

## ESTUDIO COMPARATIVO DEL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO DE TRES ESPECIES DE NYMPHALIDAE (LEPIDOPTERA: PAPILIONOIDEA) DE COLOMBIA\*

José David Rubio-G.<sup>1</sup> y Camilo A. Valencia-M.<sup>2</sup>

### Resumen

Este trabajo describe y compara el sistema reproductor femenino de *Ithomia alienassa* (Ithomiinae), *Heliconius charithonia* (Heliconiinae) y *Actinote equatoria* (Acraeiinae). Se recolectaron 10 hembras por especie y se anatomizó la región abdominal para la extracción del sistema reproductor. Se hizo un análisis de los sistemas reproductores a través de microscopía óptica donde se evidenció que la forma y tamaño de las ovariolas varía en cada especie, así como las demás partes constitutivas del sistema reproductor, determinando la estrategia reproductiva que cada especie desarrolla.

**Palabras clave:** mariposas, *Heliconius*, *Actinote*, *Ithomia*, morfología interna, ovariolas, reproducción.

## COMPARATIVE STUDY OF THE FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM IN THREE NYMPHALIDAE SPECIES (LEPIDOPTERA: PAPILIONOIDEA) IN COLOMBIA

### Abstract

This work describes and compares the female reproductive system of *Ithomia alienassa* (Ithomiinae), *Heliconius charithonia* (Heliconiinae), and *Actinote equatoria* (Acraeiinae). Ten females per species were collected; their abdominal region was anatomized for the extraction of their reproductive system. Through optical microscopy, the analysis of the reproductive systems evidenced that both the form and size of the ovarioles vary in each species, as well as the other constitutive parts of their reproductive system, determining the reproductive strategy developed by each species.

**Key words:** butterflies, *Heliconius*, *Actinote*, *Ithomia*, internal morphology, ovarioles, reproduction.

## INTRODUCCIÓN

El sistema reproductor femenino del orden Lepidóptera, se compone de derivaciones mesodermales y estructuras invaginadas de origen ectodermal (SCOBLE, 1995). Los ovarios están formados por varias ovariolas unidas

\* Recibido 12 de diciembre de 2007, aceptado 12 de mayo de 2009

<sup>1</sup> Ing. Agrónomo. Entomólogo MSc. Disciplina Mejoramiento Genético y Biotecnología. CENICAFÉ.

E-mail: josed.rubio@gmail.com

<sup>2</sup> I.A. Universidad de Caldas. Convenio Colciencias – Cenicafé. E-mail: camilo.valencia@cafedecolombia.com

distalmente a un ligamento suspensorio; dos oviductos laterales se conectan a un oviducto común ubicado en el VIII segmento abdominal (SNODGRASS, 1935; BLUM, 1985). La relación del ovipositor con el exterior rara vez es directa, generalmente se abre a una cámara genital, que funciona como vagina y se encuentra comunicada con glándulas accesorias y una espermateca (WIGGLESWORTH, 1950). La maduración de los oocitos (células sexuales femeninas inmaduras) y el aporte de vitelio se realizan en las ovariolas, mientras que la formación del corión que envuelve al huevo, se efectúa sólo en la zona vecina al pedicelo. La envoltura coriónica a menudo presenta diseño y textura y nunca rodea completamente al óvulo, ya que deja un punto abierto (micrópilo), para permitir la entrada de espermatozoos en la fecundación (BLUM, 1985). Las ovariolas se dividen en tres tipos: panoístico, que carece de células nutricionales; politrófico, donde las células nutricionales alternan con los oocitos o con las células germinales primordiales; y telotrófico, donde las células nutricionales ocupan una región cercana al filamento terminal de las ovariolas, estas células están restringidas al gemario (ROMOSER & STOFFOLANO, 1998).

En Lepidóptera se distinguen tres tipos básicos de sistemas reproductores, los cuales incluyen diferencias en cuanto a la posición del oviducto común, así como el número y posición de las aperturas genitales: el tipo Monotrysis es una simple abertura genital sirviendo de ovipositor y de poro copulador (*ostium*), este tipo de sistema reproductor se considera el más primitivo, siendo característico de algunos microlepidópteros; el tipo Exoporia presenta dos aberturas genitales, una para la oviposición y otra para la cópula, éstas abren en el mismo segmento 9A. El tipo Dytrisia se presenta en el 95% de las especies de Lepidóptera, contiene dos aberturas genitales, abriéndose el *ostium* ventralmente en el esternito 7A o en el 8A, y el ovipositor en el esternito 9A (SCOBLE, 1995).

Debido al escaso conocimiento relacionado con el sistema reproductor de estos insectos, se hizo el estudio morfológico de los órganos que comprenden estos sistemas determinando la forma, tamaño y función. Esta investigación da una primera descripción de estos sistemas, y está dirigida a proporcionar herramientas básicas a biólogos y científicos en la morfología interna del sistema reproductor de los lepidópteros, para lo cual se estudiaron y compararon los sistemas reproductores de tres especies de mariposas diurnas de la zona cafetera Colombiana: *Ithomia alienassa* Haensch, 1905 (Ithomiinae), *Heliconius charithonia* (Linnaeus, 1767) (Heliconiinae) y *Actinote equatoria* Bates, 1864 (Acraeinae).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material biológico

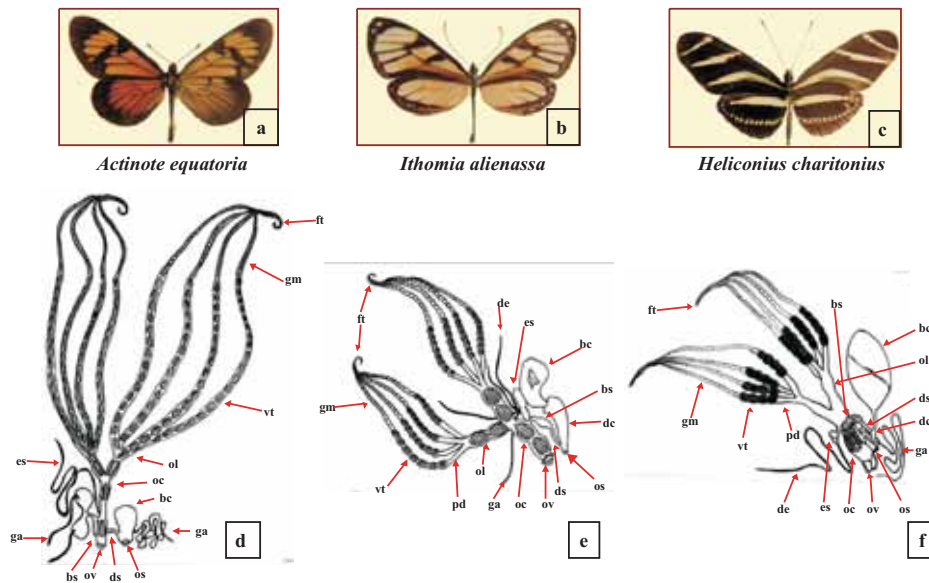
Los especímenes para el estudio morfológico fueron colectados en tres ecosistemas en la Sede Central de Cenicafé ubicada en Planalto, Chinchiná, Caldas: 1425 msnm, temperatura promedio 20,8 °C y precipitación de 2556 mm al año; este sitio se encuentra en la zona de vida bosque muy húmedo premontano (bmh-PM) de acuerdo con la clasificación de HOLDRIDGE (1987). Los ecosistemas fueron: un relicto de bosque secundario en las primeras etapas de sucesión, un cafetal a libre exposición y un cafetal bajo sombrío. Los ejemplares capturados de las tres especies fueron hembras maduras que mostraban maduración ovárica y las ovariolas en la región

del vitelario completo de oocitos. La determinación taxonómica de los ejemplares se hizo sobre la base del trabajo de VALENCIA *et al.* (2005) y por confrontación directa con material depositado en el Museo Entomológico Marcial Benavides de Cenicafé.

### Disección

Para la extracción del sistema reproductor se disecaron 10 hembras de las especies *A. equatoria* (Fig. 1a), *I. alienassa* (Fig. 1b) y *H. charithonia* (Fig. 1c) en cajas de petri, a las cuales se les adicionó 15 ml de solución de Ringer.

La disección de los ejemplares inició con el desprendimiento del abdomen, procediendo a separar los tergitos y esternitos abdominales, dejando expuesta la zona comprendida desde el mesenteron hasta el ano. Luego se apartó el sistema reproductor del digestivo, realizando primero la extracción del tejido graso que recubre esta zona. Los tejidos fueron teñidos con azul de toluidina y sumergidos posteriormente en solución Ringer para lavar el exceso de colorante, facilitando la diferenciación de los órganos que componen el sistema reproductor. Luego se midieron con un estereoscopio marca Zeiss Axiophot SV4 equipado con reglilla micrométrica. Todos los órganos del sistema reproductor fueron fotografiados y medidos para comparar su forma y su tamaño, posteriormente se preservaron en glutaraldehído 2% en fosfato buffer pH. 7.0.



**Figura 1.** Aspecto general y del sistema reproductor femenino de las tres especies de mariposas. **a)** *Actinote equatoria*. **b)** *Ithomia alienassa*. **c)** *Heliconius charithonia*. **d)** Vista general del sistema reproductor femenino de *A. equatoria*; filamento terminal (ft), gemario (gm), vitelario (vt), oviducto lateral (ol), oviducto común (oc), bolsa copulatrix (bc), glándulas accesorias (ga), ostium (os), ducto seminal (ds), ovipositor (ov), bolsa seminal (bs), espermateca (es). **e)** Vista general del sistema reproductor femenino de *Ithomia alienassa*; pedicelo (pd), ducto copulatrix (dc), ducto espermatecal (de). **f)** Vista general del sistema reproductor femenino de *Heliconius charithonia*.

## RESULTADOS

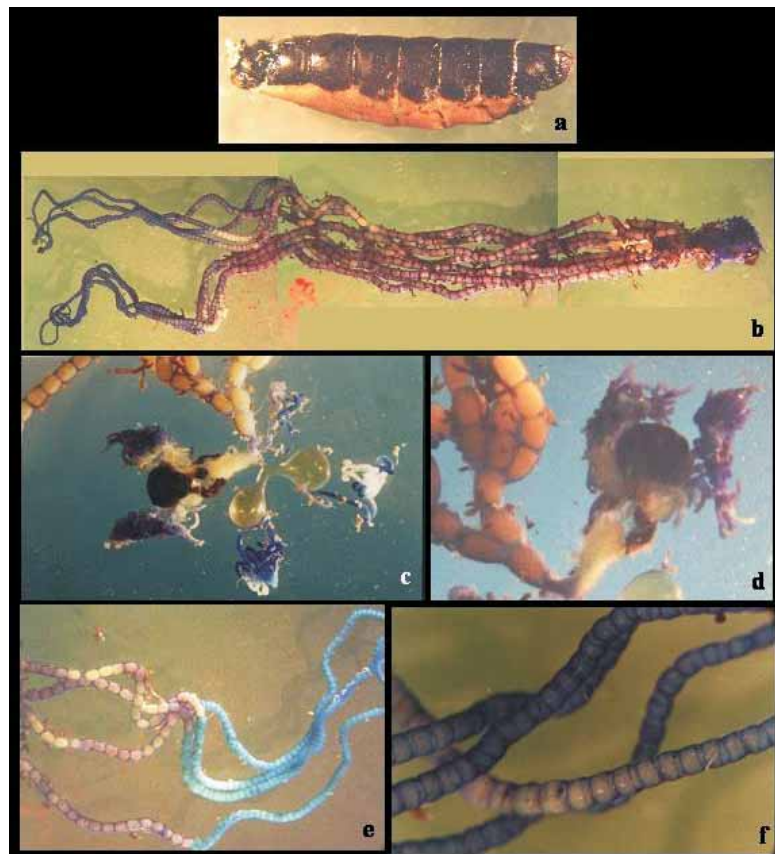
Las tres especies de mariposas presentan un sistema reproductor del tipo Dytrisia. A cada lado del oviducto y el ano hay un par de almohadillas vellosas (papilas anales) usualmente acopladas al final de un par de apodemas internos en el cual los músculos se unen para ayudar en la expulsión de los huevos.

El sistema reproductor consta de un par de ovarios estrechamente unidos con el proctodeo; cada ovario lo componen cuatro ovariolas, alargadas y de forma semicónica, las cuales presentan en cada especie diferencias en su longitud (Figs. 1d, 1e y 1f, Tabla 1). Aunque la longitud del abdomen en las tres especies es similar (Figs. 2a, 3a y 4a), se observan diferencias en la forma y tamaño de los órganos que componen el sistema reproductor, presentándose una mayor longitud en *A. equatoria* que supera en casi cuatro veces la longitud del abdomen, en cambio la extensión del sistema reproductor de las especies *I. alienassa* y *H. charithonia* representa la mitad de la longitud del abdomen (Tabla 1), esto debido en gran parte al tamaño de las ovariolas (Figs. 2b, 3b y 4b). Los plegamientos en las ovariolas reducen el tamaño del sistema reproductor acoplándose en el interior de la región abdominal (Fig. 3b).

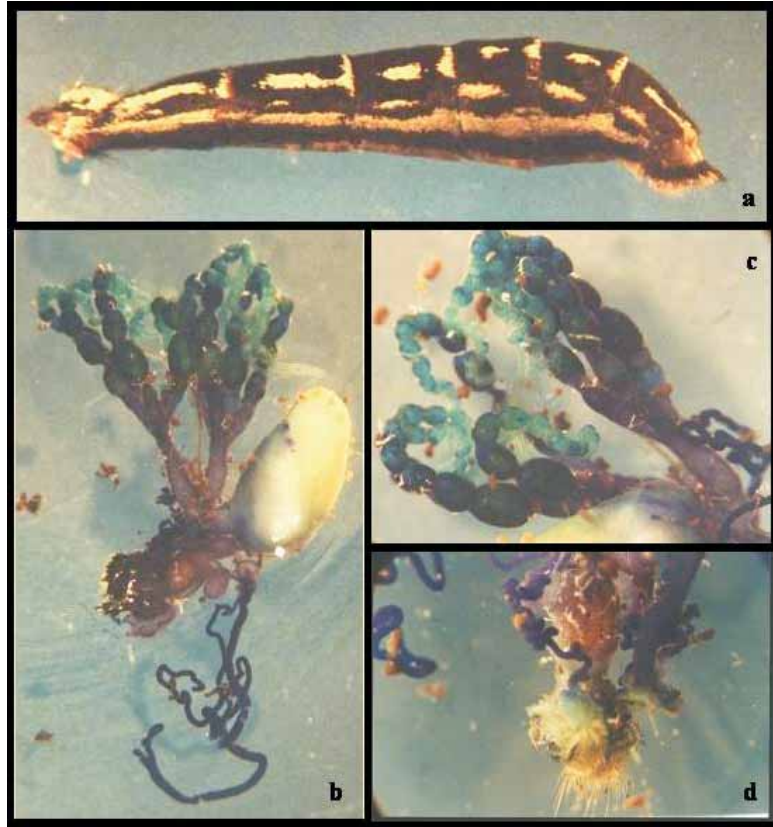
**Tabla 1.** Dimensiones (mm)  $\pm$  error estándar (ee), de los órganos que componen el sistema reproductor femenino de las especies estudiadas (n=10 individuos).

Órgano	(n)		Especie		
			<i>A. equatoria</i>	<i>I. alienassa</i>	<i>H. charithonia</i>
Ovariola	10	Largo	53,88 $\pm$ 0,153	7,57 $\pm$ 0,213	7,52 $\pm$ 0,067
Vitelario	10	Largo	25,70 $\pm$ 0,681	3,70 $\pm$ 0,057	3,97 $\pm$ 0,038
Gemario	10	Largo	28,29 $\pm$ 0,224	1,19 $\pm$ 0,015	1,84 $\pm$ 0,023
Pedicelo	10	Largo	-----	1,18 $\pm$ 0,032	1,07 $\pm$ 0,014
Oocitos Maduros	10	Largo	0,51 $\pm$ 0,004	0,67 $\pm$ 0,007	0,74 $\pm$ 0,013
	10	Ancho	0,66 $\pm$ 0,007	1,02 $\pm$ 0,026	1,10 $\pm$ 0,028
Oviducto Lateral	10	Largo	0,53 $\pm$ 0,003	0,78 $\pm$ 0,006	0,55 $\pm$ 0,001
	10	Ancho	1,43 $\pm$ 0,014	1,80 $\pm$ 0,250	1,69 $\pm$ 0,009
Oviducto Común	10	Largo	2,57 $\pm$ 0,016	5,80 $\pm$ 0,173	3,23 $\pm$ 0,018
Bolsa Copulatrix	10	Largo	1,28 $\pm$ 0,007	1,38 $\pm$ 0,025	2,25 $\pm$ 0,026
	10	Ancho	1,43 $\pm$ 0,007	2,13 $\pm$ 0,044	4,34 $\pm$ 0,098
Canal de la Bolsa	10	Largo	0,51 $\pm$ 0,011	1,00 $\pm$ 0,022	1,86 $\pm$ 0,060
Bolsa Seminal	10	Largo	1,05 $\pm$ 0,012	3,82 $\pm$ 0,035	1,84 $\pm$ 0,030

Órgano	(n)		Especie		
			<i>A. equatoria</i>	<i>I. alienassa</i>	<i>H. charithonia</i>
Espermateca	10	Largo	0,64 ± 0,013	1,48 ± 0,025	1,19 ± 0,028
Canal Espermateca	10	Largo	0,75 ± 0,022	-----	1,73 ± 0,037
Abdomen Total	10	Largo	13,94 ± 0,174	14,26 ± 0,052	13,89 ± 0,048
Abdomen Anterior	10	Ancho	2,83 ± 0,016	2,12 ± 0,036	1,35 ± 0,032
Abdomen Medio	10	Ancho	4,15 ± 0,018	3,24 ± 0,023	2,44 ± 0,037
Abdomen Posterior	10	Ancho	1,35 ± 0,021	1,31 ± 0,012	1,74 ± 0,010



**Figura 2.** Morfología general del sistema reproductor femenino de *Actinote equatoria*. **a)** Vista lateral del abdomen. **b)** Vista general del sistema reproductor femenino. **c)** Vista general de la región anterior del sistema reproductor femenino. **d)** Bolsa copulatrix y las glándulas accesorias. **e)** Diferenciación de los oocitos presentes en las ovariolas en el gemario (color azul) y los ya maduros en el vitelario (color crema). **f)** Vista general del vitelario en el cual se observa el oocito fusionado con una célula nutritiva.



**Figura 3.** Morfología general del sistema reproductor femenino de *Heliconius charitonía*. **a)** Vista lateral del abdomen. **b)** Vista general del sistema reproductor femenino, en la cual se observa gran tamaño de la bolsa copulatrix. **c)** Ovariolas y oviductos laterales. **d)** Vista general de la región anterior del sistema reproductor femenino, observándose el oviducto común y las glándulas accesorias.

Los ovarios de las tres especies se encuentran divididos en tres regiones: el filamento terminal (Figs. 1d, 1e y 1f), ubicado en la región distal del ovario siendo una prolongación de la capa peritoneal que mantiene unidas las ovariolas. Seguido al filamento terminal se encuentra el gemario (Figs. 2e y 2f) el cual contiene los oogonios, distinguiéndose en esta zona células circulares y en la región basal de la ovariola se presenta el vitelario (Fig. 2e), siendo ésta la región donde se encuentran los oocitos desarrollados próximos a ser expulsados al oviducto común donde serán fertilizados. Se registró el número de oocitos que presentan las ovariolas de las tres especies (Tabla 2) encontrándose diferencias en la cantidad de oocitos presentes en el gemario y en el vitelario, teniendo esto una relación directa en cuanto a la oviposición de cada especie; para *H. charithonia* es de 8 a 15 huevos, en *I. alienassa* es de 1 a 6 huevos y de *A. equatoria* entre 100 y 300 huevos. Los oocitos en la ovariola son ovoides y aumentan su tamaño cuando pasan del gemario al vitelario (Fig. 3b).

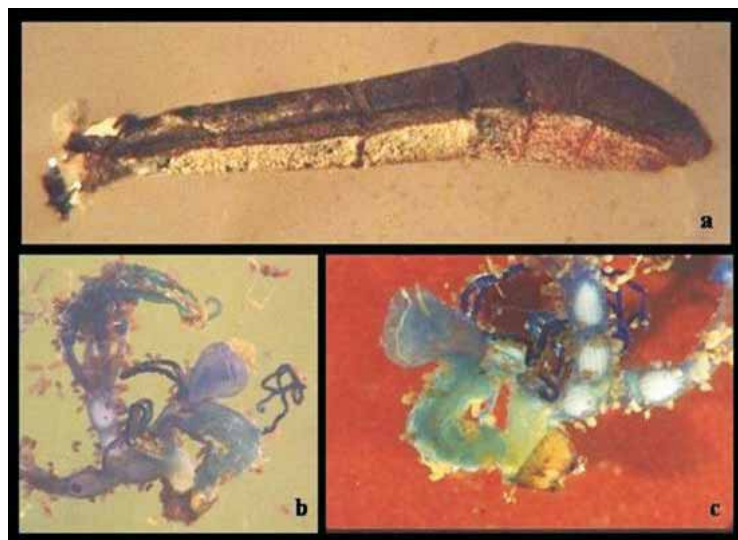


**Tabla 2.** Promedio del número de oocitos formados en el gemario y vitelario en las ovariolas de las tres especies de mariposas estudiadas.

	Especie		
	A. equatoria	I. alienassa	H. charithonia
Oocitos en formación en el Gemario	96po	16po	15po
Oocitos maduros en el Vitelario	47po	5et	16et

(po): oocitos por ovariola. (et): total de oocitos maduros en el vitelario.

Seguido a la base de las ovariolas se despliegan en cada ovario los oviductos laterales, los cuales desembocan en el oviducto común, este ducto continúa posteriormente hasta una invaginación conocida como cámara genital o vagina. Los espermatozoos son almacenados en la bolsa copulatrix y transferidos a la espermateca, en la cual se almacenan temporalmente antes de ser soltados a la vagina para la fertilización. Las tres especies de mariposas presentan diferencias en relación con la forma y tamaño de la bolsa copulatrix, pues en *A. equatoria* presenta una íntima engrosada y un par de glándulas accesorias (Fig. 2d), no se observa el ducto copulador que va desde el *ostium* hasta la bolsa copulatrix; en *I. alienassa* la bolsa es de consistencia membranosa (Figs. 4b y 4c), presentando un ducto copulador largo (Tabla 1) y en *H. charithonia* la bolsa copulatrix es la más notable de las tres especies, observándose una íntima engrosada, en esta especie también se presenta el ducto copulador.



**Figura 4.** Morfología general del sistema reproductor femenino de *Ithomia alienassa*. a) Vista lateral del abdomen. b) Vista general del sistema reproductor femenino. c) Vista general de la región anterior del sistema reproductor femenino, observándose los oviductos laterales, el oviducto común, la bolsa copulatrix y las glándulas accesorias.

En las tres especies la bolsa copulatrix converge con el oviducto común a través del ducto seminal el cual, en la región media, se presenta la bolsa seminal de forma vesicular; en *A. equatoria* la bolsa seminal se encuentra adherida en la región posterior al oviducto común, por debajo de la espermateca y de las glándulas accesorias (Figs. 1d y 2c); en *H. charithonia* la bolsa seminal se encuentra adherida al oviducto común en la región anterior, ésta se observa en la misma posición de la espermateca, pero por encima de las glándulas accesorias (Figs. 1f y 4c); para la especie *I. alienassa* la bolsa seminal se encuentra unida a la región media del oviducto común, por debajo de la espermateca y las glándulas accesorias (Figs. 1e y 3d).

La espermateca en las tres especies es una estructura especializada dividida en dos compartimentos iniciando con una vesícula de tamaño variable, seguido de un ducto largo y estrecho que se encuentra enrollado a un lado del oviducto común (Figs. 1d, 1e y 1f).

## CONCLUSIONES

En las tres especies de mariposas se presentan similitudes en cuanto al número de ovarios y ovariolas, así como las diferentes regiones accesorias para el almacenamiento y conservación del esperma del macho; las diferencias más notables están en el tamaño de los órganos, observándose claramente en la longitud de las ovariolas (de mayor tamaño en *A. equatoria*) y en una bolsa copulatrix más notable en *H. charithonia*.

De acuerdo a las evaluaciones realizadas en estas tres especies de mariposas, se puede determinar que el tipo de reproducción está dada por las condiciones del entorno en el cual viven, las cuales fueron evaluadas por VALENCIA (2004) en tres ecosistemas cafeteros, encontrando que la especie *I. alienassa* habita en mayor proporción en bosques o ambientes de penumbra; en cambio *H. charithonia* se encontró en mayor proporción en cafetales bajo sombrío, y la especie *A. equatoria* prefiere los espacios abiertos presentándose un mayor conjunto de esta especie en cafetales a libre exposición.

De acuerdo con la formación de los oocitos en el gemario, consideramos que el tipo de ovariola presente en las tres especies es del tipo politrófico (Fig. 2d) observándose una división en la parte superior de los oocitos con células nutricionales las cuales se encuentran fusionadas (BUNING, 1994).

En cada ovariola de *A. equatoria* se encontraron en promedio 96 oocitos en el gemario y 47 oocitos maduros en el vitelario; *H. charithonia* presenta en el gemario 16 oocitos por ovariola y cinco oocitos maduros en todo el vitelario; *I. alienassa* presenta igual número de oocitos formados en el gemario que *H. charithonia*, pero aumentan los oocitos presentes en todo el vitelario  $\pm 16$ .

El número de oocitos presentes en las ovariolas de *A. equatoria* (más de 300), indica que esta especie oviposita simultánea y de forma gregaria en comparación con las especies *I. alienassa* y *H. charithonia*, cuyas posturas son de forma individual y conforme maduran el resto de los huevecillos, por ello sus longevidades son mayores en campo.



## AGRADECIMIENTOS

Al Centro Nacional de Investigaciones de Café –Cenicafé–; a Luis Miguel Constantino, por la revisión del manuscrito.

## BIBLIOGRAFÍA

- BLUM, M. S., 1985.- *Fundamentals of Insect Physiology*. 1. Ed. Nueva York: John Wiley & Sons. 616 p.
- BUNING, J., 1994.- *The insect ovary. Ultrastructure, previtellogenic growth and evolution*. Londres (Inglaterra): Chapman Hall. 400 p.
- HOLDRIDGE, L. R., 1987.- *Zonas de vida de Colombia*. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. 121 p.
- ROMOSER, W. S. & STOFFOLANO, J. G., 1998.- *The science of entomology*. 4. ed. Boston: McGraw-Hill. 624 p.
- SCOBLE, M. J., 1995.- *The Lepidoptera; form, function and diversity*. Oxford: Oxford University Press. 404 p.
- SNODGRASS, R. E., 1935.- *Principles of insect morphology*. Nueva York: McGraw-Hill. 667 p.
- VALENCIA M., C., 2004.- *Las mariposas diurnas como indicadores biológicos en el cultivo del café*: Tesis de grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Manizales. 165 p.
- VALENCIA M., C., GIL, Z. & CONSTANTINO, L. M., 2005.- *Mariposas diurnas de la Zona Central Cafetera Colombiana. Guía de Campo*. Chinchiná, Colombia: Cenicafé. 244 p.
- WIGGLESWORTH, V. B., 1950.- *The principles of insect physiology*. Nueva York: E.P. Dutton and Co. 434 p.