

HISTOLOGIA Y MORFOLOGIA DEL SISTEMA REPRODUCTOR EN HEMBRAS
DE *RHAGOLETIS CONVERSA* (BRETHES) Y DE *RHAGOLETIS NOVA*
(SCHINER) (DIPTERA, TEPHRITIDAE)

Verónica Flores Rojas¹
Daniel Frías Lasserre¹
Humberto Martínez Arteaga¹

ABSTRACT

The histology and morphology of the reproductive system of females of Rhagoletis conversa (Brèthes) and Rhagoletis nova (Schiner) were studied. These species parasitize wild and cultivated Solanaceae respectively.

Adult females of both species were collected in natural populations in the Central Zone of Chile. In order to study the development of ovaries the females collected were sacrificed at different ages. Once obtained, ovaries were prepared for optical microscopy by using histological and squash standard techniques.

Results show that within each one of ovarioles it can be observed follicles arranged in line and showing different stages of maturation. It can be described about 6 follicle stages in the ovarioles studied.

Ovaries of both species show a very similar structure. However, females of Rhagoletis nova show an ovipositor wider than R. conversa. The number of ovarioles of R. nova is also higher than in R. conversa.

INTRODUCCION

De todas las familias de dípteros, las especies de Tephritidae, denominadas comúnmente "mosca de las frutas" son las que causan mayor daño en plantas cultivadas en diferentes regiones del mundo (Foote, 1967; Foote & Blanc, 1963; Christenson & Foote, 1960; Boller & Prokopy, 1976). Las hembras grávidas, según la especie, pueden depositar sus huevos en los frutos, en las flores o bien en los tallos de las plantas. Las larvas se alimentan de los tejidos vegetales causando daños de consideración. *Ceratitis*, *Anastrepha*, *Rhagoletis* y *Dacus* son los principales géneros de Tephritidae cuyas especies infectan frutas. Los daños provocados por las larvas perjudican la comercialización e industrialización de una gran variedad de frutas (Christenson & Foote, 1960; Bateman, 1972; Malvasi *et alii*, 1980; Malvasi & Morgante, 1980; Malvasi & Morgante, 1981).

El género *Rhagoletis* en Chile estaría representado por 4 especies: *R. conversa*, *R. nova*, *R. tomatis* y *R. penela*, que viven asociadas a plantas silvestres y cultivadas de la familia Solanaceae (Foote, 1981).

En las especies chilenas de Tephritidae no existe información respecto a la histología del aparato reproductor. La información disponible está limitada a aspectos

1 Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Casilla 70061, Correo 7, Santiago, Chile.

de su biología evolutiva (Bateman, 1972; Foote, 1981; Frías, 1981). Por este motivo es necesario emprender trabajos de esta naturaleza, preferentemente en especies que viven asociadas a plantas cultivadas. Además es preciso estudiar también aquellas especies que constituyen plagas potenciales por vivir en hospederos silvestres, estrechamente emparentados a plantas de importancia agrícola (Carpinelli, 1958; Bateman, 1972; Foote, 1981).

Los objetivos específicos de este trabajo son los siguientes:

- a) Describir la morfología externa del sistema reproductor de hembras en *R. nova* y *R. conversa*.
- b) Analizar y describir histológicamente los órganos reproductores de hembras en *R. nova* y *R. conversa*, con especial atención a sus ovarios.

Estos estudios son importantes a fin de aportar con nuevos elementos para la identificación de estas especies, ya que ellas son morfológicamente muy similares entre si. Además contribuirán en la elaboración de programas de control integrado de estas plagas agrícolas.

MATERIAL Y METODO

Procedencia del Material Biológico

Se utilizaron hembras de dos razas huéspedes de *R. conversa* que viven asociadas a *S. nigrum* y *S. tomatillo*. Estos dípteros se recolectaron en las Vizcachas y las Vertientes, a 30 km y 36 km S.E. de Santiago, respectivamente. También se emplearon hembras de *R. nova*, colectadas en su planta hospedera, *S. muricatum* (pepino dulce), en la localidad de Hijuelas (Pachacama) distante 100 km N.O. de Santiago. De ambas especies se colectaron ejemplares adultos y preadultos, y a partir de estos últimos se obtuvieron los adultos en el laboratorio.

Disecciones (Examen Mediato)

Se disectaron hembras a los 5, 10 y 15 días, después del nacimiento con el objeto de caracterizar el ovario a diferentes edades. Las disecciones de adultos obtenidos en la naturaleza y laboratorio, se realizaron después de la esterización de las hembras en buffer fosfato 0.2M ph, 7.2. Los órganos se transfirieron en forma inmediata al fijador Bouin alcohólico manteniéndose durante 6 horas el ovario aislado y 24 horas el abdomen completo.

Coloración

Hematoxilina de Harris-Eosina: método de rutina para reconocimiento de estructuras (López *et alii*, 1982).

Aplastamientos (Examen Inmediato)

Para estudiar la morfología externa del sistema reproductor, algunos órganos disectados se tiñeron con Azul de Toluidina al 1%, por algunos segundos, se lavaron en buffer fosfato. Posteriormente se visualizaron en un microscopio estereoscópico mediante un suave aplastamiento.

Mediciones

En todos los promedios obtenidos, en relación a las mediciones de conductos, órganos y células, se utilizó una muestra de diez individuos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los análisis histológicos y morfológicos de los órganos reproductores en *Rhagoletis conversa* y *Rhagoletis nova* fueron muy similares, por ello a continuación se presentan los resultados obtenidos en conjunto destacando las diferencias encontradas.

El sistema reproductor en ambas especies está constituido por: dos ovarios, dos conductos laterales que terminan en un conducto común que desemboca en la vagina, dos espermatecas, un par de glándulas colaterales, un receptáculo seminal y un aparato ovipositor (Fig. 1).

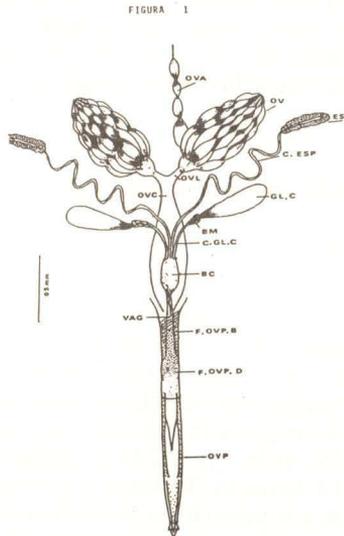


Fig. 1: Morfología del sistema reproductor en hembras de *R. conversa* y *R. nova* (Vista Ventral).

ABREVIACIONES

BC.	= Bursa Copulatrix	GL.C	= Glándula Colateral
BM.	= Bulbo Muscular	OV	= Ovario
C.ESP	= Conducto Espermateca	OVA	= Ovariolo
C.GL.C	= Conducto Glándula Colateral	OVC	= Oviducto Común
ESP	= Espermateca	OVL	= Oviducto Lateral
F.OVP.B	= Funda Ovipositor Basal	OVP	= Ovipositor
F.OVP.D	= Funda Ovipositor Distal	VAG	= Vagina

HISTOLOGIA Y MORFOLOGIA DE ORGANOS REPRODUCTORES

A. — Ovarios

Son dos cuerpos ovalados situados a nivel del 4º o 5º segmento, rodeados por una delgada membrana epitelial. Los ovarios están constituídos por unidades individuales y funcionales llamadas ovariolos. Cada ovariolo está rodeado por un delgado tejido conectivo de la membrana peritoneal que distalmente forma el filamento terminal, y en la región basal continúa con el epitelio del oviducto lateral y de la cubierta ováfrica (Figs. 2, 3). En Tephritidae se ha descrito que el promedio de ovariolos por ovario es característico para cada especie (Davey, 1965). De manera similar en este estudio se encontraron diferencias interespecíficas significativas en el promedio de ovariolos por ovario (Tabla 1).

Dentro del ovariolo de tipo politrópico (Davey, 1965) encontramos una serie lineal de folículos de número variable en sucesivos estados de desarrollo. Un folículo consiste en un racimo de 16 células o cistocitos (1 célula huevo u oocito y 15 células nutritivas) rodeadas por una capa celular cúbica denominada epitelio folicular. Se distinguen 4 zonas en el interior del ovariolo, filamento terminal anterior, segmento germinal, segmento vitelar y pedículo posterior (figs. 2, 3). En ambas especies estudiadas los ovarios miden aproximadamente 400 μ de longitud por 180 μ de ancho en hembras de 3 días, y hasta 1.200 μ de longitud por 800 μ de ancho en hembras grávidas ocupando casi por completo la cavidad abdominal.

A. 1. — *Citología y Estados Foliculares del ovariolo*A. 1. a. — *Zona Germinal:*

En la base de esta zona existe un grupo de células llamadas oogonias, su núcleo mide aproximadamente $5 \mu \pm 0.44$ de diámetro, mediante mitosis dan origen a cistoblastos. Un cistoblasto, según la terminología de King *et alii* (1975), es la célula madre de los componentes del folículo. Cada cistoblasto sufriría cuatro divisiones mitóticas dando origen a 16 cistocitos que corresponden a células de menor tamaño cuyo núcleo mide $4 \mu \pm 0.43$ de diámetro y un único nucléolo. Los 16 cistocitos empiezan a aumentar de tamaño y polarizarse en la zona final del segmento germinal, gracias a la penetración de células foliculares provenientes del revestimiento del ovariolo, y del tejido prefolicular que existe en la zona germinal (fig. 2,3).

A. 1. b. — *Zona vitelar:*

En este segmento del ovariolo, el oocito y las 15 células nutritivas que lo acompañan experimentan un agudo proceso de crecimiento y desarrollo, que permite finalmente la obtención del huevo maduro.

En la zona vitelar pueden reconocerse alrededor de 6 estados foliculares que pueden agruparse en previtelogénicos y vitelogénicos. Sin embargo, debe entenderse que este es un proceso dinámico de manera que no siempre es posible visualizar los seis estados foliculares en los ovariolos de una hembra grávida.

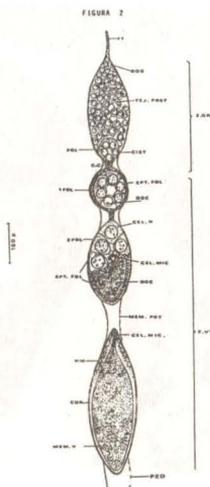


Fig. 2: Representación de algunos estados foliculares a lo largo del ovario en una hembra gravida (Corte longitudinal).

ABREVIACIONES

C.C	=	Cordón Celular	H.M	=	Huevo Maduro
CEL.MIC	=	Células de la Micropila	MEM.V	=	Membrana Vitelina
CEL.N	=	Célula Nutritiva	MEM.PRT	=	Membrana Peritoneal
CIST	=	Cistocito	OOC	=	Oocito
COR	=	Corión	OOG	=	Oogonia
EPT.FOL	=	Epitelio Folicular	PED	=	Pedículo
FOL	=	Folículos	TEJ.PREF	=	Tejido Prefolicular
FT	=	Filamento Terminal	Z.GR	=	Zona Germinal
			Z.VT	=	Zona Vitelar

Folículos previtelogénicos: son de forma esférica y sus medidas aproximadamente van de 30μ a 120μ de diámetro. Las células que lo constituyen crecen rápidamente alcanzando alrededor de 50μ de diámetro celular y 36μ de diámetro nuclear.

1º y 2º estados foliculares: Después que el folículo sale de la zona germinal todas sus células comienzan a crecer al mismo ritmo. A partir del 1er estado, empieza a diferenciarse el núcleo del oocito. En el 2º estado su núcleo aparece como una vesícula germinal que no se tiñe con hematoxilina; su diámetro aproximado es de 7μ y solo contiene 1 nucléolo, las células nutritivas que lo acompañan poseen un citoplasma más granular y más basófilo que el oocito y un núcleo de cromatina dispersa (Fig. 4).

Folículos vitelogénicos: Son elongados y sus medidas varían entre: 120μ de longitud por 90μ de diámetro hasta 400μ de longitud por 180μ de diámetro. El tamaño de las células nutritivas puede llegar a 80μ y su núcleo 60μ de diámetro, especialmente las ubicadas en la zona posterior del folículo.

3º estado folicular: El oocito crece rápidamente originando una elongación del folículo, su citoplasma es más granular y se tiñe mucho más con eosina debido al depósito de gránulos de vitelo. Las células que acompañan al oocito también au-



Figs. 3-6: Cortes histológicos de ovario y estados foliculares del ovario. Fig. 3: Corte histológico longitudinal de ovario, zona germinal y vitelar con folículos previtelogénicos (*R. nova*) 10x. Fig. 4: Diferenciación del oocito y células nutritivas, corte transversal del 29 estado folicular (*R. conversa*, *S. tomatillo*) 40x. Fig. 5: Vitelogénesis temprana, corte longitudinal del 39 estado folicular (*R. conversa*, *S. nigrum*). 10x. Fig. 6: Vitelogénesis avanzada, corte longitudinal del 49 estado folicular (*R. conversa*, *S. tomatillo*) 10x.

ABREVIACIONES

C.M	= Células de la micropila	F	= Folículos
C.N	= Células nutritivas	FT	= Filamento terminal
C.NA	= Células nutritivas anteriores	H.M	= Huevos Maduros
C.NP	= Células nutritivas posteriores	M.N	= Masas Nucleolares
C.OV	= Cubierta Ovárica	OOC	= Oocito
E.F	= Epitelio folicular	S.G	= Segmento Germinal
E.FP	= Epitelio folicular plano	VI	= Vitelo
E'FC	= Epitelio folicular cilíndrico	V.G	= Vesícula Germinal
		S.V	= Segmento vitelar

mentan de tamaño siguiendo un determinado patrón, las células posteriores son de mayor volumen que las anteriores; en sus núcleos la cromatina se dispersa aún más y aparecen masas nucleolares de forma esférica y número variable. A medida que el folículo crece las células que lo revisten se dividen por mitosis (Fig. 5).

4º estado folicular: Cambia en forma notoria el epitelio folicular, en su parte anterior empieza a adelgazarse llegando a formar un epitelio plano; en la parte posterior se vuelve cilíndrico. El cambio del epitelio en la parte anterior del folículo permite la migración de un grupo de células del epitelio cúbico hacia el centro del folículo entre el oocito y células nutritivas. Se denominan células de la micropila ya que participan en la formación de esta estructura en el huevo (Figs. 6 y 7). El folículo sigue elongándose y aumenta la deposición de gránulos de vitelo en el citoplasma del oocito.

5º estado folicular: Después que las células de la micropila llegan a su lugar, el epitelio folicular inicia un crecimiento hacia adentro rodeando la célula huevo.

Dean (1935) en sus estudios de *Rhagoletis pomonella* atribuye a esta etapa una gran importancia, en ella se realizaría un intercambio de material nutritivo en una forma muy particular, ya que las células carecen de conexiones intercelulares a diferencia de lo descrito en *Drosophila* (Miller, 1950; King, 1975) y *Dacus tryoni* (Anderson & Lyford, 1965) por ejemplo: donde el traspaso ocurre en forma continua y no está limitado a un estado folicular gracias a la presencia de estas conexiones. En el presente estudio los análisis se realizaron sólo en microscopio óptico de manera que no es posible afirmar o negar la existencia de estos canales.

En esta etapa hay un aumento considerable del tamaño del oocito a expensas de la degeneración de las células nutritivas, las cuales experimentan retracción, vacuolización del citoplasma y picnosis nuclear (Fig. 8).

6º estado folicular: Termina la formación de la membrana vitelina, area asumida presumiblemente por el oocito e iniciada en estados anteriores (Miller, 1950). Aparece primero como un halo eosinófilo alrededor del oocito y luego aumenta su espesor.

El corión es secretado por las células foliculares dejando una delgada membrana. Con la creación de estas estructuras concluye la formación del huevo (Fig. 9).

B. — Oviductos laterales:

Organos tubulares, delgados, en su región distal comunican con el oviducto común y en la basal con el extremo distal de los ovarios. Su pared la constituye una capa epitelial que se continúa con la cubierta del ovario y los ovariolos (Fig. 1).

C. — Oviducto común:

Es un organo muscular, en su segmento anterior comunica a los oviductos laterales de cada ovario y en el posterior con la vagina (Fig. 1).

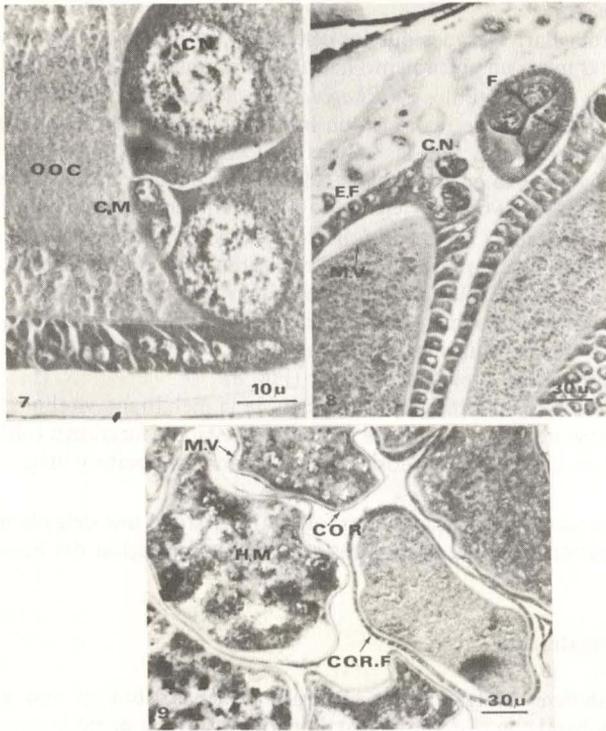
D. — Vagina:

Estructura tubular que en su extremo distal se modifica para formar la bursa. Su extremo proximal se continúa en el interior del ovipositor. Al corte se aprecia una capa epitelial delineada por una delgada íntima (capa no celular, quitinosa que apa-

rece como una delineación en el lumen) y por fuera una capa muscular irregular (Fig. 10).

E. — Bursa copulatriz:

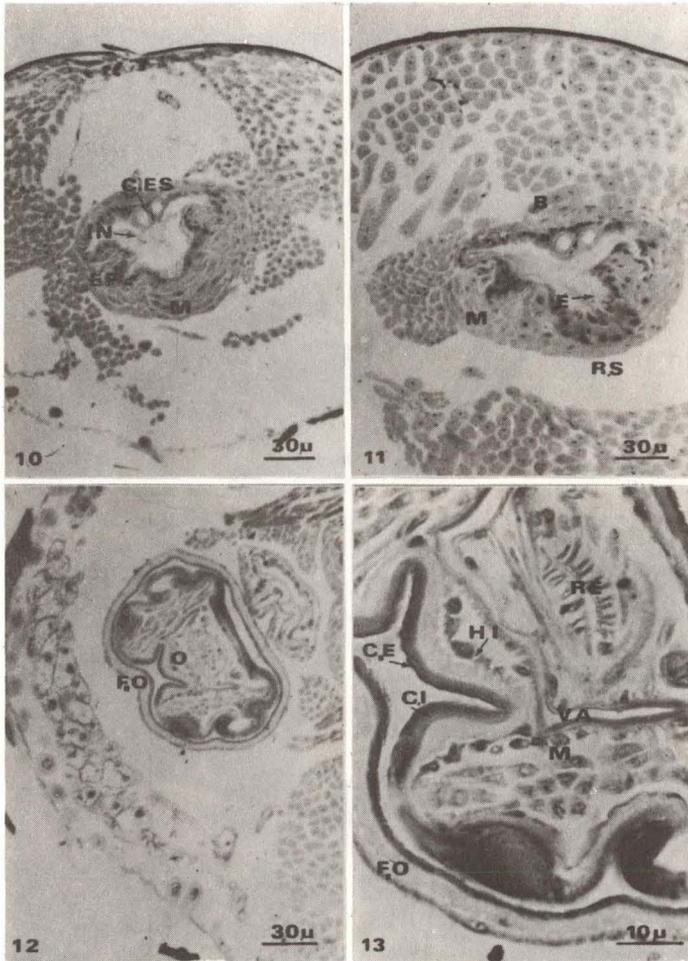
Es una bolsa muscular elongada que corresponde a la parte anterior de la vagina, también es llamada útero por algunos investigadores (Dean, 1935). Al corte se aprecia una capa íntima, una capa epitelial y por fuera la capa muscular dividida en circular interna y longitudinal externa (fig. 11).



Figs. 7-9: Estados foliculares finales del ovario. Fig. 7: Vitelogénesis avanzada, corte longitudinal del 4º estado folicular (*R. conversa*, *S. tomatillo*) 40x. Fig. 8: Degeneración de células nutritivas con formación de membrana vitelina en corte longitudinal del 5º estado folicular (*R. conversa*, *S. tomatillo*) 10x. Fig. 9: Formación de corion y membrana vitelina corte transversal del 6º estado folicular (*R. conversa*, *S. tomatillo*) 10x.

ABREVIACIONES

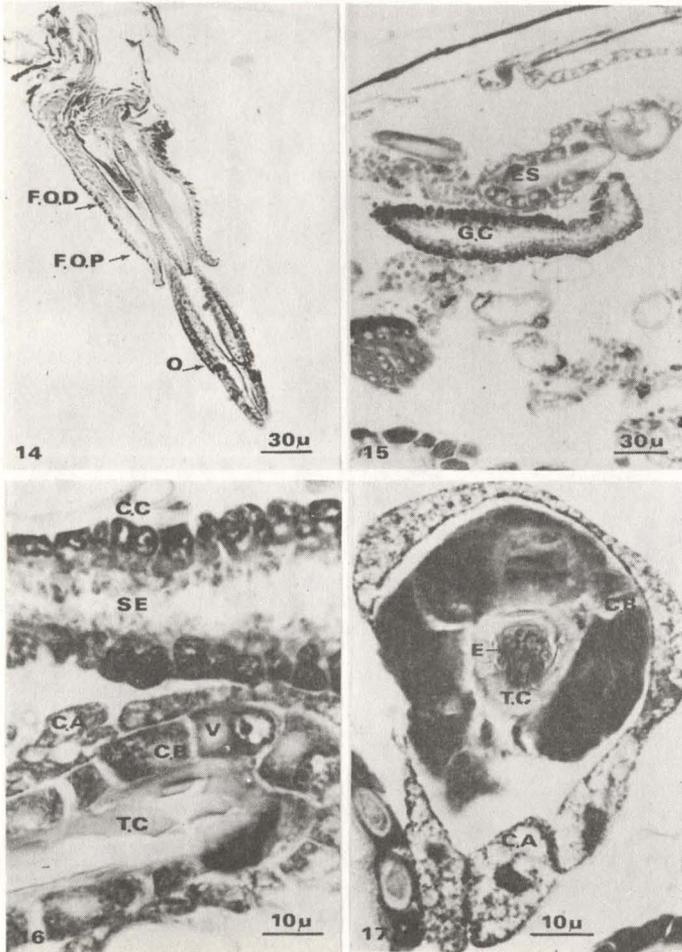
C.M	= Células de la micropila	E.F	= Epitelio Folicular
C.N	= Células nutritivas	F	= Foliculos
COR	= Corion	OOC	= Oocito
COR.F	= Corion en Formación	H.M	= Huevos maduros
		M.V	= Membrana vitelina



Figs. 10-13: Cortes histológicas de bursa, vagina, receptáculo seminal y ovipositor. Fig. 10: Corte transversal de bursa o parte anterior de la vagina (*R. conversa*, *S. tomatillo*) 10x. Fig. 11: Corte transversal de bursa y receptáculo seminal con espermatozoides en su interior (*R. conversa*, *S. tomatillo*) 10x. Fig. 12: Corte transversal de ovipositor en el interior de la funda (*R. nova*) 10x. Fig. 13: Corte transversal de ovipositor en el interior de la funda (*R. nova*) 40x.

ABREVIACIONES

B	= Bursa	F.O	= Funda ovipositor
C.E	= Cutícula externa	HI	= Hipodermis
C.ES	= Conducto espermateca	M	= Muscular
C.I	= Cutícula interna	O	= Ovipositor
E	= Espermios	RE	= Recto
EP	= Epitelio	R.S	= Receptáculo seminal
		VA	= Vagina



Figs. 14-17: Cortes histológicas de ovipositor, glándula colateral y espermateca. Fig. 14: Corte longitudinal de ovipositor (*R. nova*) 10x. Fig. 15: Corte longitudinal de glándula colateral y espermateca (*R. nova*) 10x. Fig. 16: Corte longitudinal de glándula colateral y espermateca (*R. nova*) 40x. Fig. 17: Corte transversal de espermateca con espermatozoides en su interior (*R. conversa*, *S. tomatillo*) 40x.

ABREVIACIONES

C.A	= Célula adiposa	F.O.P	= Funda ovipositor proximal
C.B	= Célula basófila	G.C	= Glándula colateral
C.C	= Célula cilíndrica	O	= Ovipositor
E	= Espermatozoides	SE	= Secreción
ES	= Espermateco	T.C	= Tubo Central
F.O.D	= Funda ovipositor distal	V	= Vacuola

F. — Receptáculo seminal:

Es una estructura aplanada que se extiende a partir de la superficie ventral de la bursa y cubierta por la misma capa muscular que reviste a esta última estructura. En su interior pueden verse espermios que según Nonidez (1920) son los primeros que se reciben durante la copulación y se utilizan en primera instancia en la fertilización del huevo (Fig. 11).

G. — El ovipositor:

Es una estructura rígida, esclerizada. En *R. conversa* mide en longitud 1.10 mm \pm 0.05 y 0.17 mm \pm 0.02 de ancho. En cambio en *R. nova* mide 1.10 mm \pm 0.10 de longitud y 0,21 mm \pm 0.04 de ancho. La diferencia de amplitud es semejante a lo descrito por Frías & Martínez (1982).

Su extremo distal es aguzado permitiendo a la hembra perforar la epidermis del fruto para oviponer, su pared está constituida por una gruesa cutícula, luego una delgada hipodermis y dorsoventralmente dos pares de músculos. La cutícula posee dos capas: a) la externa, que contiene un pigmento que le da el color característico y b) la interna que carece de pigmento y se tiñe con colorantes citoplasmáticos. En su extremo distal se aprecian dos tubos, uno al lado del otro. El más pequeño y dorsal corresponde al recto, el ventral a una parte proximal de la vagina (Figs. 12 y 13).

H. — Funda o cubierta del ovipositor:

Basalmente el ovipositor se continúa con la funda, una región flexible que lo une al séptimo segmento abdominal y donde puede retraerse el ovipositor. Se diferencian dos zonas: a) funda distal que es clara y membranosa, b) funda proximal es de color café y no membranosa excepto en la región ventral (Fig. 14).

I. — Glándulas colaterales:

Son un par de cuerpos en forma de pera que miden aproximadamente 470 μ de longitud. Se conectan a la bursa mediante dos cortos y delicados conductos. Histológicamente se distingue una única capa de células glandulares cilíndricas con núcleo basal y un nucléolo, miden 14 μ de alto, en su citoplasma hay una vacuola que se comunica con el lumen (Figs. 15 y 16). El extremo anterior del conducto es ensanchado y rodeado por un grupo de células musculares formando una estructura más desarrollada, el bulbo muscular, el cual actúa probablemente como impulsador de la secreción (Fig. 1). Nonidez (1920) en sus estudios de *Drosophila* concluye que la secreción activa los espermios. Christenson & Foote (1960) estiman que actúa en la lubricación de la vagina previa a la oviposición.

J. — Espermateca:

Consiste en un tubo central esclerizado que se extiende enteramente a través del cuerpo de la glándula revestido por una capa de células basófilas más o menos cúbicas de núcleo basal. Estas células miden aproximadamente 20 μ de diámetro, en su citoplasma poseen una vacuola con contenido acidófilo que comunica al lumen. Por fuera existe una capa de células adiposas (Figs. 15 y 16).

El conducto de la espermateca tiene una longitud aproximada de 2.500 μ . Generalmente en hembras fecundadas el lumen de la glándula contiene muchos espermatozoides como se aprecia en la figura 17. Se ha descrito que la espermateca posee una función glandular y su secreción probablemente entrega los nutrientes necesarios para los espermatozoides almacenados allí (Nonidez, 1920).

CONCLUSIONES

El sistema reproductor en hembras de *Rhagoletis conversa* y *Rhagoletis nova* está constituido por órganos semejantes a los descritos en otras especies de este género (Dean, 1935; Drew, 1969; Dodson, 1978). Se aprecia un par de ovarios, dos conductos laterales que terminan en un conducto común que desemboca en la vagina, un receptáculo seminal, un par de espermatecas, dos glándulas colaterales y un aparato ovipositor.

En hembras de ambas especies estudiadas, tanto el análisis histológico como morfológico del sistema reproductor, reveló en general gran similitud en los diferentes órganos y estructuras. Sin embargo se destacaron diferencias significativas en el promedio de ovariolos por ovario y en la amplitud del ovipositor, siendo ambos promedios mayores en *R. nova* que en *R. conversa*. Estas diferencias interespecíficas constituyen elementos taxonómicos importantes que permiten una mejor identificación de estas especies sinmórficas.

El mayor número de ovariolos registrados en *R. nova* sugiere que las hembras de esta especie producirían una mayor cantidad de huevos. Esta mayor fecundidad poseería un valor adaptativo ya que permitiría la sobrevivencia de la especie, a pesar de la rigurosa aplicación de insecticidas que efectúan los agricultores sobre las plantaciones de pepino dulce, con el fin de controlar el daño que provocan las larvas en el interior de los frutos.

Las características del aparato ovipositor, en especial su sistema muscular, su gruesa cutícula y la capacidad de retracción en el interior de la funda, permiten que las hembras perforen la epidermis de los frutos y desoven en el interior de los tejidos vegetales.

La caracterización morfológica e histológica de los diferentes estados de maduración del ovario en hembras de diferentes edades permitirá, en trabajos futuros, establecer el número de generaciones por año y época de inicio del desove en poblaciones naturales. Estos antecedentes son importantes para la elaboración de programas de control integrado, en especial en *R. nova*, plaga del pepino dulce en Chile.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado a través del Proyecto B 1856-8523 D.I.B. Universidad de Chile

REFERENCIAS

- Anderson, D.T. & Lyford, G.C. 1965. "Oogenesis in *Dacus tryoni* (Diptera: Tephritidae)". *Aust. J. Zool.* 13: 423-435.
- Bateman, M.A. 1972. "The ecology of fruit flies". *Ann. Rev. Ent.* 17: 493-518.

Tabla 1

Promedio del numero de ovariolos por ovario en *R. conversa* (*Solanum nigrum*)
y *R. nova* (*Solanum muricatum*)

Especie	**Numero de ovariolos				
	\bar{X}	S	S ²	N	t
<i>R. conversa</i> (<i>S. nigrum</i>)	9.50	0.54	0.25	10	* 5.30
<i>R. nova</i> (<i>S. muricatum</i>)	12.50	1.90	2.96	10	

** = Recuento realizado en hembras inmaduras, es decir, carecían de huevos.

S = Desviación standar.

S² = Varianza.

N = Número de ovarios analizados.

t = Test de Student, se empleó un 5% de nivel de significación.

* = $p < 0.001$.

- Boller, E.F. & Prokopy, R.J. 1976. "Bionomic and management of *Rhagoletis*". *Ann. Rev. Ent.* 21: 223-246.
- Carpinelli, A.F. 1958. "Estudio biológico sobre la mosca del tomate en Chile". *Tesis de prueba presentada a la Facultad de Agronomía*, Universidade Católica de Chile, como requisito para optar al título de Ingeniero Agrónomo (298 e. Referencia Biblioteca Facultad de Agronomía, Universidade Católica de Chile).
- Christenson, L.D. & Foote, R.H. 1960. "Biology of fruit flies" *Ann. Rev. Ent.* 5: 171-192.
- Davey, K.G. 1965. "The female system and the eggs"; in: "Reproduction in the Insects". (Oliver and Boyd, ed.) London, p. 13-28.
- Dean, R.W. 1935. "Anatomy and postpupal development of the female reproductive system in the apple maggot fly *Rhagoletis pomonella*". New York State Agriculture Experiment Station, Technical Bulletin Nº 229.
- Dodson, G. 1978. "Morphology of the reproductive system in *Anastrepha suspensa* (Loew) and notes on related species". *The Florida Entomologist.* 61 (4): 231-238.
- Drew, R.A. 1969. "Morphology of the reproductive system of *Strumeta tryoni*, with a method of distinguishing sexually mature adult males". *Jour. Aust. Ent. Soc.* 8: 21-32.
- Foote, R.H. & Blanc, F.L. 1963. "The fruit flies or Tephritidae of California". *Bull. Calif. Insect. Surv.* 7: 1-117.
- Foote, R.H. 1967. "A catalogue of the Diptera of the America South of the United States". Depto. de Zoología, Secretaría de Agricultura, São Paulo. 57: 1-91.
- Foote, R.H. 1981. "The genus *Rhagoletis* Loew south of United States (Diptera Tephritidae)". United States Department of Agriculture. *Technical Bulletin* Nº 1607. 75 pp.
- Frías, L.D. 1981. "Biología evolutiva de dípteros Otitidae y Tephritidae (Diptera Acalyptrae)". Tesis de Doctorado, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Frías, L.D. 1982. "Genética ecológica de insectos fitófagos y sus huéspedes". EN: Cruz-Coke, R. y D. Bmci (eds.). *Actas V Congreso Latinoamericano de Genética*. Imprenta Calderón, Santiago. pp. 256-271.
- Frías, L.D. y Martínez, H. 1982. "Aspectos de la Biología evolutiva en *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae)" XV Reunión Anual de la Sociedad de Genética de Chile. *Arch. Biol. y Med. Exp.* 15 (2): R-173.
- Frías, L.D. 1983. "Aspectos genéticos y ecológicos de la especiación simpátrida en insectos fitófagos". *IX Congreso Latinoamericano de Zoología*, Arequipa, Perú. Resúmenes de las comunicaciones científicas.
- Frías, L.D.; Malavasi, A. & Morgante, J.S. "Field observations of distribution and activities of *Rhagoletis conversa* (Diptera Tephritidae) on two hosts in nature". *Ann. Entom. Soc. of Am. (USA.)* 77 (5): 548-551.
- King, et al. 1975 "The cell cycle and cell differentiation in the *Drosophila* ovary", in: "*Cell cycle and cell differentiation*". (W. Beerman, ed.) Springer, Berlin pp. 85-109.
- López, M.A.; Leyton, C.M. & Graf, M.V. 1982. "Coloraciones núcleo citoplasmáticas, en: "Técnicas de Histología y Citología". Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, (ed.) Santiago pp. 36.
- Malavasi, A., J.S. Morgante, & R.A. Zucchi. 1980. "Biología de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) I Lista de hospedeiros e ocorrência". *Rev. Brasil. Biol.* 40 (1): 9-16.
- Malavasi, A. & Morgante, J.S. 1980. "Biología de moscas-das-frutas" (Diptera: Tephritidae). II Índices de infestação em diferentes hospedeiros e localidades. *Rev. Brasil. Biol.* 40 (1): 17-24.
- Malavasi, A. & Morgante, J.S. 1981. "Adult and larval population fluctuation in *Anastrepha fraterculus* and its relation host availability". *Env. Ent.* 10: 275-278.
- Miller, A. 1950. "The female reproductive system", in: *Biology of Drosophila* (M. Demerec, ed.) New York. pp. 518-530.
- Nonidez, J.F. 1920. "The internal phenomena of reproduction in *Drosophila*". *Biol. Bull.* 39: 201-230.