

**DESCRIPCION MORFOLOGICA DE LOS ESTADOS INMADUROS DE *RHAGOLETIS TOMATIS* FOOTE (DIPTERA: TEPHRITIDAE).<sup>1</sup>**

**MORPHOLOGICAL DESCRIPTION OF IMMATURE STAGES OF *RHAGOLETIS TOMATIS* FOOTE(DIPTERA: TEPHRITIDAE).**

D. FRIAS L.<sup>2</sup>, H. MARTINEZ<sup>3</sup> y A. ALVIÑA<sup>2</sup>.

ABSTRACT

The morphology of the immature stages of *R. tomatitis* was studied with optical and scanning microscopes. The results show that the eggs, three larvac instars and pupae can be morphologically distinguished from their congeneric species, *R. nova* and *R.conversa*.

KEY WORDS : Morphology, immature stages, *Rhagoletis tomatitis*.

INTRODUCCION

La mayor parte de la información taxonómica en la familia Tephritidae se refiere a los imagos y en especial se restringe a aquellas especies de importancia económica (White y Elson-Harris 1992, White 1988, Hernández-Ortiz 1992, Foote 1980, 1981).

En relación a los estados inmaduros, la mayoría de los estudios se han efectuado en larvas de tercer estado, existiendo muy poca información en larvas de primer y segundo estado (Steck *et al* 1990, Steck y Wharton 1988, Persson 1983, Carroll y Wharton 1989, Frías 1986a, White y Elson-Harris 1992).

Estudios morfológicos detallados de todos los estados inmaduros son muy importantes para

completar los estudios sistemáticos y establecer así las relaciones filogenéticas de estas especies de importancia económica. Este tipo de información es necesaria a fin de poder identificar, además de los adultos, a los huevos, larvas de todos los estados y pupas de cada especie, ya que un conocimiento profundo de la morfología de los estados inmaduros puede mejorar las perspectivas de exportación de aquellas frutas atacadas por las larvas de determinadas especies de tefrítidos.

En Chile, dos de las especies del género *Rhagoletis*, *R. nova*, y *R. tomatitis* presentan una gran importancia económica por vivir estrechamente asociadas a las plantas cultivadas *Solanum muricatum* (pepino dulce) y *Lycopersicum esculentum* (tomate) respectivamente (Frías 1986b; Frías *et al* 1991a).

En *R. tomatitis* se ha determinado que su distribución geográfica en la actualidad está restringida a la II región. (Frías 1993 y Frías *et al*, en prensa), lo que ha mejorado notablemente la posibilidad de decretar área libre de esta especie desde la II región al sur del país, aumentando de esta manera las expectativas de abrir nuevos mercados para la exportación de tomate fresco, en especial a los Estados Unidos de América. Por este motivo es necesario un conocimiento muy profundo de los caracteres morfológicos, útiles para

---

<sup>1</sup> Financiado con proyecto 016/87 FIA Ministerio de Agricultura y Asociación de Exportadores de Chile. y proyecto IE 93-02 DIUMCE.

<sup>2</sup> Instituto de Entomología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Casilla 147 Santiago - Chile. Fax : 56-2-2392067.

<sup>3</sup> Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

separar en forma rápida cada estado del ciclo vital de las especies chilenas del género de *Rhagoletis* y en especial de *R. tomatis*. En la actualidad, con el conocimiento taxonómico existente, es posible distinguir a los adultos de *R. tomatis*, de *R. nova* y *R. conversa* (Frías 1981, 1986a, Frías *et al* 1991a,, Frías y Martínez 1991b), sin embargo existen pocos antecedentes de la morfología de los estados inmaduros, en especial de larvas de primer y segundo estado.

El objetivo principal de este trabajo es emprender un estudio de las formas inmaduras de *Rhagoletis tomatis*, en especial larvas de los tres estados para así poder contribuir a un mejor conocimiento de la biología de esta especie y poder distinguirla de sus congéneres de distribución chilena, *R. nova* y *R. conversa*.

#### MATERIALES Y METODOS

Los estados inmaduros analizados se lograron de cultivos de *Rhagoletis tomatis* efectuados en el centro de operaciones del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), II Region, ciudad de Antofagasta.

Los huevos se obtuvieron por tres vías: a) disectando frutos donde las hembras habían puesto recientemente, b) disectando los ovarios de hembras grávidas y c) disectando frutos artificiales confeccionados de agar-agar y cubiertos con parafilm. Para coleccionar larvas de tercer estado y pupas, los frutos infectados se pusieron sobre una malla de alambre con orificios de 1cm; bajo esa malla se instaló una cubeta plástica donde caían todas las larvas de tercer estado que desalojaban los frutos. Algunas de estas larvas se fijaban en etanol de 70°, otras se dejaban pupar o bien se les permitía llegar a adultos, para poder así mantener los cultivos en el laboratorio. Las larvas de primer y segundo estado se obtuvieron introduciendo frutos infestados partidos en pequeños trozos en un recipiente con agua que se calentó lentamente hasta una temperatura de 60° C, así las larvas hacían desalojo de los frutos y luego eran colectadas en el fondo del recipiente con un pincel. Posteriormente eran trasladadas a etanol de 70°.

Los caracteres y morfología de los estados inmaduros fueron analizados tanto en el microscopio

estereoscópico como en un microscopio de barrido.

En las larvas de primer y segundo estado se estudió principalmente esqueleto cefalofaríngeo y los tubérculos del área media de la región posterior. Todas estas estructuras son fáciles de distinguir con ayuda de un microscopio estereoscópico. Además de las mencionadas estructuras, en larvas de tercer estado se estudiaron los espiráculos anteriores y posteriores, número de dientes preorales y número de rebordes orales. La nomenclatura utilizada fué aquella propuesta por Persson (1963), Carroll y Wharton (1989) y White y Elson-Harris (1992).

#### RESULTADOS

**Huevos.** En *R. tomatis*, los huevos no presentan filamento en la región micropilar como ocurre en los huevos de *R. conversa* y *R. nova* que en Chile desarrollan su ciclo de vida en *Solanum tomatillo* y *Solanum muricatum* respectivamente (Frías y Martínez 1991). En las figuras 1a, 1b, 1c y 1d se muestran las diferencias morfológicas indicadas en los huevos de *R. tomatis* y *R. nova*, al microscopio de barrido.

Las diferencias interespecíficas señaladas permiten identificar a los huevos de ambas especies en forma rápida.

#### Larvas:

**Larvas de primer estado:** Este estado larvario corresponde a aquellas larvas provenientes de huevos recién eclosionados. Son muy pequeñas, 1.3 a 3 mm de longitud aproximadamente (Fig. 2). Estas larvas se caracterizan en relación a la coloración del esqueleto cefalofaríngeo. Así, los ganchos mandibulares y el esclerito hipofaríngeo son totalmente café claro, la placa basal es extensivamente negra especialmente los cuernos dorsales. El esclerito hipofaríngeo es elongado. El diente subapical notoriamente de una longitud menor al diente apical (Fig. 3). En la Fig. 4 se muestra una vista frontal, al microscopio de barrido, de una larva de primer estado. Se observan los ganchos mandibulares, 3 rebordes orales y órganos sensoriales orales. Otra característica de estas larvas de primer estado es que en el área media de la región posterior presentan dos estructuras elongadas que denominaremos

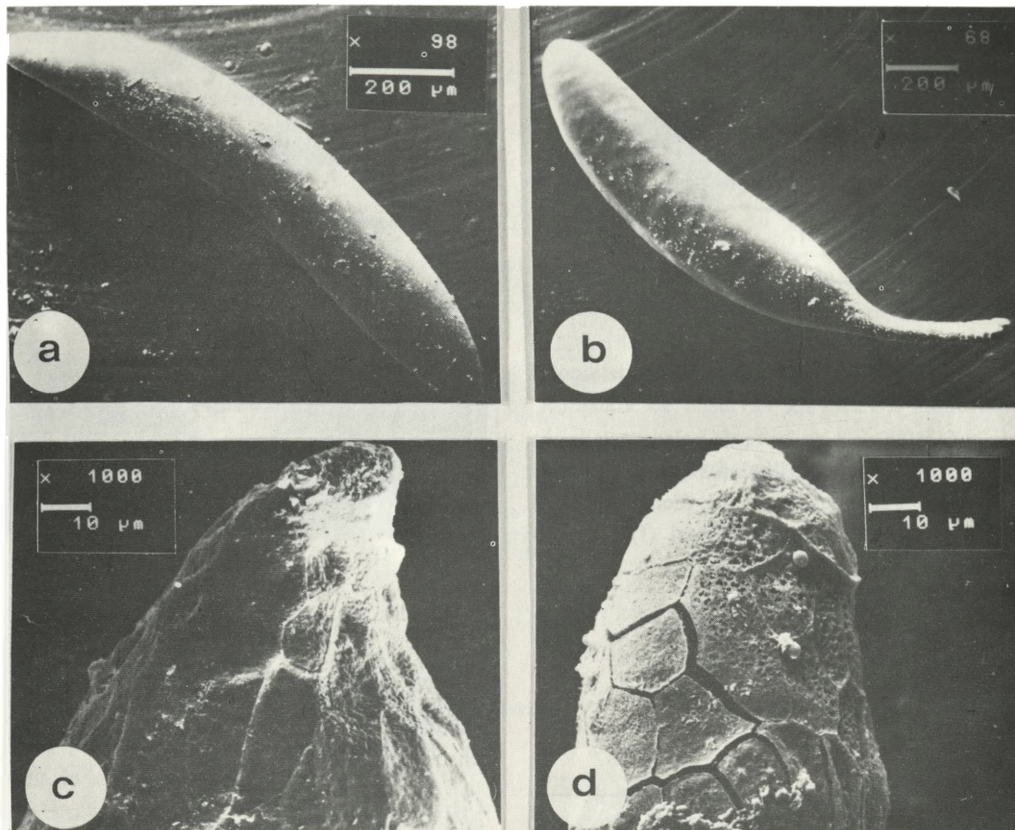


Figura 1

Huevos de *R. tomatis* y *R. nova* al microscopio de barrido. Huevo de *R. tomatis*(a); Huevo de *R. nova* (b); Micropila de un huevo de *R. tomatis*. (c) ; Micropila de un huevo de *R. nova* (d).

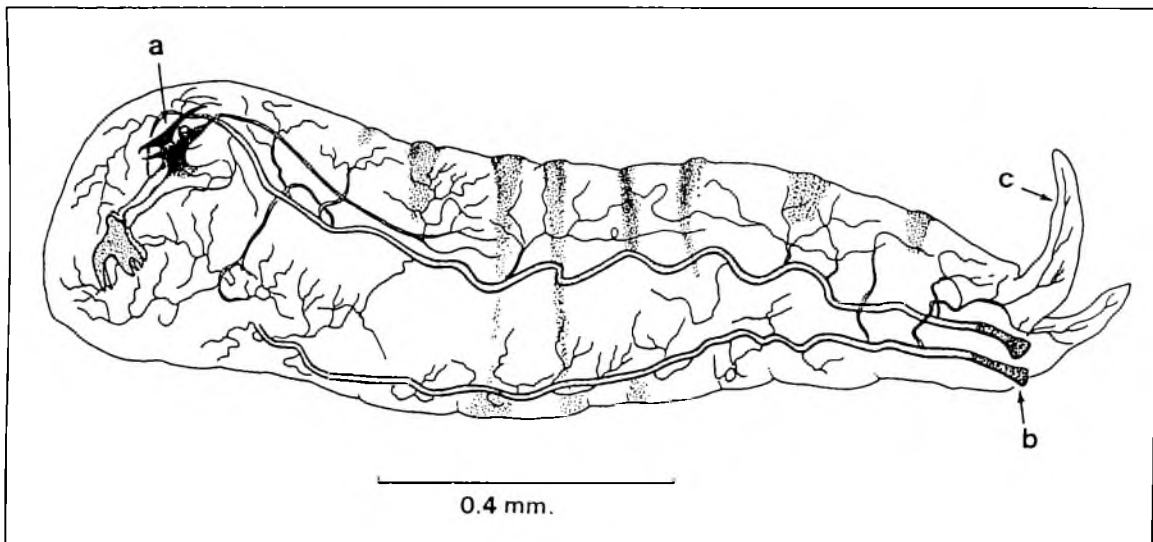


Figura 2

Larva de primer estado en vista lateral. Se observa el esqueleto cefalofaríngeo (a); Espiráculos posteriores (b) y tubérculos del área media de la región posterior (c).

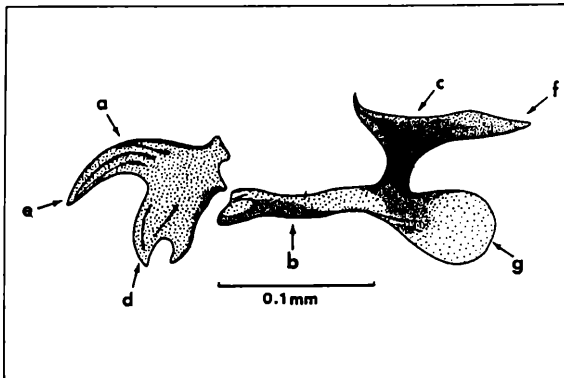


Figura 3

Esqueleto cefalofaríngeo de larva de primer estado; se observan los ganchos mandibulares (a); el esclerito hipofaríngeo (b) y la placa basal (c); diente subapical (d); diente apical (e); cuerno dorsal (f); cuerno ventral (g)

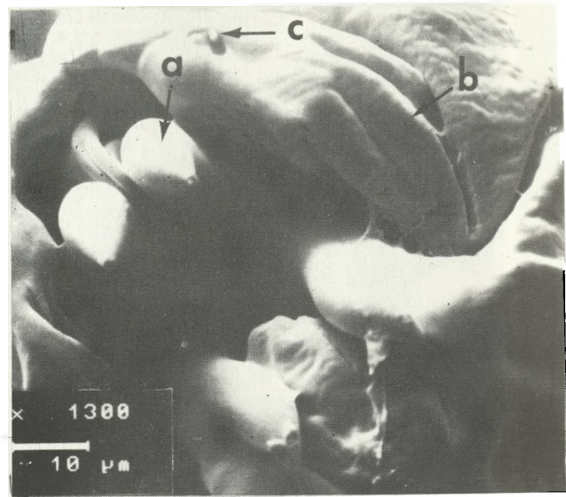


Figura 4

Larvas de primer estado en vista frontal en el microscopio de barrido. Se observan ganchos mandibulares (a); rebordes orales (b) y órganos sensoriales orales (c).

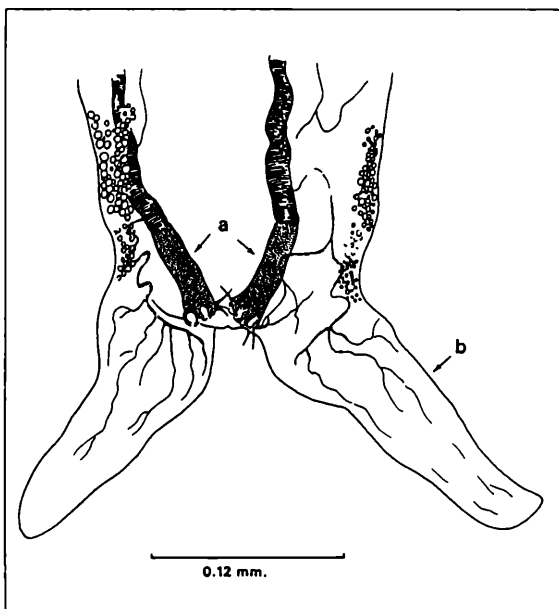


Figura 5

Región posterior de una larva de primer estado. Se observan los espiráculos posteriores (a) y los tubérculos del área media (b)

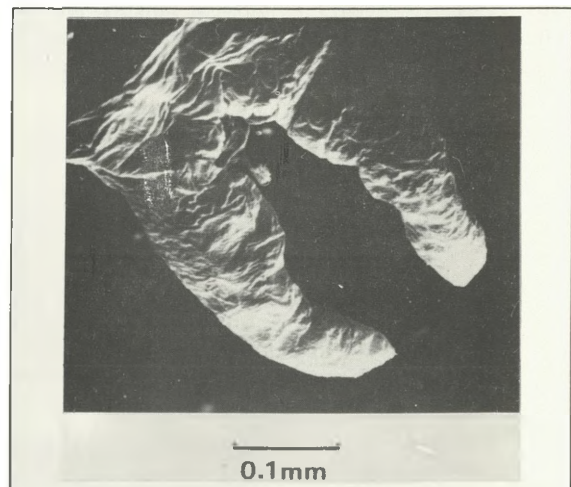


Figura 6

Tubérculos del área media de la región posterior de una larva de primer estado de *R. tomatitis* al microscopio de barrido

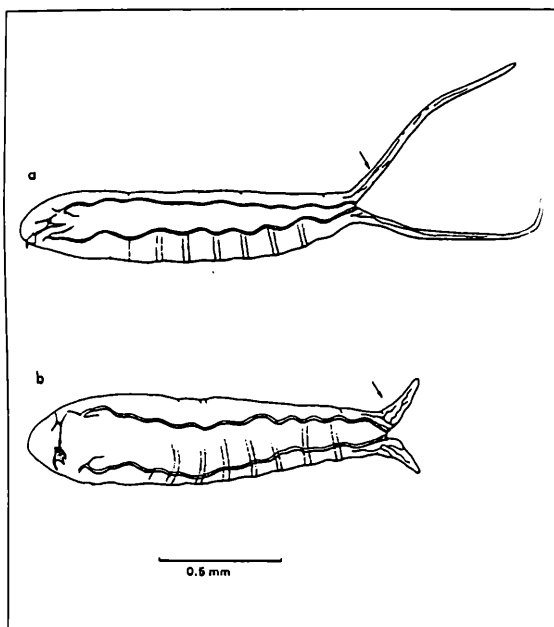


Figura 7

Se muestran las diferencias morfológicas de larvas de primer estado de *R. nova* (a) y de *R. tomatis* (b) en relación a la longitud de los tubérculos del área intermedia de la región posterior.

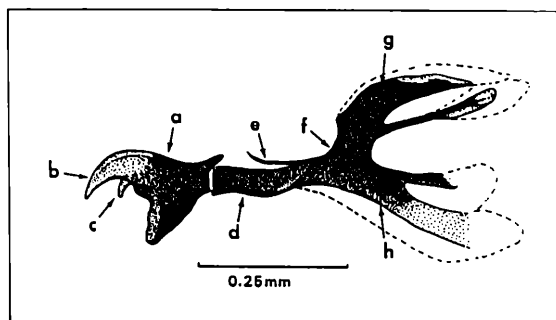


Figura 8

Esqueleto cefalofaríngeo de larva de segundo estado de *R. tomatis*. Se observan los ganchos mandibulares (a); diente apical (b); diente subapical (c); esclerito hipofaríngeo (d); barra parastomal, (e); placa basal (f),-

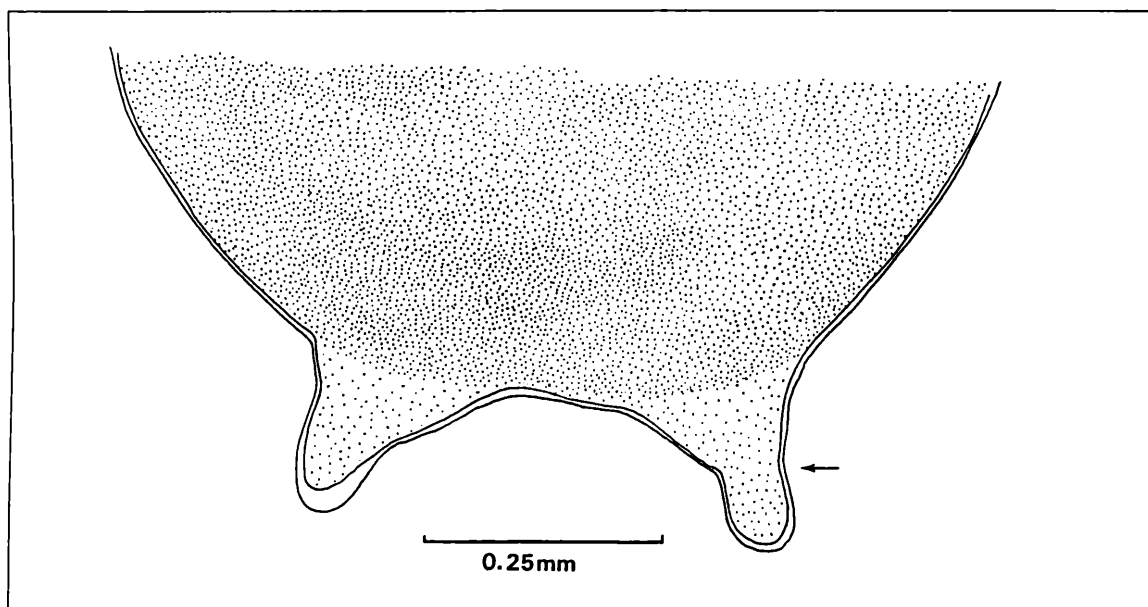


Figura 9

Se muestran los tubérculos del área media de la región posterior de larvas de segundo estado de *R. tomatis*.

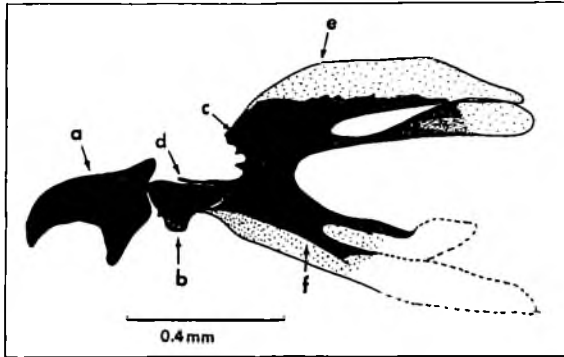


Figura 10

Esqueleto cefalofaríngeo de larva de tercer estado de *R. tomatis*. Se indican los ganchos mandibulares (a); esclerito hipofaríngeo (b); placa basal (c); barra parastomal (d); cuerno dorsal (e); cuerno ventral (f)

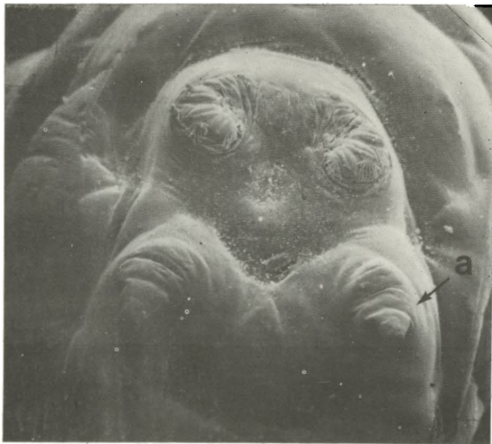


Figura 12

Vista posterior de una larva de tercer estado de *R. tomatis*. Se muestran los túberculos del área media de la región posterior (a).

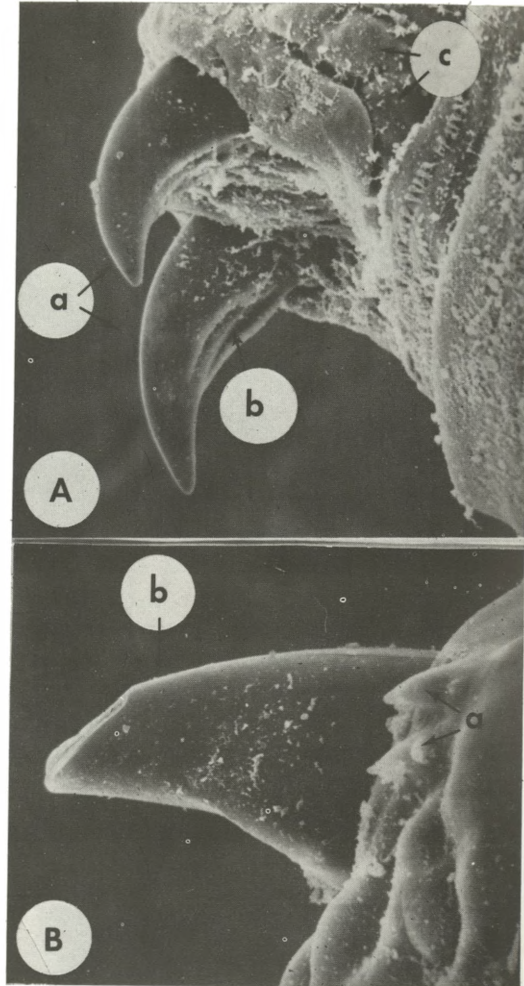


Figura 11

A.- Región anterior en vista lateral de una larva de tercer estado de *R. tomatis* al microscopio de barrido. Se observan los dientes apicales de los ganchos mandibulares (a) surcos de los dientes apicales (b) y rebordes orales (c). B.- Se observan los dientes preorales (a) y diente apical (b).

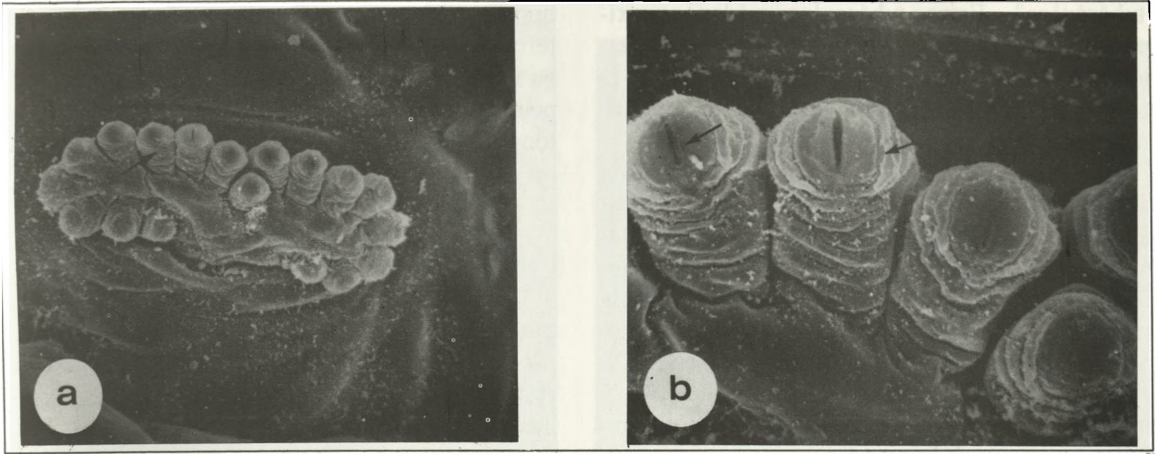


Fig 13

Espiráculos anteriores de larvas de tercer estado de *R. tomatis* al microscopio de barrido a menor y mayor aumento (a y b respectivamente) mostrando la forma bilobulada (a), la fila de túbulos y forma de ellos (b).

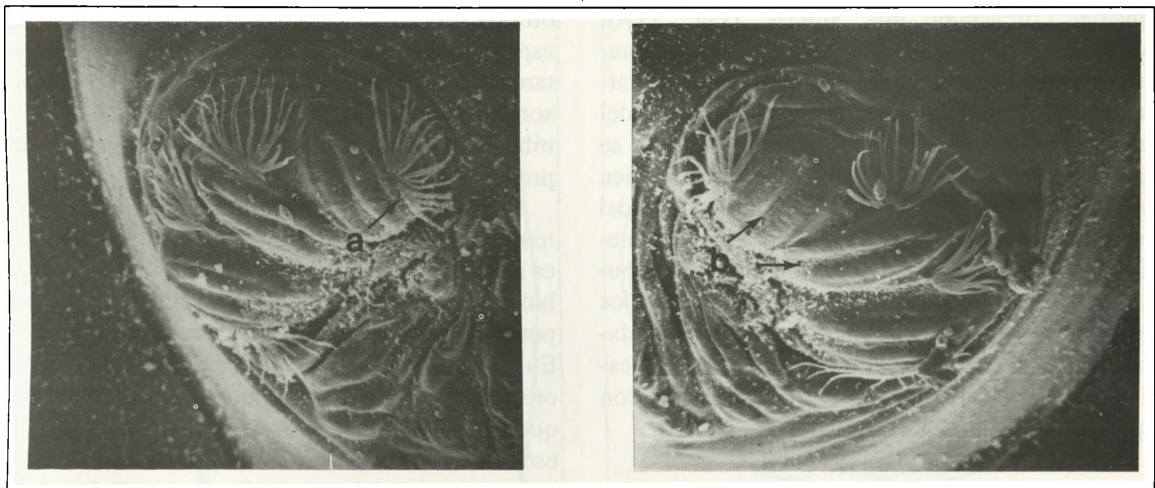


Figura 14

Espiráculos posteriores, izquierdo y derecho, de larvas de tercer estado, de *R. tomatis* al microscopio de barrido mostrando los cepillos interespiraculares (a) y las aberturas estigmáticas (b).

"tubérculos". Estos tubérculos miden aproximadamente 0.2 mm de longitud lo que corresponde a 1/8 de la longitud total del cuerpo de la larva (sin contemplar la longitud de los tubérculos), (Figura 2 y Figuras 5 y 6).

En la Fig. 7 se observa la comparación de una larva de primer estado de *R. tomatitis* y *R. nova* mostrando las diferencias morfológicas en relación a la longitud de los tubérculos del área media de la región posterior. Se observa que los tubérculos de las larvas de *R. tomatitis* son apreciablemente más cortos que de los *R. nova*.

*Larvas de segundo estado.* Miden entre 4 a 5 mm de longitud, los ganchos mandibulares son café claro sólo en la región anterior que corresponde al diente apical y diente subapical, el resto del esqueleto cefalofaríngeo es de color negro (Fig. 8). Los tubérculos del área media de la región posterior se reducen y corresponden aproximadamente a 1/16 de la longitud total del cuerpo de la larva (Fig. 9).

*Larvas de tercer estado.* Miden aproximadamente entre 7 mm a 10 mm de longitud, todo el esqueleto cefalofaríngeo es de color negro. El diente subapical está ausente (Fig. 10). Estas larvas presentan 4 a 5 rebordes orales, los dientes apicales presentan dos surcos (Fig. 11A). Además, se distinguen claramente 3 dientes preorales esclerosados (Fig. 11B). En este estado larvario es posible distinguir aún los tubérculos del área media de la región posterior, pero estos se han reducido aproximadamente a 0.1 mm o bien estimativamente a 1/72 de la longitud total del cuerpo de la larva (Fig. 12). Los espiráculos anteriores son bilobulados y presentan 18 - 22 túbulos (Fig. 13a y 13b). En relación a los espiráculos posteriores su longitud corresponde aproximadamente a 3 veces la amplitud de las aberturas estigmáticas. Cepillos interespiraculares con aproximadamente 6 - 11 pelos (Fig. 14 y 15).

**Pupas:** Los puparios son uniformemente de color café claro (Fig. 16). En el área media de la región posterior es posible visualizar dos tubérculos de un longitud proximada de 0.1 mm o bien a 1/72 de la longitud total de pupario, que corresponden a aquellos que se encuentran en larvas de tercer estado (Fig. 17 y 18). En la región anterior de las pupas se observan los espiráculos anteriores (Fig. 17) pudiéndose constatar a mayor aumento su forma bilobulada y contar el número de túbulos

que coincide con aquellos detectados en larvas de tercer estado (18 - 22 túbulos). De manera similar en la región posterior se observan los espiráculos posteriores en las cuales es posible estimar su longitud y amplitud (Fig. 18).

#### DISCUSION Y CONCLUSIONES

Todos los estados inmaduros de *R. tomatitis* pueden identificarse claramente y en forma rápida de su congéneres de distribución chilena. Así, la ausencia de filamento del huevo en *R. tomatitis* permite separarlos de los de *R. nova* y *R. conversa* en los cuales se presenta esta estructura (Frias 1986a, 1981). En la relación a las larvas, cada estado larvario de *R. tomatitis* puede ser identificado en forma rápida y exacta además de su tamaño, de acuerdo a la estructura y color del esqueleto cefalofaríngeo y a la longitud de los tubérculos del área media, de la región posterior. Estos tubérculos no habían sido descritos en otras especies de Tephritidae (Carroll y Wharton 1989, Steck y Wharton 1988, White y Elson-Harris 1992). Además las larvas de los tres estados de *R. tomatitis* también pueden distinguirse de las otras especies chilenas. Así en *R. tomatitis* los espiráculos anteriores son bilobulados y presentan 18 - 22 túbulos. En cambio en *R. conversa* son más bien unilobulados y presentan de 11 - 17 túbulos, (infrecuentemente 21). (Frias *et al.*, en preparación).

En relación a los espiráculos posteriores, en *R. tomatitis* la longitud de las aberturas estigmáticas es aproximadamente 3 veces la amplitud, en cambio en *R. nova* y *R. conversa* su longitud corresponde aproximadamente 6 a 7 veces su amplitud. En vista lateral la base de los espiráculos posteriores de *R. conversa* esta mucho más esclerosada que en *R. tomatitis* y *R. nova*. En larvas de tercer estado, en *R. tomatitis* se observan claramente los dos tubérculos del área media que están bastante más reducidos en *R. conversa* y practicamente han desaparecido en *R. nova*. Estas diferencias también pueden observarse en las pupas de estas especies. Además, las larvas de *R. nova* presentan el labio muy protuberante, carácter que se presenta en algunos individuos de *R. conversa* y está totalmente ausente en *R. tomatitis*. Las larvas de *R. tomatitis* presentan 3 dientes preorales. En cambio en *R. nova* se registran 3 a 4 dientes pre-



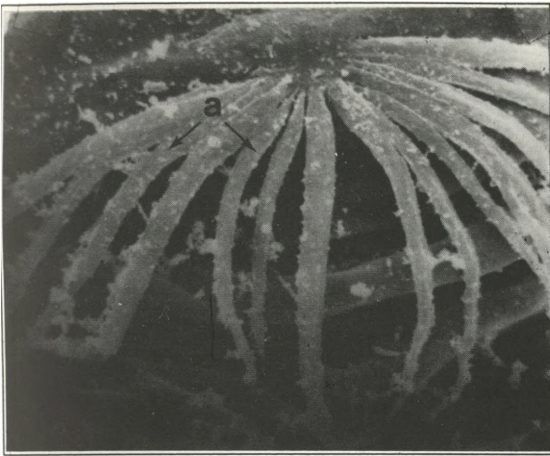


Figura 15

Cepillos interespiraculares de larvas de tercer estado de *R. tomatis* al microscopio de barrido (a).

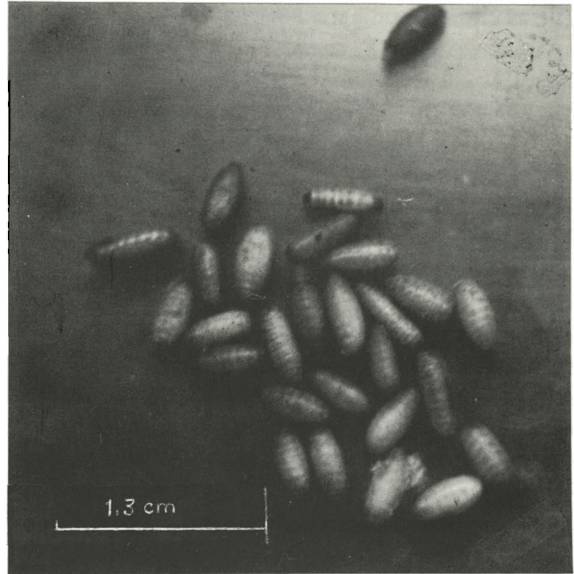


Figura 16

Pupas de *R. tomatis* vistas al microscopio óptico.

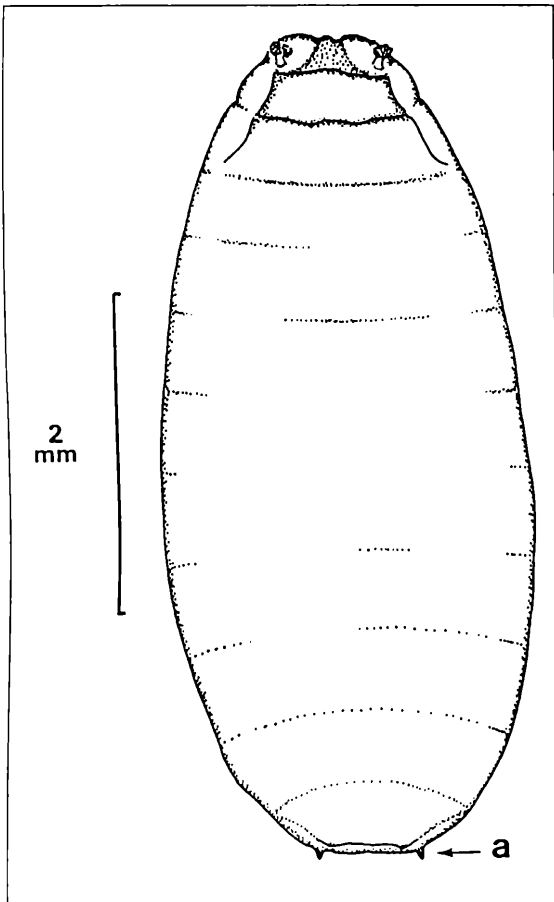


Figura 17

Esquema en vista dorsal de una pupa de *R. tomatis* mostrando los rudimentos de los tubérculos del área media de la región posterior (a).

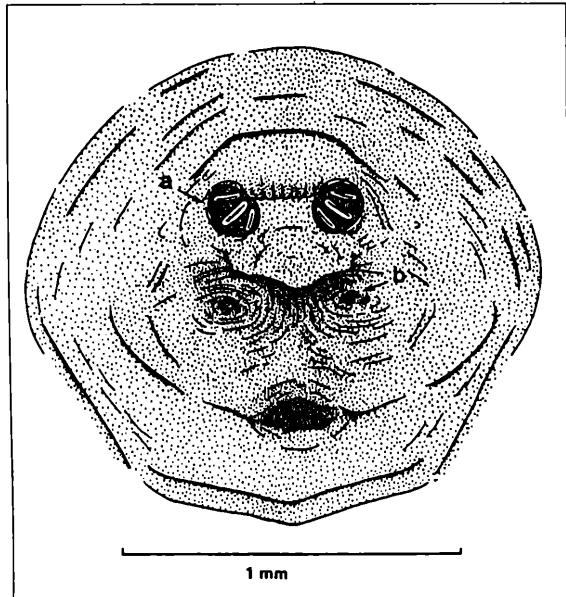


Figura 18.

Vista posterior de una pupa de *R. tomatis* mostrando los rudimentos de espiráculos posteriores (a) y tubérculos del área media de la región posterior (b).

orales y en *R. conversa* 3 a 5 dientes preorales (Frías *et al.*, en preparación).

Las pupas de *R. tomatitis* se pueden separar de aquellas de *R. nova* y *R. conversa* atendiendo a su coloración (Frías 1986 y Frías y Martínez 1991). Además, las pupas de *R. tomatitis* en la parte posterior del cuerpo presentan dos tubérculos en el área media, estructuras que no se visualizan en el microscopio estereoscópico en las pupas de *R. nova* o bien están presentes en un escaso número de ellas (7%). En las pupas de *R. conversa* estos tubérculos están bastante más reducidos que en *R. tomatitis*. Además, las pupas pueden ser diferenciadas atendiendo a la forma de los espiráculos anteriores y posteriores, estructuras que permanecen allí y corresponden a la última muda larvaria. Estos caracteres prácticamente no han sido utilizados y son de fácil visualización al microscopio estereoscópico, incluso su análisis es más fácil que en las larvas.

A través de este estudio se ha profundizado en un mayor conocimiento de los estados inmaduros de *R. tomatitis*, sin embargo es necesario hacerlo extensivo, en trabajos futuros, a las otras especies de distribución chilena y también a las otras especies neotropicales.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a un referee anónimo quien hizo valiosas sugerencias que ayudaron a mejorar el manuscrito. De manera similar agradecemos al Dr. Vicente Hernandez-Ortiz.

#### BIBLIOGRAFIA

- CARROLL LYNN E. and R. A. WHARTON. 1989.- Morphology of the immature stages of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Annals of Entomological Society of America*. 82 : 201-214
- FOOTE R. H. 1980.- Fruit fly genera South of the United States. U.S. Department of Agriculture. Techn. Bull. 1600, 79 pp.
- FOOTE R. H. 1981.- The genus *Rhagoletis* Loew South of the United States U.S. Department of Agriculture. Technical Bulletin 1607, 75pp.
- FRIAS L. D. 1981. Biología evolutiva de dípteros Otitidae y Tephritidae (Diptera : Acalyptratae). Tesis de Doctorado, Universidad de Chile, Santiago, Chile, 243 pp.
- FRIAS L.D. 1986a., Algunas consideraciones sobre la taxonomía de *Rhagoletis nova* (Schiner) (Diptera:Tephritidae). *Rev. Chilena Ent.* 13: 59-73
- FRIAS L.D. 1986b.- Biología poblacional de *Rhagoletis nova* (Schiner) (Diptera: Tephritidae). *Rev. Chilena Ent.* 13:75-84
- FRIAS L.D., I NORTHLAND y J. CAPETILLO. 1991a.- Aspectos de la biología de *R. tomatitis* Foote (Diptera : Tephritidae) en poblaciones de la II región de Chile. *Acta Entomológica Chilena* 16: 193-200
- FRIAS L.D. y H. MARTINEZ. 1991b.- Estudio taxonómico en *Rhagoletis tomatitis* Foote (Diptera: Tephritidae). *Acta Entomológica Chilena* 16: 247-254
- FRIAS. 1993.- Evolutionary Biology of Certain Chilean *Rhagoletis* Species. From: *Fruit Flies: Biology and Management*, edited by M. Aluja and P. Liedo, Springer-Verlag, New York, Inc.
- FRIAS L.D., C. GONZALEZ, A. HENRY y A. ALVIÑA.- Distribución geográfica y respuesta visual de *Rhagoletis tomatitis* Foote (Diptera: Tephritidae) a trampas esféricas y rectángulos de diferentes colores. *Acta Entomológica Chilena*. 18
- HERNANDEZ-ORTIZ V. 1992.- El género *Anastrepha* Schiner en México (Diptera: Tephritidae): Taxonomía, distribución y sus plantas huéspedes. Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México, Publ. N°33, 162 pp.
- PERSSON P.I. 1963.- Studies on the biology and larval morphology of some Trypetidae (Diptera). *Opuscula Entomologica* 28: 33-69
- STECK G. J. and R. A. WHARTON. 1988.- Description of immature stages of *Anastrepha interrupta*, *A. lima* and *A. grandis* (Diptera:Tephritidae) *Ann. Entomol. Soc. Am.* 81:994-1003.
- STECK G. J., L.E. CARROLL, H. CELEDONIO-HURTADO and J. GUILLEN-AGUILAR 1990. - Methods for identification of *Anastrepha* larvae (Diptera: Tephritidae), and key to 13 species. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 92 (2): 333-346
- WHITE I.M. 1988.- Tephritid Flies (Diptera: Tephritidae). Editors: P.C. Barnard and R. R. Askew. Handbooks for the identification of British insects, 10 (5a). Entomological Society of London 134 pp.
- WHITE I.M. and M. ELSON-HARRIS 1992.- Fruit flies of economic significance. Their identification and biometrics. C.A.B., UK; Aciar. Camberra, 601 pp.