# MORFOLOGÍA DEL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO Y MASCULINO DE Hypothenemus hampei (Ferrari)

José D. Rubio-Gómez\*; Álex E. Bustillo-Pardey\*\*; Luis F. Vallejo-Espinosa\*\*\*; Pablo Benavides-Machado\*\*; José R. Acuña-Zornosa\*\*\*\*

#### RESUMEN

RUBIO G., J.D.; BUSTILLO P., Á.E.; VALLEJO E., L.F.; BENAVIDES M., P.; ACUÑA Z., J.R. Morfología del sistema reproductor femenino y masculino de *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Cenicafé 58(1):75-82. 2007.

Por primera vez se presenta la descripción de los órganos del sistema reproductor femenino y masculino de la broca del café,  $Hypothenemus\ hampei$  (Ferrari). El proctodeo presenta varios pliegues en los cuales se insertan los apéndices reproductivos en la hembra y en el macho. El sistema reproductor femenino de H. hampei tiene una longitud de  $1,42\pm0,020$ mm y consta de un par de ovarios, cada uno con dos ovariolas. La base de cada ovariola se une a un oviducto lateral, que termina en un oviducto común. Unido antero-lateralmente a este oviducto común se encuentra la espermateca esclerotizada en forma de bastón. Adyacente a la espermateca se encuentra la glándula espermatecal hialina y de estructura sacciforme. Tanto la espermateca como la glándula espermatecal terminan en el oviducto común a la altura de la vagina.

El sistema reproductor masculino tiene una longitud total de  $1,346\pm0,0054$ mm, conformado por un par de testículos fusionados con un vaso deferente unido a cada uno de éstos, seguidos por la vesícula seminal que al fusionarse a los vasos deferentes forman el ducto eyaculador. El aedeagus, posee una estructura membranosa y una cápsula esclerotizada exterior, en cuya base se encuentra el tegmen en forma de Y invertida. La fusión de los vasos deferentes y las vesículas seminales permiten el acople de las glándulas accesorias de forma sigmoidal y de grosor similar a las vesículas seminales.

Palabras clave: Broca del café, sistema reproductor, anatomía interna.

## ABSTRACT

The description of the reproductive system of the coffee berry borer  $Hypothenemus\ hampei$  (Ferrari) is presented for the first time. The proctodeum has several folds in which the reproductive appendices of both females and males are inserted. The female reproductive system of H. hampei has a longitude of  $1.42\pm0.020$ mm and is made up of two ovaries, each with two ovarioles. The base of each ovariole is attached to a lateral oviduct that finishes in a common oviduct. The sclerotized spermatheca, which has the shape of a cane, is attached to the front and to the side of this common oviduct. Contiguous to the spermatheca is the hyaline spermathecal gland shaped as a fine coat. Both the spermatheca, and the spermathecal gland end at a common oviduct next to the vagina.

The male reproductive system has a diameter of  $1.346 \pm 0.0054$ mm and is made up of a pair of testicles joined to a vas deferens attached to each one of them followed by the seminal vesicle that forms the ejaculator duct where they join the vas deferens. The aedeagus has a membranous structure and an outer sclerotized capsule that has the inverted Y shape tegmen in its base. The fusion of seminal vesicles and vas deferens allows the adjustment of the accessory glands that have a sigmoid shape and a thickness similar to that of the seminal vesicles.

Keywords: Coffee berry borer, reproductive system, internal anatomy.

<sup>\*</sup> Ingeniero Agrónomo. Mejoramiento Genético y Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

<sup>\*\*</sup> Investigador Principal e Investigador Científico II, respectivamente. Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia

<sup>\*\*\*</sup> Biólogo, M. Sc. Profesor Entomología. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas.

<sup>\*\*\*\*</sup> Investigador Científico III. Mejoramiento Genético y Biotecnología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

La broca es la plaga más importante del cultivo del café y se encuentra presente en la mayoría de los países productores (13). El daño que ésta ocasiona ocurre cuando se alimenta y se reproduce en el endospermo, lo que causa la pérdida total del grano y en muchos casos la caída prematura de los frutos (4, 5); no obstante, cabe resaltar que la broca prefiere colonizar y reproducirse en los frutos maduros que en los verdes (11, 18). Una vez la hembra de H. hampei emerge, tarda unos cuatro días en comenzar su oviposición, etapa que dura alrededor de 20 días, con una tasa de dos a tres huevos/día (2). H. hampei puede colonizar y reproducirse en 12 especies de café y a pesar de que se ha observado atacando otros géneros de plantas nunca se ha informado que se reproduzca en éstas (12).

El sistema reproductor de los insectos del orden Coleoptera es altamente variable entre grupos y es utilizado como un carácter diagnóstico en muchos casos, principalmente cuando se determina el número de ovariolas y el número de ovarios (6, 7, 17, 23). Los ovarios están formados por una serie de ovariolas, unidas distalmente a un filamento terminal, y que se conectan contiguamente al cáliz a través del pedicelo. Cada oviducto lateral conecta cada cáliz al oviducto que termina en el gonoporo. La relación del gonoporo con el exterior raramente es directa, debido a que generalmente se abre hacia una cámara genital que funciona como vagina y se encuentra comunicada con las glándulas accesorias y con la espermateca (3, 21, 22).

Los estudios sobre la morfología interna de los escolítidos se han concentrado en la descripción de la morfología e histología del sistema digestivo de *Scolytus multistriatus* Marsham (1), *Dendroctonus* spp. (8, 9, 10), *Trypodendron lineatum* Oliv., *Gnathotrichus retusus* LeConte y *G. sulcatus* LeConte (20), e *Ips pini* Say (15); y en la variación de la

forma del proventrículo, para la identificación de los géneros mexicanos (14). Sin embargo, existen reportes de estudios relacionados con el sistema reproductor de la subfamilia Scotylinae realizados por Russo (19) a la especie *Cheatoptelius vestitus* Mulsant & Ray y por Lavabre (13) a la especie *Xyleborus morstatti* Hag.

Debido a la carencia de conocimiento básico sobre la morfología interna del sistema reproductor de *H. hampei*, se llevó a cabo la descripción morfológica de los órganos que forman su sistema reproductor (femenino y masculino) respecto a su forma, tamaño y función, con el fin de generar información esencial en la determinación del potencial reproductivo que relaciona su dinámica poblacional con el cultivo del café.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Localización. El material se recolectó en la Estación Central Naranjal localizada en el municipio de Chinchiná (Caldas), a una altitud de 1.400m y con un promedio de temperatura de 21,7°C. Las evaluaciones se realizaron en el laboratorio de Entomología del Centro Nacional de Investigaciones de Café - Cenicafé en Planalto (Chinchiná, Caldas).

**Material biológico.** Se recolectaron adultos vivos de *H. hampei* en frutos maduros de café. Los frutos se separaron en viales de vidrio y se llevaron al laboratorio de Cenicafé.

**Disección.** Para el estudio se disecaron 12 individuos de cada sexo, los cuales fueron inmovilizados a 4°C por 10 minutos. Cada espécimen fue disecado sobre un portaobjetos adicionándole una gota de solución Ringer's, pH 7,2 (16), para evitar el daño celular y la deshidratación de los tejidos, y posteriormente se observó en un estereoscopio Zeiss Stemi

2000 y con un aumento según el tejido disecado.

Los aparatos reproductivos disecados se tiñeron con azul de toluidina y eosina, según la metodología descrita por Martínez (16) para la diferenciación de los órganos. Luego, se midieron los órganos con la ayuda de un microscopio Zeiss Axiophot, equipado con una reglilla micrométrica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Anatomía del sistema reproductor de las hembras de *H. hampei*. El sistema reproductor de las hembras alcanza un tamaño de 1,242 ± 0,020mm, semejante a la longitud total de la broca (1,6mm apróximadamente). En el sistema reproductor se observan dos ovarios unidos estrechamente con el proctodeo. Cada ovario está formado por un par de ovariolas alargadas (Figura 1), de forma semicónica y una longitud de 0,425 ± 0,015mm. Después de la base de las ovariolas se despliegan

los oviductos laterales, con una longitud de  $0.035 \pm 0.001$ mm, que forman el oviducto común. Antero-lateralmente al oviducto se encuentran los órganos accesorios que se componen de la espermateca y la glándula accesoria  $(0.132 \pm 0.005$ mm y  $0.096 \pm 0.003$ mm, respectivamente).

En las ovariolas se encuentran los oocitos, los cuales aumentan de tamaño proporcionalmente a su madurez y que se acomodan en la región basal de la ovariola (Figura 2a). Cada ovariola tiene tres regiones características (Figura 1): El filamento terminal (más distal), que es una prolongación de la capa peritoneal que las mantiene unidas, rodeadas por cuerpos grasos entre el proctodeo y los ovarios (Figura 2b); el gemario compuesto de estructuras celulares de forma circular, de las cuales se originan los oogonios y correspondientes oocitos, sin forma organizada ni estructuras específicas diferenciadas (Figuras 1 y 2a); y el vitelario (región basal), que es la región donde se encuentran los oocitos desarrollados, de epitelio folicular bien diferenciado (Figura

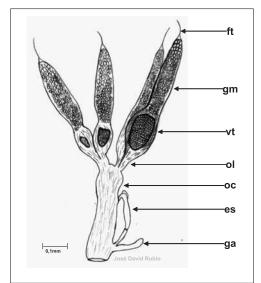


Figura 1. Vista general del sistema reproductor femenino en hembras de *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Filamento terminal (ft), gemario (gm), vitelario (vt), oviducto lateral (ol), oviducto común (oc), espermateca (es), glándula accesoria (ga).

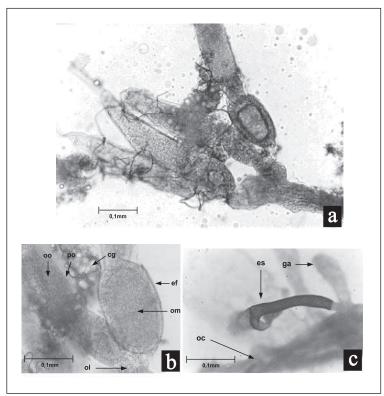


Figura 2. Morfología general del sistema reproductor femenino de *Hypothenemus hampei* (Ferrari). a) vista general del sistema reproductor femenino; b) vista general de la región media del sistema reproductor femenino de *Hypothenemus hampei*, oocitos en el gemario (oo), pared de la ovariola (po), cuerpos grasos (cg), epitelio folicular (ef), oocito en proceso de maduración en el vitelario (om) y oviducto lateral (ol); c) vista lateral de la espermateca (es), glándula accesoria (ga) y oviducto común (oc) de *Hypothenemus hampei*.

2b) de la pared de la ovariola. Los oocitos son ovoides y aumentan de tamaño cuando pasan del gemario al vitelario. Las cuatro ovariolas típicas de la especie, no tienen un proceso de maduración sincrónico, éste es discordante pues cada ovariola mantiene un tiempo de maduración con respecto a las demás ovariolas (Figura 1). Algunos autores han encontrado diferencias en otros grupos de coleópteros en cuanto al número de ovarios, por ejemplo, *Buprestis aurulenta* L. presenta un solo ovario, insectos de las familias Apionidae y Curculionidae tienen dos

ovarios, seis en Staphylinidae y doscientos en *Meloe* sp. (6).

La región basal de las ovariolas presenta canales en número par u oviductos laterales, en los cuales se depositan los oocitos maduros para ser conducidos al oviducto común (Figuras 1 y 2a). Este último ducto es atravesado por el oocito maduro para su fertilización, pues ésta es la zona donde se encuentra la espermateca y su glándula accesoria. El oviducto común es largo y posee gran cantidad de músculos que ayudan al

desplazamiento del huevo hacia la abertura genital para ser expulsados (Figura 2a).

La espermateca tiene forma de bastón (Figura 2c), está esclerotizada externamente y cumple con la función de almacenamiento temporal de los espermatozoos. Se encuentra unida a una glándula accesoria, de epitelio flexible, sacciforme y color crema (Figura 2c). Ambos órganos se ubican al lado derecho del oviducto común (Figura 1).

Anatomía del sistema reproductor masculino de *H. hampei*. El sistema reproductor del macho (Figura 3) tiene una longitud de 1,246  $\pm$  0,005mm (similar a la del cuerpo, 1,26mm aproximadamente). Comienza en la región distal con el aedeagus (Figura 4a), que es una estructura sacciforme y esclerotizada, que se localiza en la cavidad abdominal. Su tamaño es de 0,254  $\pm$  0,010mm, e internamente está compuesto de tejido hialino y membranoso. Este órgano no exhibe una vejiga ni una abertura terminal, es una región cerrada y

completamente esclerotizada, constituida por orificios diminutos por los cuales expulsa el fluido espermático (Figura 4a). El aedeagus de *H. hampei*, está compuesto además, por dos apodemas latero-proximales, más largos que el apodema del tegmen. Este último es una estructura esclerotizada, en forma de Y invertida, que envuelve la región basal del aedeago y sirve de guía para el movimiento de proyección y contracción durante la cópula, seguido a éste se observa el apodema lateroventral que es un brazo esclerotizado que se conecta con el esternito ocho.

Posterior al aedeago se encuentra el ducto eyaculador (Figuras 3 y 4b), un tubo de estructura delgada con una longitud de 0,33 ± 0,006mm, la reducción en diámetro obedece a su función de generar mayor presión para la expulsión del fluido espermático. En esta región se observan además dos proyecciones o vesículas seminales (Figura 3) de 0,165 ± 0,0023mm, unidas a los vasos deferentes

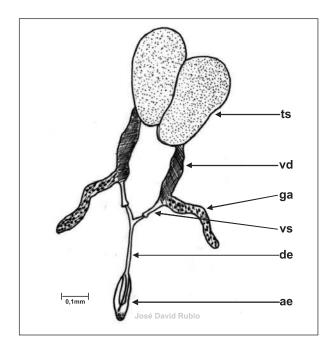


Figura 3. Vista general del sistema reproductor masculino de *H. hampei* (Ferrari). Testículos (ts), vasos deferentes (vd), glándula accesoria (ga), vesícula seminal (vs), ducto eyaculador (de) y aedeagus (ae).

 $(0.375 \pm 0.004 \text{mm})$  (Figuras 3 y 4b), los cuales son gruesos y hialinos o turbios cuando el insecto ha alcanzado la madurez sexual. Su función está relacionada con el almacenamiento de los espermatozoos que salen de los testículos. Internamente los vasos poseen una constitución fibrosa y se adhieren a la región distal por las glándulas accesorias (Figuras 3 y 4b), que son sigmoidales y además, ayudan en los procesos de conservación y secreción del fluido lubricante que permite la movilización de los espermatozoos hacia los órganos reproductores femeninos. La región donde son generadas las glándulas accesorias se denomina mesadenias, ya que se derivan del mesodermo como evaginaciones de los vasos deferentes, y ayudan en la conservación y preservación de los espermatozoos.

Los testículos son los órganos más grandes del sistema reproductor masculino, con una longitud de  $0,435 \pm 0,026$ mm, y están revestidos por una membrana hialina que les da la apariencia de estar muy adosados. Cada testículo es globoso (Figura 3 y 4c) y consta de un solo tubo espermático

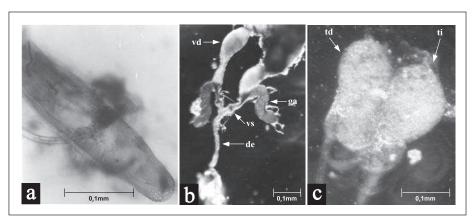
(folículo), estratificado y con zonas celulares en diferentes estados de espermatogénesis. Cada grupo de células está inmerso dentro de sacos protuberantes, adyacentes a las células de los folículos, mientras que los espermatozoos maduros se ubican en posición axial a lo largo del tubo espermático.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Al Centro Nacional de Investigaciones de Café – Cenicafé.

### LITERATURA CITADA

- BAKER, W. V.; ESTRIN, C. L. The alimentary canal of Scolytus multistriatus (Coleoptera – Scolytidae). A histological study. The Canadian Entomologist 106: 673 - 686. 1974.
- BERGAMIN, J. Pragas do café. Boletin da Superintendencia dos Servicos do Café 31 (347): 7 - 9. 1956.
- BLUM M. S. Fundamentals of insect physiology. New York, John Wiley & Sons, 1985. 616 p.



**Figura 4.** Regiones del sistema reproductor masculino de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). a) Vista general del aedeago de *Hypothenemus hampei*; b) Vista general del ducto eyaculador (de), vesícula seminal (vs), glándulas accesorias (ga) y vasos deferentes (vd); c) Observación de los testículos de la broca del café; testículo izquierdo (ti), testículo derecho (td).

- BUSTILLO P., A.E.; CÁRDENAS M., R.; VILLALBA G., D.A.; BENAVIDES M., P.; OROZCO H., J.; POSADA F., F. Manejo integrado de la broca del café Hypothenemus hampei (Ferrari) en Colombia. Chinchiná, Cenicafé, 1998. 134 p.
- CORBETT, G.H. Some preliminary observations on the coffee berry beetle borer *Stephanoderes* (*Cryphalus*) *hampei* Ferrari. Malayan Agricultural Journal 21 (1):8 - 22. 1933.
- CROWSON, R. A. The biology of the Coleoptera. London, Academic Press, 1981. 802 p.
- DE WET, E.E. Female reproductive system of adult Gonocephalum subcontractum (Grideli)(Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of the Entomological Society of South Africa. 52 (2): 285 - 300. 1989.
- DÍAZ, E.; ARCINIEGA, O.; SÁNCHEZ, L.; CISNEROS, R.; ZÚÑIGA, G. Anatomical and histological comparison of the alimentary canal of *Dendroctonus micans*, *D. ponderosae*, *D. pseudotsugae pseudotsugae*, *D. Rupifenis*, and *D. terebrans* (Coleoptera: Scolytidae). Annals of the Entomological Society of America 96 (2): 44 - 152. 2003.
- DÍAZ, E.; CISNEROS, R.; ZUÑIGA, G. Comparative anatomical and histological study of the alimentary canal of *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae). Annals of the Entomological Society of America 93: 303 - 311, 2000.
- DÍAZ, E.; CISNEROS, R.; ZUÑIGA, G.; URIA G., E. Comparative anatomical and histological study of the alimentary canal of *Dendroctonus* parallelocollis, D. rhizophagus and D. valens (Coleoptera – Scolytidae). Annals of the Entomological Society of America 91: 479 - 487. 1998.
- 11. IGBOEKWE, A. D. Preference of *Stephanoderes hampei*Ferrari to coffee berries of different developmental stages. The Indian Journal of Agricultural Sciences 54: 520 521. 1984.
- 12. JOHANNESON, N. E.; MANSINGH, A. Host pest relationship of the genus *Hypothenemus* (Scolytidae: Coleoptera) with special reference to the coffee berry borer (*H. hampei*). Journal of Coffee Research 14: 43 - 56. 1984.
- LAVABRE, E.M. Recherches biologiques etécologiques sur le scolyte des rameaux des caféiers. Institut Français du Café et du Cacao. París, IFCC. 1962. 137 p.

- 14. LE PELLEY, R. H. Pest of coffee. London, Longmans, Green and Co., 1968. 590 p.
- LÓPEZ B., J.A.; VÁLDEZ, J.; EQUIHAU, A.; BURGOS, A. El proventrículo como estructura para identificar géneros mexicanos de Scolytidae (Coleoptera). Folia Entomológica Mexicana 40 (3): 325 - 372. 2001.
- 16. MALL, G. M.; TITTIGER, C.; ANDREWS, G. L.; MARTICK, G. S.; KUENZLI, M.; LUO, X.; SEYBOLD, S. J.; BLOMQUIST, G. J. Midgut tissue of male pine engraver, *Ips pini*, synthetisizes monoterpenoid pheromone component ipsdienol de novo. *Naturwissenchaften* 89: 79 - 83. 2002.
- 17. MARTÍNEZ, M. I. Técnicas básicas de anatomía microscópica y de morfometría para estudiar los insectos. Aracnet 9. Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa - S.E.A. 30:187 - 195. 2000.
- ROBERTSON, J. G. Ovariole numbers in Coleoptera. Canadian Journal of Zoology 39: 245 - 263. 1961.
- 19. RUIZ C., R. Efecto de la fenología del fruto de café sobre los parámetros de la tabla de vida de la Broca del Café Hypothenemus hampei (Ferrari). Manizales, Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1996. 87 p. (Tesis: Ingeniero Agrónomo).
- 20. RUSSO, G. Contributo alla conoscenze degli Scolytidi. Studio morfobiologico del *Cheatoptelius vestitus* (Muls. e Rey) Funchs e dei suoi simbionti. Bollettino del Laboratorio di Zoologia Generale e Agraria della R. Scuola Superiore d'Agricultura. 19:103 - 260. 1926.
- SCHNEIDER, I.; RUDINSKY, A. Anatomical and histological changes in internal organs of adult *Trypodendron lineatum*, *Gnathotichus retusus* and *G. sulcatus* (Coleoptera – Scolytidae). Annals of the Entomological Society of America 62 (1): 995 -1003. 1969.
- 22. SNODGRASS, R. E. Principles of insect morphology. New York, McGraw-Hill, 1935. 667 p.
- WIGGLESWORTH, V. B. The principles of insect physiology. Nueva York, E.P. Dutton and Co., 1950. 544 p.
- WILLIAMS, J. L. The anatomy of the internal genitalia of some Coleoptera. Proceedings of the Entomological Society of Washington 47: 73 - 91. 1945.