión de especímenes en colecciones entomológicas y búsqueda de registros bibliográficos se identifica que *I. apache* está distribuido en cinco departamentos ubicados en el norte de Nicaragua. Además, su presencia en la Región Autónoma de la Costa Caribe Norte (RACCN) indica que tiene una distribución más allá de los pinares de altura del país.

En el norte de Nicaragua, los departamentos sobresalientes en áreas con pinares son Nueva Segovia y Estelí, seguidos de Madriz, Jinotega y Matagalpa. Sin embargo, la RACCN es la región con la mayor cantidad de hectáreas de pinares en el país (Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales [MARENA], 2018). Con excepción de Jinotega, *I. apache* se encontró en todos los departamentos con pinares en el norte de Nicaragua. Además, su presencia se confirmó en las localidades con mayores áreas de pinares del país que incluye la RACCN. En esta región la especie de pino dominante es *Pinus caribaea* var. *hondurensis* (Stevens *et al.*, 2001).

La distribución geográfica nacional encontrada de *I. apache* y la presencia en diferentes localidades, con diferentes condiciones ambientales, indican que esta especie tiene una alta distribución geográfica local y amplitud de adaptaciones climáticas en el país. Esto relacionado con sus plantas hospederas, las cuales, según Douglas *et al.*, (2019), todas son especies del género *Pinus*. Este género, en Nicaragua, está representado por cuatro especies, como son *P. maximinoi*, *P. oocarpa* var. *oocarpa*, *P. tecunumanii* y *P. caribaea* var. *hondurensis* (Stevens *et al.*, 2001).

Las especies *P. maximinoi*, *P. oocarpa* var. *oocarpa*, *P. tecunumanii* crecen en altitudes entre los 650 y 1600 msnm y están restringidas a la zona norcentral de Nicaragua, mientras que *P. caribaea* var. *hondurensis* crece en altitudes de 0 a 800 msnm (Stevens *et al.*, 2001).

En el continente americano *I. apache* tiene una distribución geográfica casi completamente neotropical, encontrándose, según Douglas *et al.*, (2019), desde el sur de Estados Unidos hasta Panamá. Aunque la mayoría de los registros de esta especie están en altitudes que superan los 1000 msnm (Cognato y Sun, 2007; Macías *et al.*, 2021; Morales-Martínez *et al.*, 2023; Smith y Cognato, 2009), existen registros que indican que habita a altitudes inferiores a los 500 msnm en localidades de Belice (Cognato y Sun, 2007). Basados en lo anterior, los aspectos de la

biogeografía encontrados de *I. apache* en el presente estudio coinciden con las conductas de distribución geográfica y el gradiente altitudinal del hábitat conocido para esta especie.

VI. CONCLUSIONES

En la identificación morfológica externa sólo se encontró la especie *I. apache*. La variación morfológica encontrada, nombrada *I. cf. apache*, se generó porque las dimensiones pronotales de esta estaban fuera de las conocidas para *I. apache* y para *I. calligraphus*.

La identificación molecular indicó que sólo *I. apache* es la especie del grupo *Ips calligraphus* presente en los bosques de pino del norte de Nicaragua. La morfoespecie encontrada es una variante morfológica de *I. apache*, con dimensiones pronotales no registradas para esta especie.

La distribución geográfica de *I. apache*, la única especie del grupo *I. calligraphus* presente en Nicaragua, es amplia en los bosques de pino del norte del país, porque esta especie es dominante en los pinares nativos de la región neotropical.

VII. RECOMENDACIONES

Cuando no se disponga de técnicas moleculares, para separar por caracteres morfológicos a las especies *I. apache* e *I. calligraphus*, la medición de la anchura anterior y posterior del lóbulo medio del edeago resulta de utilidad.

El criterio de la anchura propotal para separar las especies *I. apache* e *I. calligraphus* plateados en las claves dicotómicas diagnósticas pueden ocasionar identificaciones erróneas, especialmente al identificar especímenes proceden de la región neotropical, por lo tanto, no se recomienda utilizarlo para especímenes procedentes de esta región.

Para conocer completamente la distribución geográfica de la especie *I. apache* en Nicaragua se necesitan hacer muestreos en los pinares de la Región Atlántica Norte del país, considerando diferentes localidades y diferentes conformaciones de pino en esta región.

VIII. LITERATURA CITADA

- Aguilar-Barojas, S. (2005). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en tabasco*, 11(1-2), 333-338.
- Amini, S., Nozari, J., Hosseini, R. & Rahati, R. (2020). Comparison of different DNA extraction methods for the molecular study of bark beetles (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *Journal of Insect Biodiversity and Systematics*, 6 (1), 113-124.
- Arguedas, M. (2007). *Plagas y enfermedades forestales en Costa Rica*. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 4(11-12), 1-69.
- Armendáriz-Toledano, F., Zúniga, G., García, L., Mendoza, O., & Navarrete, P. (2018). *Guía Ilustrada para identificar a las especies del género Dendroctonus presentes en México y Centroamérica*. México, México: Instituto Politécnico Nacional.
- Atkinson, T.H. (2023). *Bark and ambrosia beetles of the Americas*. <http://www.barkbeetles.info>. (20-7-2023).
- Ayres, M. P., y Lombardero, M. J. (2000). Assessing the consequences of global change for forest disturbance from herbivores and pathogens. *Science of the Total Environment*, 262(3), 263-286.
- Billings, R. F., Clarke, S. R., Espino, M. V., Cordon, C. P., Meléndez, F. B., Campos, R. J. & Baeza, Y. G. (2004). Gorgojo descortezador e incendios: Una combinación devastadora para los pinares de América Central. *Unasylva*, 217(55), 15-21.
- Bradley, T., & Tueller, P. (2001). Effects of fire on bark beetle presence on Jeffrey pine in the Lake Tahoe Basin. *Forest Ecology and Management*, 142(1-3), 205-214.
- Camacho, A. (2012). *El género Ips (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en México* [Tesis de Doctorado, Colegio de Postgraduados]. Repositorio Institucional-Colegio de Postgraduados.
- Castañeda-Vildózola, A., Equihua-Martínez, A., Valdés-Carrasco, J., Barrientos-Priego, A. F., Ish-Am, G., & Gazit, S. (1999). Insectos polinizadores del aguacatero en los estados de México y Michoacán. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 129-136. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2007000600013>
- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. (1991). *Plagas y enfermedades forestales en América Central*. Turrialba, Costa Rica.
- Chown, S. L., & Gaston, K. J. (2010). Body size variation in insects: a macroecological perspective. *Biological Reviews*, 85(1), 139-169.

- Cognato, A. (2015). Biology, Systematics, and Evolution of *Ips*. En F. Vega, & R. Hofstetter, *Bark Beetles: Biology and Ecology of Native and Invasive Species*. California, Estados Unidos: Academic Press.
- Cognato, A. I., & Sun, J. H. (2007). DNA based cladograms augment the discovery of a new *Ips* species from China (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Cladistics*, 23(6), 539-551.
- Cognato, A. I., & Vogler, A. P. (2001). Exploring data interaction and nucleotide alignment in a multiple gene analysis of *Ips* (Coleoptera: Scolytinae). *Systematic biology*, 50(6), 758-780. <https://doi.org/10.1080/106351501753462803>
- Corcino, P. (19 de julio de 2019). Enfrentar el escarabajo del pino obligó a invertir RD\$255 millones. *El Dinero*. <https://eldinero.com.do/86941/enfrentar-el-escarabajo-del-pinoobligo-a-invertir-rd255-millones/>
- Cribian, D., Méndez, J., Bolaños, R., Lara, J., & Yates, H. (1995). *Los insectos Forestales de México/Forest Insects of México*. México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Douglas, H. B., Cognato, A. I., Grebennikov, V. & Savard, K. (2019). Dichotomous and matrix-based keys to the *Ips* bark beetles of the World (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Canadian Journal of Arthropod Identification*, 38. doi:10.3752/cjai.2019.38
- Dowell, F. E., Throne, J. E., Wang, D., & Baker, J. E. (1999). Identifying stored-grain insects using near-infrared spectroscopy. *Journal of Economic Entomology*, 92(1), 165-169.
- Fonseca, J., Posadas, H. C., Rodríguez, D., & Vargas, J. (2008). *Ips* e insectos barrenadores en árboles de *Pinus montezumae* dañados por incendios forestales. *Madera y Bosques*, 14(1), 69-80.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2006). Diagnostic protocols for regulated pests: International Standards for Phytosanitary Measures. Secretariat of the International Plant Protection Convention.
- Garraway, E. (1986). *The Biology of Ips caligraphus and Ips grandicollis (Coleoptera: Scolytidae) in Jamaica*. Jamaica: Department of Zoology, University of the West Indies.
- Gibb, T. J. (2014). *Contemporary insect diagnostics: the art and science of practical entomology*. Academic Press.
- Gijón-Hernández, A. R., Rivera-Conde, M. I., Arriola-Padilla, V. J., & Pérez-Gálvez, I. M. (2016). Protocolo rápido para la identificación molecular de descortezadores (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Revista Entomología mexicana*, 3, 800-804.

- Gómez, D. F., Sathyapala, S., & Hulcr, J. (2020). Towards sustainable forest management in Central America: review of Southern Pine Beetle (*Dendroctonus frontalis* Zimmermann) outbreaks, their causes, and solutions. *Forests*, 11(2), 173.
- González Mendoza, G. R. (2023). *Diversidad de escarabajos ambrosiales (Coleoptera, Curculionidae) asociados a bosques de pino (Pinus spp.) Nueva Segovia, Nicaragua* [Tesis de Ingeniería, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio Institucional-Universidad Nacional Agraria.
- Gradis, J., & Trujillo, M. (2006). *Estructura de la vegetación en poblaciones de Pinus tecunumanii Egüiluz & J. P. Perry en la región norcentral de Nicaragua*. León, Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León.
- Guerra, C., López, M., Valdés, E., Pérez, P., & Fernández, A. (1989). Presencia de *Ceratocystiopsis minima* y *Ceratocystis seticollis* en pinares de la región occidental de Cuba. *Revista Forestal Baracoa*, 19(1), 113-117.
- Hernández R, R. (2015). *Diversidad y distribución de especies de Ips en la Reserva de La Biosfera Sierra Gorda, Querétaro* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Chapingo]. Repositorio Institucional-Universidad Autónoma de Chapingo.
- Hernández, T., Rodríguez, A., Contreras, H., Andrade, J., Díaz, S. H., & Velásquez, C. (2022). Efecto de la infestación del escarabajo descortezador de pinos mediante la determinación de compuestos orgánicos volátiles en Área de Protección Flora y Fauna Sierra de Quila (APFFSQ), Jalisco, México. *Ecosistemas*, 2369. <https://doi.org/https://doi.org/10.7818/ECOS.2369>
- Hernandez-Ochoa, I. M., & Asseng, S. (2018). Cropping systems and climate change in humid subtropical environments. *Agronomy*, 8(2), 19.
- Hopping, G. R. (1963). The Natural Groups of Species in the Genus *Ips* De Geer (Coleoptera: Scolytidae) in North America. *The Canadian Entomologist*, 95 (5), 508-516.
- Hopping, G. R. (1965). The North American Species in Group X of *Ips* De Geer (Coleoptera: Scolytidae) 1. *The Canadian Entomologist*, 97(8), 803-809.
- Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria. (2021). *Lista de plagas no cuarentenarias en Nicaragua (Informe versión VI-mayo 2021)*. Autoedición. https://www.ipsa.gob.ni/Portals/0/4%20Sanidad%20Vegetal%20y%20Semillas/LISTA_DE_PLAGAS_NO_CUARENTENARIAS_EN_NICARAGUA_VERSI%C3%93N_VI_MAYO_2021.pdf
- Instituto Nacional de Información de Desarrollo & Ministerio Agropecuario y Forestal. (2013). *IV Censo Nacional Agropecuario: Departamento de Nueva Segovia y sus municipios uso de la tierra y el agua en el sector agropecuario*. Autoedición.

- Instituto Nacional Forestal, Universidad Nacional Agraria & Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2020). *Manual de plagas y enfermedades en viveros y bosques de Nicaragua*. Autoedición.
- Instituto Nacional Forestal. (2008). *Programa Forestal Nacional del Poder Ciudadano PFN*. Autoedición.
- Instituto Nacional Forestal. (2009). *Resultados del Inventario Nacional Forestal: Nicaragua 2007-2008*. Autoedición.
- Jaén Lara, B. A. (2013). Monitoreo de la dispersión de la población de *Ips calligraphus* en las Plantaciones Forestales de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* en el Proyecto Bosque Siglo XXI, en Río Hato, Provincia de Coclé, República de Panamá. *Scientia*, 23(1), 87-102.
- Jiménez Martínez, E., López Z, L. B., Marin, T. & Zelaya O, M. (2005). Dinámica poblacional e identificación de (*Dendroctonus frontalis* Zimm) y otros insectos descortezadores de pino en Nueva Segovia. *La Calera*, 5(6), 22-27.
- Jiménez, A., Cordon, P., & Agramonte, J. (2022). Fluctuación poblacional de *Ips calligraphus* en pinares de la vertiente norte de la Cordillera Central, República Dominicana. *Novitates Caribaea*, 20, 137-154. <https://doi.org/https://doi.org/10.33800/nc.vi20.314>
- Jorge Macías Sámano, J., Ortíz, P., García Ochaeta, J.F., Masaya, L., & Billings, R. (2021). Los insectos descortezadores de los pinos en Guatemala: biología, ecología y manejo en la salud y la sanidad forestal. El Instituto Nacional de Bosques.
- Kainulainen, P., Holopainen, J. K., & Holopainen, T. (1998). The influence of elevated CO₂ and O₃ concentrations on Scots pine needles: changes in starch and secondary metabolites over three exposure years. *Oecologia*, 114, 455-460.
- Lanier, G. N. (1972). Biosystematics of the genus *Ips* (Coleoptera: Scolytidae) in North America. Hopping's groups IV and X. *The Canadian Entomologist*, 104(3), 361-388.
- Lanier, G. N., Teale, S. A., & Pajares, J. A. (1991). Biosystematics of the genus *Ips* (Coleoptera: Scolytidae) in North America: review of the *Ips calligraphus* group. *The Canadian Entomologist*, 123(5), 1103-1124.
- Laštůvka, Z. (2009). Climate change and its possible influence on the occurrence and importance of insect pests. *Plant Protection Science*, 45, 53-62.
- Lawrence, J., & Newton, A. (1995). Families and subfamilies of Coleoptera (with selected genera, notes references and data on family-group names) En J. Pakaluk, S. Ślipiński (Eds), *Biology, Phylogeny, and Classification of Coleoptera: Papers Celebrating the 80th Birthday of Roy A. Crowson* (pp. 849-861). Muzeum i Instytut Zoologii PAN.

- Li, Y., Johnson, A. J., Gao, L., Wu, C., & Hulcr, J. (2021). Two new invasive *Ips* bark beetles (Coleoptera: Curculionidae) in mainland China and their potential distribution in Asia. *Pest Management Science*, 77(9), 4000-4008.
- Liu, L. (2010). Microstructural Characters of Lyctinae and Dinoderinae (Coleoptera: Bostrichidae). *Psyche: A Journal of Entomology*, 2010, 1-8.
- López Castilla, R. A., Fernández Vera, A., & Triguero Isasi, N. (2010). Determinación de la incidencia diferencial de los descortezadores del género *Ips* (Coleoptera: Scolytidae: Ipini) a *Pinus caribaea* Morelet y *Pinus tropicalis* Morelet en Viñales. *Fitosanidad*, 14(2), 91-95.
- López Gómez, V., Torres Huerta, B., Reséndiz Martínez, J. F., Sánchez Martínez, G., & Gijón Hernández, A. R. (2017). Influencia de parámetros climáticos sobre las fluctuaciones poblacionales del complejo *Dendroctonus frontalis* Zimmerman, 1868 y *Dendroctonus mexicanus* Hopkins, 1909. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 8(41), 7-29.
- López, R., Góngora, F., Guerra, C., Zayas, E., Fernández, A., & Triguero, N. (2009). Contribución para el diagnóstico y control de los descortezadores del género *Ips* (Coleoptera: Scolytinae) en los bosques de pinos de Cuba. *Ra Ximhai*, 5(3), 281-295. <https://www.redalyc.org/pdf/461/46111817003.pdf>
- Luis Bismark López Zeledón, L. B., y Toledo Marín, L. I. (2005). *Dinámica poblacional de descortezadores de pino en dos municipios del departamento de Nueva Segovia* [Tesis de Ingeniería, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio Institucional-Universidad Nacional Agraria.
- Macías S, J., Ortiz, P., García O, J. F., Masaya, L., & Billings, R. (2021). Los insectos descortezadores de los pinos en Guatemala: biología, ecología y manejo en la salud y la sanidad forestal. Instituto Nacional de Bosques.
- Macías Sámano, J., Ortiz, P., García Ochaeta, J. F., Masaya, L., & Billings, R. (2021). *Los insectos descortezadores de los pinos en Guatemala: biología, ecología y manejo en la Salud y la Sanidad Forestal*. Instituto Nacional de Bosques.
- Macias-Sámano, J.E., Niño-Domínguez, A., & Rodríguez-Flores, O. (2024). Trampas cebadas para monitorear escarabajos descortezadores del género *Ips* en México, Centroamérica y el Caribe. *La Ciencia Aplicada en Chiapas*, 8(13), 32-41.
- Maes, J. M. (1992). Plagas insectiles de Nicaragua I, coleópteros asociados con *Pinus oocarpa* Schiede. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 23, 13-16.
- Maes, J. M., & Téllez R, J. (1988). Catálogo de los insectos y artrópodos terrestres asociados a las principales plantas de importancia económica en Nicaragua. *Revista Nicaragüense de Entomología*, 5, 1-95.

- Maes, M. (1998). *Insectos de Nicaragua*. Nicaragua: Ministerio del ambiente y Recursos Naturales.
- Maldonado, J. (2015). *Dinámica temporal de la actividad vegetal en zonas degradadas por Ips confusus en bosque de Pinus cembroides: Region Central de Chihuahua (2000-2014)* [Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez]. http://erecursos.uacj.mx/bitstream/handle/20.500.11961/1748/PT_MALDONADO_115167_JUNIO-2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- McMillin, J., & DeGomez, T. (2008). *Arizona five spined Ips, Ips lecontei Swaine, in the Southwestern United States*. Arizona, Estados Unidos: United States Department of Agriculture.
- Ministerio Agropecuario y Forestal (2005). *Valoración Forestal Nicaragua 2000*. Managua, Nicaragua: <https://www.yumpu.com/es/document/read/38160632/valoracion-forestalnicaragua-2000-magfor>
- Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales. (2018). *Atlas de cobertura forestal y deforestación en Nicaragua 1969-2015*. Autoedición.
- Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales. (2021a). *Plan de Manejo del Área Protegida Reserva Natural Tisey-La Estanzuela*. <https://www.marena.gob.ni/planes-demanejo/plan-de-manejo-reserva-natural-tisey-la-estanzuela/>
- Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales. (2021b). *Plan de Manejo del Área Protegida Cerro Tomabú*. <https://www.marena.gob.ni/planes-de-manejo/plan-de-manejo-reservanatural-cerro-tomabu/>
- Morales-Martínez, R., Castrejón-Antonio, J. E., Sánchez-Rangel, J. C., Ballesteros-Torres, J., Jaimes-Yañez, N., & Fuentes-Guardiola, L. T. (2023). *Ips apache* infestation of *Pinus devoniana* (= *Pinus michoacana*) in Southern Jalisco, Mexico. *Southwestern Entomologist*, 48(3), 721-724.
- Nunes, C., & Arce D, M. (2004). *Guía para la identificación de gorgojos descortezadores del pino e insectos asociados*. Estelí, Nicaragua: Universidad Católica Agropecuaria del Trópico Seco.
- Old, K.M. y Stone, C. (2005). *Vulnerability of Australian forest carbon sinks to pests and pathogens in a changing climate*. Australian Greenhouse Office.
- Ordoñez Rodríguez, J. A. (2019). *Inventario, fluctuación poblacional y hábitos alimenticios de insectos descortezadores asociados a los pinos (Pinus oocarpa, L.) en Matagalpa* [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio Institucional-Universidad Nacional Agraria.
- Ostmark, E. (1966). *The life history, Habits and Control of the Arizona Five-spined Ips, Ips lecontei Swaine. (Coleoptera: Scolytinae)*. Florida, Estados Unidos: University of

Florida. <https://ufdcimages.uflib.ufl.edu/AA/00/03/77/22/00001/lifehistoryhabit00ostm.pdf>

- Patwary, M., Kenchington, L., Bird, J. & Zouros, E. (1994) The use of random amplified polymorphic DNA markers in genetic studies of the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin, 1791). *Journal of Shellfish Research*, 13, 547–553.
- Programa Socioambiental y Desarrollo Forestal. (2006). *Manejo del Bosque de pino en Nicaragua*. Managua, Nicaragua.
- Rivera R, M., Bocatelli, B., & Billings, R. (2010). Cambio climático y eventos epidémicos del gorgojo descortezador del pino *Dendroctonus frontalis* en Honduras. *Forest systems*, 19(1), 70-76.
- Rodríguez, J. P., Good, T., & Dirzo, R. (2005). Diversitas y el reto de la conservación de la biodiversidad latinoamericana. *Interciencia*, 30(8), 449. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442005000800001&lng=es&tlng=es.
- Rodríguez, P. A., Romero, B., & Rodríguez, E. J. (2011). Reporte del descortezador *Ips gradicollis* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) y de su parasitoide *Roptrocercus* (Hymenoptera:Pteromalidae) en plantaciones de *Pinus caribaea* en el proyecto de reforestación bosque siglo XXI, Coclé: Panamá. *Scientia*, 21(2), 135-138.
- Rodríguez-Flores, O., & Estrada-Hernández, R. M. (2024). Insectos plagas del pino caribe y sus enemigos naturales en la Reserva Forestal La Yeguada, Panamá. *Revista Minerva*, 7(3), 35-46.
- Salas, J. (1993). *Árboles de Nicaragua*. IRENA.
- Schroeder, M., & Lindelow, A. (2002). Attacks on living spruce trees by the bark beetle *Ips typographus* (Col. Scolytidae) following a storm-felling: a comparison between stands with and without removal of wind-felled trees. *Agricultural and Forest Entomology*, 4(1), 47-56. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1461-9563.2002.00122.x>
- Sediles, A., & Álvarez, R. (2001). Determinación preliminar de daños causados por gorgojos descortezadores en bosques de pinos del municipio de Jalapa, Nueva Segovia, Primer Trimestre del año 2001. *La Calera*, 1(1), 45-49.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., & Flook, P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the entomological Society of America*, 87(6), 651-701.
- Smith, S. M. & Cognato, A. I. (2009). Occurrence of *Ips apache* Lanier (Coleoptera: Curculionidae:Scolytinae) in Panama. *The Coleopterists Bulletin*, 63(4), 452-453.

- Soto-Correa, J. C., Aviles-Carrillo, I., Giron-Gutierrez, D., & Cambrón-Sandoval, V. H. (2019). Abundancia altitudinal de *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Curculionidae) en relación a variables climáticas en Hidalgo, México. *Revista de Biología Tropical*, 67(3), 370-379.
- Stevens, W. D., Ulloa, C., Pool, A. & Montiel, O. M. (2001). *Flora de Nicaragua: Angiospermas (Pandeneaceae Zygothylaceae)*. Missouri Botanical Garden Press.
- Thunes, K., Midtgaard, F., Kirkendall, L., & Espino, V. (2005). *Los gorgojos de Pino de Honduras: descripciones de especies, asociaciones de hospederos y métodos de monitoreo y control*. Honduras: Escuela Nacional de Ciencias Forestales. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.4661.9281>
- Tkacs, B., Bursall, H., DeNitto, G., Eglitis, A., Hanson, J., Killejunas, J., Wallner, W., O'Brien, J., & Smith, E. (1998). *Pest Risk Assessment of the Importation into the United States of Unprocessed Pinus and Abies Logs from Mexico*. Madison, Estados Unidos: Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory.
- Villa, J., & Wagner, M. (1996). Efecto de la densidad residual en el desarrollo de *Ips pini* (Coleoptera: Scolytidae) en residuos de Pino. *Ciencia Forestal en México*, 21(80), 114130.
- Vogler, A. P., Desalle, R., Assmann, T., Knisley, C. B., & Schultz, T. D. (1993). Molecular population genetics of the endangered tiger beetle *Cicindela dorsalis* (Coleoptera: Cicindelidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 86(2), 142-152. <https://doi.org/10.1093/aesa/86.2.142>
- Whittaker, J. B. (2001). Insects and plants in a changing atmosphere. *Journal of Ecology*, 89(4), 507-518.
- Wood, D. L., & Stark, R. W. (1968). The life history of *Ips calligraphus* (Coleoptera: Scolytidae) with notes on its biology in California. *The Canadian Entomologist*, 100(2), 145-151.
- Wood, S. L. (1982). The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph.
- Xiong, B., & Kocher, T. D. (1991). Comparison of mitochondrial DNA sequences of seven morphospecies of black flies (Diptera: Simuliidae). *Genome*, 34(2), 306-311. <https://doi.org/10.1139/g91-050>
- Zamora, R. A., & Lapis, E. B. (1987). Life history and phenology of *Ips calligraphus* Germar in Benguet province. *Philippine Technology Journal*, 12(2), 43-60.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Descripción del método salting-out para la extracción de ADN evaluado por Amini *et al.*, (2020) y modificado para la presente investigación

Se colocaron especímenes enteros de las especies y la morfoespecie de *Ips* en un vial Eppendorf de 1.5 ml donde fueron lavados con 50 μ l de buffer de extracción (0.1 M EDTA, 0.05 M TRIS), donde se descartó el buffer y se le añadió nuevamente 140 μ l de buffer de extracción (0.1 M EDTA, 0.05 M TRIS) macerándolo con un pistilo durante 1 minutos, al macerado resultante se le añadió 17.5 μ l de SDS al 10% y 2 μ l de proteinasa K, la muestras fueron agitadas por medio de un agitador tipo vortex y se incubaron a 55° por 6 horas en baño María. Culminado el periodo de incubación, se adicionaron 4 μ l de RNasa A y después de 3 minutos se añadió 40 μ l de NaCl 5M centrifugándose por 30 minutos a 14,000 rpm. Posteriormente, se descartó el sobrenadante y al precipitado restante se le agregó 200 μ l de isopropanol y se centrifugó por 20 minutos a 14,000 rpm. El pellet resultante fue lavado con 500 μ l de etanol a 70% y se centrifugó por 10 minutos a 14,000 rpm. El pellet fue secado por inversión del Eppendorf durante 12 horas, disolviéndose con 500 μ l de agua libre de nucleasas.

Anexo 2. Descripción del proceso de amplificación del ADN utilizado en el presente estudio

El proceso de amplificación se realizó mediante la técnica de PCR convencional con reacciones de 25 μ l de volumen. Para alcanzar este volumen se mezcló 1.5 μ l de la muestra de ADN a amplificar con 12.5 μ l de Master Mix marca PROMEGA, 8 μ l de agua libre de nucleasas, 1.5 μ l del cebador LR-N-13398 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3' (directo) y 1.5 μ l del cebador LR-J-12883 5'-CTCCGGTTTGAAGTCAGATC-3' (reverso).

El PCR convencional de β -caseína se realizó bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94 °C durante 3 minutos, 30 ciclos a 94 °C durante 45 segundos, posterior a 49.5 °C por 45 segundos seguido de 72 °C por 60 segundos y una extensión final a 72 °C durante 7 minutos. Para visualizar los fragmentos amplificados se depositaron 8 μ l del producto PCR con 1.5 μ l del colorante de carga 6x en un gel de agarosa al 1 % teñido con Gel Red. El gel se colocó en una cámara de electroforesis con buffer TBE 1X. La electroforesis se llevó a cabo por un periodo de

una hora y media a 80 voltios a 85 miliamperios luego se visualizaron las bandas en el transluminador registrándose los resultados fotográficamente.

Anexo 3. Descripción de la técnica de la digestión con enzimas de restricción con los productos PCR

El producto de la PCR convencional se sometió a digestión con la enzima *HinfI* en un volumen final de 10 μ l. El procedimiento consistió en adicionar 8 μ l del producto amplificado PCR, 2 μ l de la enzima de restricción. Posteriormente se incubó a 37 °C por una hora y media a baño María. Después de la incubación se realizó la separación de los fragmentos en un gel de agarosa al 2 % en solución de Tris-Borato-EDTA buffer 1X. Posteriormente se visualizaron las bandas en el transluminador registrándose los resultados fotográficamente. Para el caso de *I. apache* se espera observar fragmentos de 590 pb y 130 pb, para *I. calligraphus* el fragmento de 490 pb y 150 (Figura 5).

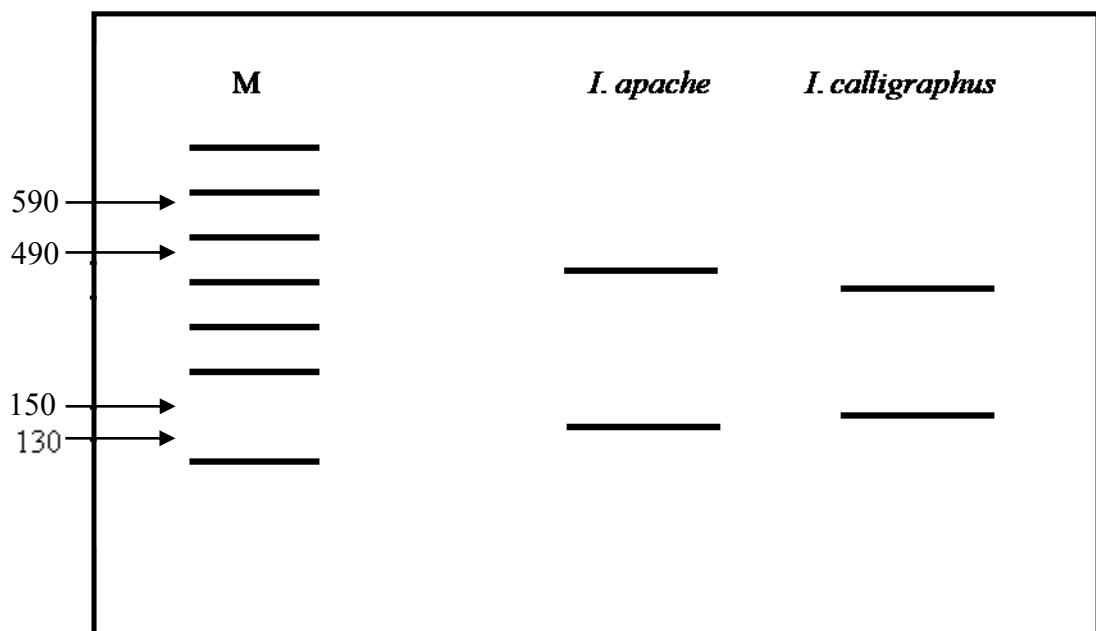


Figura 5. Representación gráfica de tamaños de fragmentos a obtener después de la digestión con la enzima *HinfI* para las especies *I. apache* e *I. calligraphus*. M: Marcador de peso molecular.

Anexo 4. Estadísticos descriptivos para la variable longitud del edeago de *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache*

Especies y morfoespecies	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	Error estándar
<i>I. calligraphus</i>	1.83	1.70	2.00	0.15	0.09
<i>I. apache</i>	1.61	1.00	1.90	0.18	0.03
<i>I. cf. apache</i>	1.64	1.10	1.90	0.19	0.03

Anexo 5. Comparación estadística de la variable longitud del edeago de *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache* por medio de la prueba Kruskal-Wallis con un nivel de confianza de 0.05

Variable	Grupos	Suma de rangos	H (2, N= 101)	p-valor
Longitud del edeago	<i>I. calligraphus</i>	247	6.090119	0.0476
	<i>I. apache</i>	2038		
	<i>I. cf. apache</i>	2866		

Anexo 6. Prueba de efectos entre sujetos (Post-hoc) para la variable longitud del edeago de *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache* por medio de la prueba de Dunn

Comparaciones entre especies y morfoespecies	Diferencia de rangos	Z	SE	Valor crítico	p-valor	p-valor/2
<i>I. calligraphus</i> - <i>I. apache</i>	37.04	2.19	16.94	40.43	0.029	0.014
<i>I. calligraphus</i> - <i>I. cf. apache</i>	28.26	1.68	16.86	40.24	0.094	0.047
<i>I. apache</i> - <i>I. cf. apache</i>	-8.79	1.53	5.76	13.74	0.13	0.064

Anexo 7. Estadísticos descriptivos para la variable ancho anterior del lóbulo medio del edeago de *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache*

Especies y morfoespecies	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	Error estándar
<i>I. calligraphus</i>	0.42	0.37	0.47	0.05	0.03
<i>I. apache</i>	0.32	0.22	0.42	0.04	0.01
<i>I. cf. apache</i>	0.36	0.25	0.42	0.04	0.01

Anexo 8. Comparación estadística de la variable ancho anterior del lóbulo medio del edeago de *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache* por medio de la prueba Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de confianza de 0.05

Efecto	Suma de cuadrados	Grados de libertad	MS	F	p
Ancho basal entre especies	0.04	2	0.02	14.04	0.000004
Error	0.16	98	0.001		

Anexo 9. Pruebas de los efectos entre sujetos (Post-hoc) para la variable ancho anterior del lóbulo medio del edeago de *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache* por medio de la prueba Tukey HSD

Especies y morfoespecies	<i>I. calligraphus</i>	<i>I. apache</i>	<i>I. cf. apache</i>
<i>I. calligraphus</i>		0.000500	0.032747
<i>I. apache</i>	0.000500		0.000274
<i>I. cf. apache</i>	0.032747	0.000274	

Anexo 10. Estadísticos descriptivos para la variable ancho posterior del lóbulo medio del edeago de *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache*

Especies y morfoespecies	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	Error estándar
<i>I. calligraphus</i>	0.41	0.39	0.44	0.03	0.02
<i>I. apache</i>	0.33	0.25	0.39	0.03	0.01
<i>I. cf. apache</i>	0.35	0.27	0.42	0.04	0.01

Anexo 11. Comparación estadística de la variable ancho posterior del lóbulo medio del edeago de *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache* por medio de la prueba Kruskal-Wallis con un nivel de confianza de 0.05

Variable	Grupos	Suma de rangos	H (2, N= 101)	p-valor
Ancho apical del edeago	<i>I. calligraphus</i>	287.00	14.35200	0.0008
	<i>I. apache</i>	1867.50		
	<i>I. cf. apache</i>	2996.50		

Anexo 12. Prueba de efectos entre sujetos (Post-hoc) para la variable ancho posterior del lóbulo medio del edeago de *I. calligraphus*, *I. apache* y la morfoespecie *I. cf. apache* por medio de la prueba de Dunn

Comparaciones entre especies y morfoespecies	Diferencia de rangos	Z	SE	Valor crítico	p-valor	p-valor/2
<i>I. calligraphus</i> - <i>I. apache</i>	54.17	3.19	17	40.59	0.0014	0.00072
<i>I. calligraphus</i> - <i>I. cf. apache</i>	39.13	2.31	16.92	40.39	0.021	0.01
<i>I. apache</i> - <i>I. cf. apache</i>	-15.04	2.6	5.78	13.80	0.0093	0.0046