

## Nota científica

## Cambios morfológicos durante la ontogenia del estado pupal de *Melanoloma viatrix* (Diptera: Richardiidae)

Morphological changes throughout the ontogeny of the pupal stage of *Melanomoma viatrix* (Diptera: Richardiidae)

ALFONSO VILLALOBOS MORENO<sup>1</sup>, JUAN CARLOS AGUDELO M.<sup>2</sup>, ANDRÉS FERNANDO BARAJAS S.<sup>3</sup>, SANDRA HERRERA Q.<sup>4</sup> y JUAN CARLOS CÉSPEDES<sup>5</sup>

**Resumen:** El desarrollo pupal de la mayoría de los dípteros ocurre dentro de una pupa coarctata que presenta un corión relativamente oscuro y grueso, el cual no permite observar los sucesos que ocurren en su interior por lo que es indispensable el proceso de disección. El presente estudio se basa en observaciones de los cambios morfológicos ocurridos durante el estado de pupa de la mosca de la piña *Melanoloma viatrix*. Para ello se tomaron piñas infestadas con *M. viatrix* en la vereda Palonegro del Municipio de Lebrija (Santander, Colombia), de las cuales se extrajeron larvas para ser colocadas en 20 cajas de Petri con arena esterilizada; en cada caja se depositaron 14 larvas a temperatura ambiente (25°C, 80% HR). Durante 17 días, se tomaron dos pupas diarias para su disección y descripción de los sucesos morfológicos más evidentes. Entre el primer y tercer día se observó una lisis generalizada de tejidos y se hizo visible el proceso de tagmatización. Al cuarto día se observó la formación de las patas, al quinto día eran visibles los primordios alares y la estructura que se convertirá en los ojos, el séptimo día era posible diferenciar los componentes básicos del aparato bucal. Desde el octavo hasta el décimo día no se evidenciaron mayores cambios. El día decimoprimeros se observó la aparición de los primordios antenales y primordios de los halterios. La coloración corporal típica del adulto se registró el decimotercer día.

**Palabras clave:** Desarrollo. Mosca de la piña. Plaga.

**Abstract:** The pupal stage of some Diptera occurs within a coarctate pupa formed by a thick and dark chorion which does not allow observing the events that occur in the interior and the dissection process is indispensable. The present study is based on observations of morphological changes that pineapple flies *Melanoloma viatrix* undergoes throughout its pupal stage. Pineapples infested with *M. viatrix* were collected in the locality of Palonegro (Lebrija, Santander, Colombia) and were dissected to extract larvae and to place them within 20 Petri dishes with sterilized sand, adding 14 larvae in each dish at ambient temperature (25°C, 80% HR). Through 17 days, two pupae were taken for dissection and description of morphological changes. Between the first and the third day, lysis of tissues and tagmatization were observed. On the fourth day, the legs in formation were observed and on the fifth day the primordial wings and the structures which will become the eyes, were visible. On the seventh day, the mouth parts were evident. From the eighth to the tenth day no major morphological changes were observed. On the eleventh day, antennae and halteres appeared. Finally, body coloration of the adult was registered on the thirteenth day.

**Key words:** Development. Pineapple flies. Pest.

### Introducción

En Colombia se cultivan más de 8.000 ha de piña *Ananas comosus* (L.) Merrill en los departamentos de Antioquia, Bolívar, Boyacá, Caquetá, Cundinamarca, Chocó, Huila, Meta, Nariño, Norte de Santander, Quindío, Risaralda, Santander, Tolima, Valle del Cauca, Arauca, Casanare, Putumayo y Vaupés. La mayor parte de la producción se destina al abastecimiento del mercado nacional y algunas exportaciones a Venezuela. El departamento de Santander es el mayor productor de piña en el país, con un área sembrada el año 2006 superior a las 5.966 ha, lo que representa 63,4% de la superficie total cultivada en Colombia (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural 2006).

Las plagas constituyen uno de los limitantes más importantes de la producción de piña entre las cuales encontramos la cochinilla harinosa *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae), la polilla perforadora del fruto *Thecla basilides* (Geyer, 1837) (Lepidoptera: Lycaenidae), el picudo rayado *Metamasius hebetatus* (Gyllenhal, 1838)

(Coleoptera: Curculionidae) y la mosca de la piña *Melanoloma viatrix* Hendel, 1911 (Diptera: Richardiidae); esta última especie se registró por primera vez para Colombia, en San Juan de Río Seco (Cundinamarca) en el año de 1991 (Martínez *et al.* 1994).

Las larvas de *M. viatrix* son ápodas, de aspecto vermiforme y de color blanco-amarillento, con un par de espiráculos posteriores muy pronunciados y un cuerpo dividido en 11 segmentos, cada uno de ellos con pequeñas espículas que ayudan a la locomoción. La pupa es tipo coarctata, de color marrón, con 11 segmentos, una longitud aproximada de 5 mm y un diámetro de 1,8 mm. Los espiráculos posteriores son notorios y se aprecia de manera fácil el área cefálica (Arévalo y Osorio 1995). La información sobre la biología de estos dípteros es escasa y fragmentada, incluso a nivel de familia, evidencia de esto son las breves referencias encontradas en Borrór *et al.* (1989) y González y Carrejo (1992), quienes sólo se limitan a enunciar géneros o a describirlas como un grupo escaso y fundamentalmente de distribución neotropical.

<sup>1</sup> Autor para correspondencia: Biólogo. Estudiante de Doctorado Universidad Complutense de Madrid. Profesor Asociado Escuela de Biología y Escuela de Educación, Universidad Industrial de Santander. Director Grupo GENA. Calle 91 No. 22-104 Apto 403. [alfvillalmo@gmail.com](mailto:alfvillalmo@gmail.com).

<sup>2,3,4,5</sup>Estudiantes Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander. Coinvestigadores Grupo GENA. <sup>2</sup>[jcagudelo@tux.uis.edu.co](mailto:jcagudelo@tux.uis.edu.co), <sup>3</sup>[andresfdobarajas@gmail.com](mailto:andresfdobarajas@gmail.com), <sup>4</sup>[sandragis@gmail.com](mailto:sandragis@gmail.com), <sup>5</sup>[juclauk@yahoo.es](mailto:juclauk@yahoo.es).

En Colombia, los estudios sobre *M. viatrix* abordan de manera general el ciclo de vida, reduciéndolo a la descripción de la morfología de cada uno de sus estados como en Arévalo y Osorio (1995); sin embargo, estudios acerca de su biología del desarrollo no se encontraron. Dada esta circunstancia y con el objetivo de incrementar el conocimiento básico de la especie, se describen los cambios morfológicos que tienen lugar durante la ontogenia del estado pupal, haciendo énfasis en la identificación de las principales estructuras y el establecimiento de un orden cronológico de formación.

### Materiales y Métodos

Se recolectaron frutos de piña con evidencia de daño causado por *M. viatrix*, en una zona de cultivo comercial en la vereda Palonegro del municipio de Lebrija, Santander (7°06'08.84"N; 73°11'12.16"W). En el laboratorio las piñas fueron ubicadas en baldes plásticos cubiertos con tela de malla fina (*tull*) para evitar el establecimiento de otros insectos; se hicieron revisiones diarias con el fin de determinar el momento de emergencia de las larvas, y proceder a la disección de las frutas.

Para favorecer la formación de pupas se prepararon 20 cajas de Petri con arena previamente esterilizada y en cada caja se colocaron 14 larvas, estos montajes fueron mantenidos a temperatura ambiente (25°C, 80% HR) y sin iluminación; se hicieron revisiones periódicas para establecer el día de formación de la pupa (día cero) y disecar dos pupas diarias. La disección consistió en retirar los segmentos del pupario, para posteriormente aplicar azul de metileno al 1% como medio de contraste, con el fin de facilitar la observación de las diferentes estructuras.

Para estudiar los cambios morfológicos se tuvieron en cuenta tres parámetros: tagmatización, desarrollo de apéndices torácicos (patas, alas y halterios) y desarrollo de estructuras cefálicas (ojos, antenas y aparato bucal). Los cambios fueron evaluados cualitativamente, considerando como fecha de inicio la observación o reconocimiento de las estructuras, y como fecha de finalización su similitud con las presentes en los adultos.

### Resultados

Entre el 78 y el 93% de las larvas por caja pasaron al estado pupal; las pupas son marrones, con una longitud aproximada de 5mm y presentan una región cefálica prominente (Fig. 1A). En el primer y segundo día de desarrollo sólo se hizo notorio el vaso aórtico (Fig. 1A) y la mayoría de los tejidos se encontraban en histólisis (Fig. 1B); en el segundo y tercer día se evidencia la formación de los tagmas: cabeza, tórax y abdomen (Fig. 1C y 1D). Al cuarto día, en el tagma torácico se observó la formación de los segmentos de las patas, poco diferenciados y ubicados en la parte ventrolateral (Fig. 1E); se hizo evidente el desarrollo de las placas ventrales correspondientes al prosterno y metasterno; asimismo, en el tagma cefálico se hace visible la sutura clipeolabral. Al quinto día, se observaron los rudimentos o sacos alares que se extienden lateralmente; en el tagma cefálico se hace visible el área que va formar los ojos (Fig. 1F). En la disección realizada el séptimo día, se observa el inicio de la formación de varios componentes del aparato bucal (maxilas, mandíbulas, palpos y labio) (Fig. 1G). Entre el octavo y el décimo día, no fueron evidentes cambios morfológicos en los tagmas torácicos y abdominales, solamente el crecimiento de patas, alas y ojos. Los ganchos bucales se mantienen intactos durante todo el desarrollo pupal (Fig. 1D y 1J).

En el decimoprimer día, se encontraron nuevos cambios morfológicos en el tagma cefálico con el inicio de la formación de las antenas (Fig. 1H) y en el tagma torácico la aparición de los halterios (Fig. 1I). En el decimotercer día, la deposición de hidroquinonas y polifenoles se evidenció por el oscurecimiento característico del tegumento del ejemplar (Fig. 1J). En el décimo cuarto día, se observa un avanzado desarrollo y diferenciación de los componentes de las antenas (escapo, pedicelo y flagelo), de las patas (coxa, trocánter, fémur, tibia, tarsos y uñas) y del aparato bucal (mandíbulas, maxilas, labio, labro y palpos) (Fig. 1K).

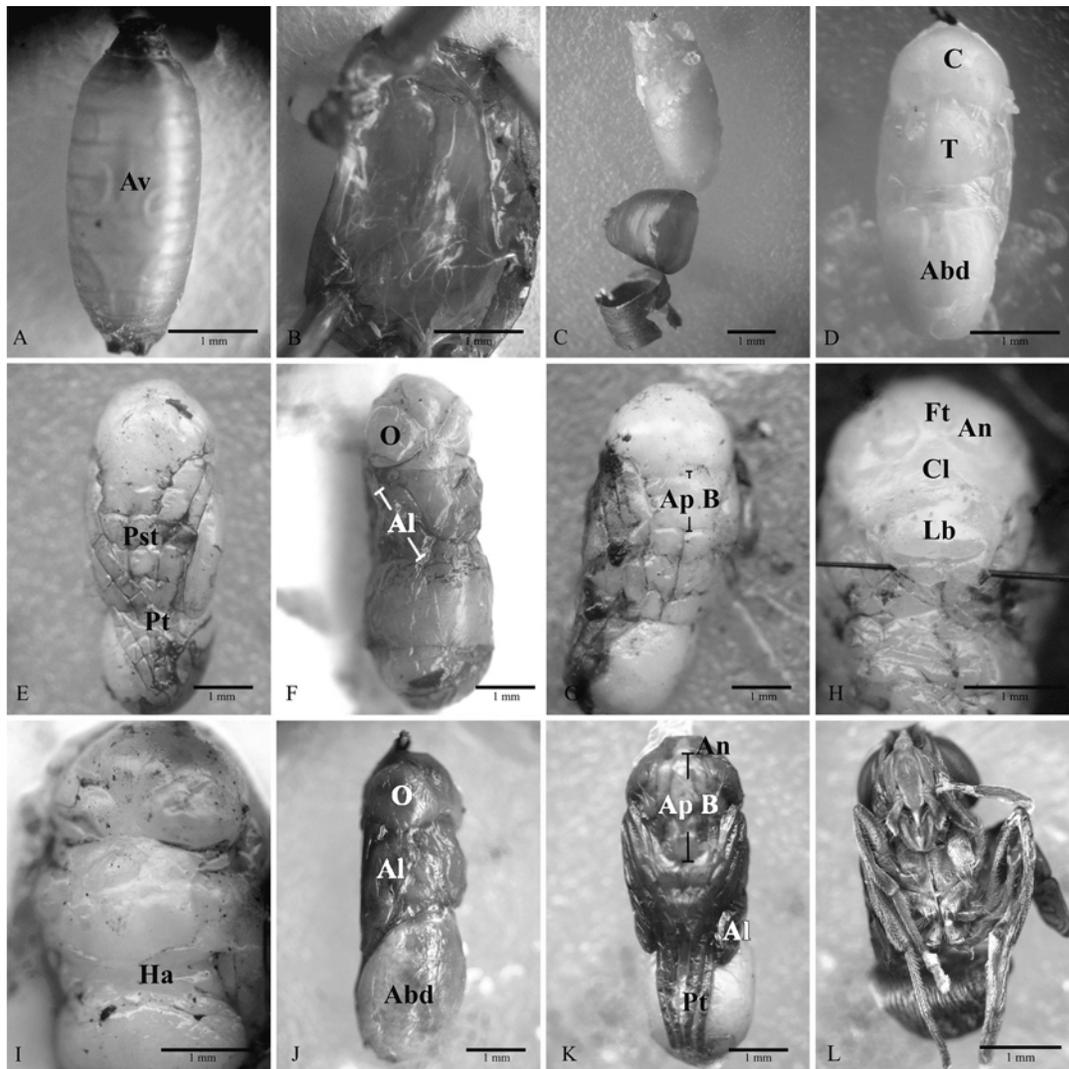
Para el decimoquinto día, en los ojos compuestos, aunque la estructura se está formando desde el sexto día, se hace notoria la forma hexagonal característica de las facetas de los omatidios. Entre el decimosexto y decimoséptimo día, se observa un notorio avance del desarrollo del tagma abdominal, y aparecen abundantes pubescencias de color blanco que tapi-zan al individuo (Fig. 1L).

### Discusión

En general, la biología de la familia Richardiidae es poco conocida, lo que hace difícil la comparación de los resultados. Sin embargo, los sucesos observados pueden ser comparables con otras especies del orden Diptera como *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Cohen 1993) y *Sarcophaga peregrina* Robineau-Desvoidy 1830 (Price *et al.* 1999). En *D. melanogaster* la metamorfosis se caracteriza por diversos fenómenos incluyendo proliferación celular, reestructuración de tejidos, migración y muerte programada de células; por lo menos uno de estos procesos ocurre en respuesta a la ecdisona (Riddiford 1993; Rusconi *et al.* 2000). De acuerdo con la metodología aplicada, se establece que en el estado pupal de *M. viatrix*, ocurren tres de los cuatro fenómenos descritos por Riddiford (1993): muerte celular programada (la histólisis del primer día), reestructuración de tejidos y proliferación celular (desarrollo y modificación de órganos de los sentidos y apéndices bucales y torácicos).

La proliferación celular observada en los diferentes apéndices en *M. viatrix* se ajusta a lo descrito por Cohen (1993) quien afirma que los discos imaginales conllevan a la reestructuración física y la diferenciación de estructuras como alas, patas, ojos y antenas en todos los insectos holometábolos; de esta forma, el tiempo en el cual se hace evidente la acción de los discos imaginales difiere de una estructura a otra. Se puede afirmar que para *M. viatrix* la primera estructura en diferenciarse, y por ende el primer disco imaginal en iniciar la proliferación celular, es el de las patas, seguido por los discos de ojos, alas, aparato bucal (mandíbulas, maxilas, labio y palpos) y finalmente antenas y halterios.

De acuerdo con Cohen (1993) la proliferación celular que da origen al aparato bucal proviene de un sólo disco imaginal. Esta afirmación contrasta con las observaciones realizadas debido a que en el proceso de formación del aparato bucal se pueden apreciar dos sucesos que ocurren de forma asincrónica. El primero consiste la formación de la sutura frontoclipear y clipeolabral en el cuarto día, donde se aprecia el inicio del desarrollo del aparato bucal, y el segundo, que corresponde a la aparición de estructuras como maxilas, mandíbulas, palpos maxilares y labio que inician su formación tres días después, lo cual se ajusta a la propuesta de Price *et al.* (1999) quien sugiere que en la formación del aparato bucal interviene más de un disco imaginal.



**Figura 1.** Principales eventos observados durante el seguimiento del estado pupal en *M viatrix*. **Abd**: abdomen, **Al**: ala, **An**: antena, **ApB**: aparato bucal, **Av**: aorta, **C**: cabeza, **Cl**: clipeo, **F**: frente; **Ha**: halterios, **Lb**: labro, **O**: ojo compuesto, **Pst**: prosterno, **Pt**: patas, **T**: tórax.

### Agradecimientos

Por su colaboración permanente, a nuestros amigos Jorge Villamizar Cobos del Laboratorio de Entomología, Dagoberto Arrieta Prieto del Laboratorio de Histotecnia, Wilson Medina y Arnaldo Baéz. Por su apoyo incondicional e irrestricto, al señor rector Jaime Alberto Camacho Pico, a los vicerrectores Sergio Isnardo Muñoz Villarreal, Oscar Gualdrón González y Álvaro Gómez Torrado, y a Yolima Beltrán directora de la Escuela de Educación.

### Literatura citada

- ARÉVALO, P. E.; OSORIO, O. M. 1995. Consideraciones generales sobre *Melanoloma viatrix* Hendel, una nueva plaga de la piña. *Revista Colombiana de Entomología* 21 (1): 1-8.
- BORROR, D. J.; TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. 1989. An introduction to the study of insects. Saunders College Publishing. Philadelphia, USA. 875 p.
- COHEN, S. M. 1993. Imaginal disc development, pp. 787-841. En: Bate, M.; Martinez-Arias, A. (eds.). *The development of Drosophila melanogaster*, vols. 1, 2. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, USA. 1558 p.
- GONZÁLEZ, R.; CARREJO, N. S. 1992. Introducción al estudio de los Diptera. Centro Editorial Universidad de Valle. Cali, Colombia. 79 p.
- MARTÍNEZ, J.; ARÉVALO, E.; MORENO, P.; GARCIA, A. 1994. Manejo y control del gusano de la piña. Subgerencia de prevención y control división de sanidad vegetal, Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). 2 p.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. 2006. Análisis-Estadísticas, Áreas y Producción agrícola: Piña en el Departamento de Santander. <http://www.agronet.gov.co/>. Fecha última revisión: 2 Diciembre 2005. Fecha último acceso: [20 agosto 2007].
- PRICE, W. S.; KOBAYACHI, A.; IDE, H.; NATORI, S.; ARATA Y. 1999. Visualizing the postembryonic development of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly) by MNR microscopy. *Physiological Entomology* 24: 386-390.
- RIDDIFORD, L. M. 1993. Hormones and *Drosophila* Development, pp. 899-939. En: Bate, M.; Martinez-Arias, A. (eds.). *The development of Drosophila melanogaster*, vols. 1, 2. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, USA. 1558 p.
- RUSCONI, J. C.; HAYS, R.; CAGAN, R. L. 2000. Programmed cell death and patterning in *Drosophila*. *Cell Death and Differentiation* (7): 1063-1070.