

Diferencias genéticas y morfológicas de los estados inmaduros de dos razas de *Rhagoletis conversa* (Bréthes) (Diptera: Tephritidae) asociadas a plantas *Solanum*: distribución geográfica y posible origen en simpatria de una nueva especie

Genetics and morphological differences of immature stages of two races of *Rhagoletis conversa* (Bréthes) (Diptera: Tephritidae) associated to *Solanum* plants: geographic distribution and possible sympatric origin of a new species

DANIEL A. FRÍAS

Instituto de Entomología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Casilla 147, Santiago, Chile, e-mail: danfrias@umce.cl

RESUMEN

Se describen las diferencias alozímicas y morfológicas de los estados inmaduros de dos razas de *Rhagoletis conversa* (Bréthes) que desarrollan sus ciclos de vida en dos plantas del género *Solanum*. La variación genética y morfológica es mayor en la población asociada a *S. tomatillo* y presumiblemente es la especie ancestral de la cual habría surgido la raza asociada a *S. nigrum* que a la luz de los resultados correspondería a una nueva especie que se habría originado en simpatria.

Palabras clave: diferencias genéticas y morfológicas, especiación simpátrica, estados inmaduros, *Rhagoletis conversa*, *Rhagoletis brncici*.

ABSTRACT

The allozymic and morphological immature stages were described in two host races of *Rhagoletis conversa* (Bréthes) that live on *Solanum* plants. The genetics and morphology variation is bigger in this population associated to *S. tomatillo* that probably is the ancestral species. The host race associated to *S. nigrum* correspond to other specie of sympatric origin.

Key words: genetic and morphological differences, immature stages, *conversa*, sympatric speciation, *Rhagoletis brncici*.

INTRODUCCIÓN

El género *Rhagoletis* Loew (Diptera: Tephritidae) posee 65 especies descritas. Estas especies se distribuyen en las zonas Neártica, Paleártica y Neotropical (Foote 1981, Foote et al. 1993, Hernández-Ortíz 1993, Macpherson et al. 1997, Smith & Bush 1997, Norrbom et al. 1998, Hernández-Ortíz & Frías 1999). Para América han sido citadas 37 especies, algunas de ellas poseen importancia económica, tales como: *R. pomonella*, o mosca de la manzana; *R. completa*, o mosca del nogal; *R. nova*, o mosca del pepino; *R. tomatis* o, o mosca del tomate (Bush 1966, Frías 1981, 1986, 1992, Frías et al. 1991). En Chile se han descrito 4 de estas especies, todas ellas pertenecientes al grupo nova y asociadas a Solanáceas. Estudios sobre la distribución

estacional y actividad diaria en poblaciones de *R. conversa* muestran que sus ciclos vitales están desfasados estacionalmente y adaptados a la fenología de sus plantas hospederas habiéndose detectado "razas huéspedes" muy similares genéticamente (Frías 1982, 1989, Frías et al. 1984).

La mayoría de los trabajos sobre taxonomía y biología evolutiva de estas especies se han efectuado en adultos, existiendo comparativamente muy poca información de los estados inmaduros y la mayoría de ellos se refieren a larvas de tercer estado (Persson 1963, Steck & Wharton 1986, 1988, Steck et al. 1990, White & Elson-Harris 1992, Frías et al. 1993, Selivon & Perondini 1998, Frías & Alviña en prensa). Es muy importante conocer mas antecedentes sobre la morfología de estados inmaduros, ya que los adultos de estas

especies son morfológicamente y genéticamente muy parecidos. En *Rhagoletis* se reconocen una gran cantidad de especies sinmórficas y algunas de ellas han divergido en simpatría presentando variaciones ecológicas y conductuales como por ejemplo *R. nova* (Frías 1988, 1992) y *R. pomonella* (Bush 1966, 1992, Bush et al. 1989).

En este trabajo se propone estudiar, en los estados inmaduros, la variación morfológica y comparar la variación genética de dos poblaciones que desarrollan sus ciclos vitales en *Solanum nigrum* y *Solanum tomatillo* que hasta la fecha han sido consideradas como "razas huéspedes". Sin embargo, estudios cromosómicos de bandejo C y estudios de ADN genómico con enzimas de restricción muestran diferencias cariotípicas y genéticas tanto en la heterocromatina constitutiva como en la composición genética, respectivamente. Estas evidencias sugieren que estas poblaciones pueden corresponder a especies simpátricas. A nivel de los adultos existe un gran polimorfismo que ha impedido su separación (Frías et al. 1987, Frías 1992). En los estados inmaduros de *R. tomatitis* y en *Rhagoletis* sp. (Frías et al. 1993, Frías & Alviña en prensa) se han encontrado caracteres morfológicos tanto en los huevos como en las larvas que han permitido la identificación de estas especies. Por este motivo, en este trabajo se estudió la morfología de los estados inmaduros con la intención de encontrar caracteres que permitan dilucidar el verdadero estatus taxonómico de estas razas y discutir sobre su origen aportando así al conocimiento de la biología evolutiva del género *Rhagoletis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Distribución geográfica de los hospederos

Para determinar la distribución geográfica de estas razas se efectuaron recolectas desde la I Región hasta XI Región, y sur de Argentina (Bariloche). Estas recolectas abarcaron todo el rango de distribución de ambos hospederos en Chile. *Solanum tomatillo* es una planta que se distribuye entre las Regiones IV (Coquimbo) y VI (Colchagua), preferentemente en la precordillera de los Andes en las laderas de los cerros en terrenos degradados, siendo muy abundante en la Región Metropolitana en los siguientes lugares: cerro San Cristóbal, cerros de La Reina, cerros de Chena, Maipú, Las Condes, Quebrada de Apoquindo, Quebrada de Peñalolén, y Cajón del Maipo. Esta es una especie endémica de origen chileno (Hoffmann 1978, Navas 1979). En el caso de *S. nigrum*, la distribución es más amplia, a lo

largo de casi todo el país, desde las regiones I a la XI y según Navas (1979) y Muñoz (1980) se trataría de una planta nativa de Europa, adaptada en Chile a climas templados. En la Región Metropolitana es posible encontrarla en casi los mismos ambientes de *S. tomatillo*. Algunos de los lugares donde ambas plantas se sobreponen en sus rangos de distribución geográfica son: cerro San Cristobal, Pudahuel, Batuco, Maipú, La Reina, Cajón del Maipo, y sitios eriazos (Navas 1979). Esta planta es muy abundante en el sur de Chile en ambientes intervenidos de la región costera. Las localidades de recolecta en este estudio fueron las siguientes: Arica, valle de Azapa, valle de Lluta, Antofagasta, sector agrícola de la Chimba, Copiapó, Coquimbo, La Serena, Los Andes, Collina, Pudahuel, Valparaíso, Viña del Mar, Las Cruces, Isla Negra, Algarrobo, Con-Con, Maipú, Farellones, San Gabriel, La Obra, Las Vertientes, El Manzano, Las Lajas, Las Vizcachas, Rancagua, Talca, Linares, Curanipe, Lota, Llico, Arauco, Angol, Cerro Nielol, Valdivia, Puerto Montt, Isla de Chiloé, y Bariloche (Argentina). La recolecta de adultos y estados inmaduros se realizó durante el periodo reproductivo de *R. conversa*, entre los meses de agosto y marzo (Frías et al. 1984, Frías 1989). Con el fin de obtener estados inmaduros y estimar el porcentaje de plantas parasitadas en cada localidad, se recolectaron entre 50 a 200 frutos de cada hospedero y se registró el número de huevos por frutos.

Con la finalidad de determinar la densidad de las plantas huéspedes y asociarla con la abundancia de ambas razas en algunos lugares de simpatría y alopatría de estos dípteros, se contabilizó el número de plantas en cuadrantes de 100 m² determinándose el grado de parasitismo de ellas. Para ello se recolectaron 200 frutos de cada planta registrándose el número de huevos por fruto. Ello permitió determinar el porcentaje de plantas parasitadas y no parasitadas. La elección de los cuadrantes no fue al azar sino que se eligieron, en cada localidad, los lugares donde había una mayor densidad de plantas.

Estudios morfológicos y genéticos

Para los estudios morfológico y genéticos, huevos, larvas y pupas de los tres estados se obtuvieron de los frutos de las plantas huéspedes procedentes de las localidades de Las Vertientes, Las Vizcachas y Pirque. En el laboratorio, los frutos se pusieron en el interior de bandejas plásticas de donde diariamente se recolectaron las larvas de tercer estado y las pupas. Para las larvas de primer y segundo estado, debido a su menor tamaño

y al hecho que están en el interior del fruto lo que las hace más difíciles de obtener, se empleó la siguiente metodología. Los frutos verdes se rompieron en trozos y fueron introducidos en un vaso de precipitado de 100 ml con agua a temperatura ambiente. Bajo estas condiciones, las larvas salían de los tejidos vegetales y al cabo de 1 h fueron extraídas con un pincel desde el fondo del vaso de precipitado, o bien fueron recolectadas en una rejilla fina. Para su conservación y posterior estudio, ya sea al microscopio electrónico de barrido (MEB) como al microscopio óptico (MO), las larvas de los tres estados se hirvieron durante 3 min y luego se fijaron en alcohol de 70°. Con el fin de aclarar las estructuras y estudiar su morfología, las larvas se introdujeron en una solución de KOH al 1 % en frío durante 12 h, luego de lo cual se siguió la metodología de Steck et al. (1990) para el montaje de cada estructura. Del sistema respiratorio se analizaron los espiráculos anteriores y los espiráculos posteriores. Del sistema digestivo se examinó el esqueleto cefalofaríngeo (Fig. 1) donde específicamente se analizaron el diente apical, la región ventral posterior de la mandíbula, el tubérculo mandibular, el diente preapical, el esclerito labial, el esclerito hipofaríngeo, la barra parastomal, los cuernos dorsales y los cuernos ventrales. Además, tanto en el MO como en el MEB se analizaron las siguientes estructuras: órganos sensoriales ora-

les, rebordes orales, dientes preorales, espiráculos anteriores y espiráculos posteriores. La nomenclatura utilizada fue aquella propuesta por Persson (1963), Berg (1979), Carroll & Wharton (1989), White & Elson-Harris (1992), Steck & Wharton (1988) y Frías et al. (1993).

Con el fin de establecer comparaciones interraciales se establecieron los siguientes índices:

(1) Índice de las mandíbulas (IM), A/B donde A corresponde a la abertura máxima de las mandíbulas medida desde la porción apical de los dientes superior e inferior, y B a la profundidad de la concavidad mandibular (Fig. 1).

(2) Índice de los espiráculos posteriores (IEP) que se calculó como amplitud/longitud, (A/L) de la abertura espiracular.

En los huevos se midió la longitud del filamento (LFH) de la región anterior en cuyo extremo se ubica la micropila. En las larvas se midió la longitud del esqueleto cefalofaríngeo (LAC) desde la porción distal del diente apical de la mandíbula hasta la región posterior de los cuernos ventrales (Fig. 1), así como la longitud y la amplitud de las aberturas estigmáticas. Además se contabilizó el número de túbulos de los espiráculos anteriores en larvas de tercer estado y número de dientes preorales. En las pupas se contabilizó el número de túbulos de los espiráculos anteriores. En el caso de las pupas de *S. tomatillo* se contó

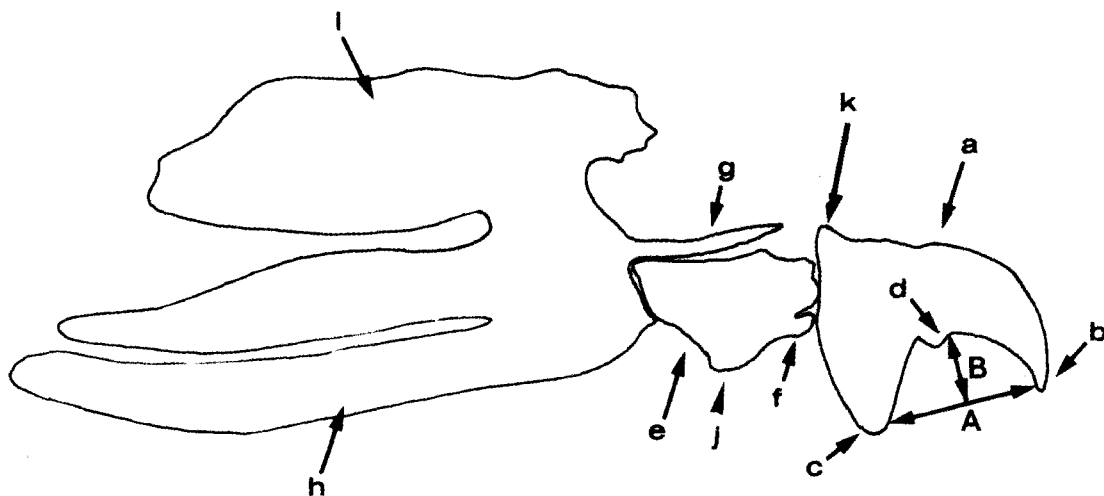


Fig. 1. Esquema del esqueleto cefalofaríngeo de *Rhagoletis conversa*; A = máxima abertura de la mandíbula, B = profundidad de la cavidad mandibular. (a) Mandíbula, (b) diente apical de la mandíbula, (c) porción ventral posterior de la mandíbula, (d) diente preapical, (e) esclerito hipofaríngeo, (f) esclerito labial, (g) barra parastomal, (h) cuerno ventral, (i) cuerno dorsal, (j) tubérculo del esclerito hipofaríngeo, y (k) tubérculo de la mandíbula.

Cephalopharyngeal skeleton of *Rhagoletis conversa*; A = maximal aperture of the mandible; B = depth of the mandibular cavity; (a) the mandible, (b) the apical tooth of mandible, (c) posterior ventral region of the mandible, (d) the preapical tooth, (e) the hypopharyngeal sclerite, (f) the labial sclerite, (g) the parastomal bar, (h) the ventral cornu, (i) the dorsal cornu, (j) the tubercle of the hypopharyngeal sclerite, and (k) the tubercle of the mandible.

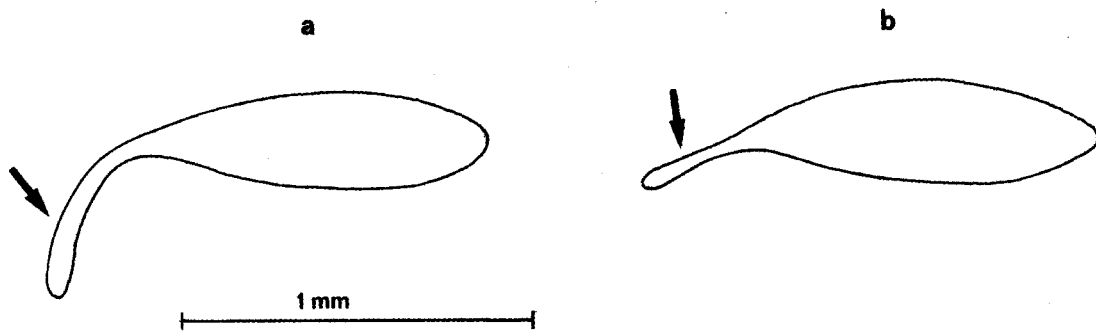


Fig. 2. Huevos de *R. conversa*. (a) Raza de *S. tomatillo*, (b) raza asociada a *S. nigrum*. En ambos casos se indica con una flecha el filamento del huevo.

Eggs of *R. conversa*. (a) Race of *S. tomatillo*, (b) race of *S. nigrum*. The filament of the egg is indicated with an arrow in both cases.

por separado el número de túbulos de acuerdo al color de las pupas (blancas, café caro y café oscuras). En cada caso se calcularon promedios y sus variancias, y la significancia estadística se evaluó a través de pruebas t de Student.

Con la finalidad de confeccionar un zimograma comparativo de ambas poblaciones y estimar la variación genética entre éstas, en las pupas se estudiaron los siguientes 16 sistemas enzimáticos mediante el método electroforético en gel horizontal de almidón según Huettel & Bush (1972), Ayala et al. (1972) y Frías (1982): fosfoglucomutasa, PGM; fosfoglucoisomerasa, PGI; fumarasa, FUM; glutámico oxalacético transaminasa, GOT; malato dehidrogenasa, MDH; enzima málica, ME; alfa glicerol, 3 fosfato dehidrogenasa, α GDH; lactato dehidrogenasa, LDH; isocitrato dehidrogenasa, IDH; aldolasa, ALD; hexoquinasa, HEX; fosfatasa ácida, ACPH2; aldehído oxidasa, AO; gliceraldehído 3 fosfato dehidrogenasa, G3PDH; estearasa, EST2 y EST3. El zimograma y los cálculos de heterocigosidad promedio se efectuaron en base a los datos de movilidad y frecuencias génicas obtenidos por Frías (1982). En la coloración de las enzimas se utilizó la metodología propuesta por Shaw & Koen (1968).

Especificidad del hospedero

En cada localidad de recolecta, y mediante el uso de la longitud del filamento de los huevos como marcador con el fin de estimar el grado de especificidad de hospedero en ambas razas, se analizó la morfología de los huevos midiendo su longitud total, longitud del filamento y longitud del cuerpo del huevo, tanto en simpatria como en alopatría.

Para ello se emplearon dos metodologías. Por una parte, se recolectaron hembras grávidas durante el periodo reproductivo de cada raza (Frías 1989) con mallas entomológicas sobre sus respectivos hospederos, luego se disectaron y extrajeron los huevos de sus ovarios y se analizó su morfología midiendo los caracteres ya indicados. Por otra parte, se recolectaron frutos infectados de cada hospedero y luego, bajo la lupa, se extrajeron los huevos y se analizaron morfológicamente según descripción anterior.

RESULTADOS

Descripción y diferencias morfológicas

Huevos. Los huevos de *R. conversa* se caracterizaron por presentar un filamento en su región anterior en cuyo extremo apical se ubica la micropila. Esta es una estructura significativamente más corta en la raza asociada a *S. nigrum* ($t = 70,06$, $n = 368$, $P < 0,05$). La longitud del cuerpo del huevo fue estadísticamente similar en ambas razas ($t = 8,28$, $n = 368$, $P < 0,05$). La longitud total del huevo fue significativamente más corta en la raza de *S. nigrum* ($t = 30,38$, $n = 368$, $P < 0,05$, Fig. 3, Tabla 1).

En la Fig. 3 aparecen los promedios, rangos, desviaciones estándar, y errores estándar de la longitud del filamento de los huevos en poblaciones alopatricas de ambas razas (excepto Los Andes donde sólo se recolectó la raza *S. tomatillo* y Pucón y Algarrobo donde sólo se encuentra la raza asociada a *S. nigrum*). En alopatría se observa un gran desplazamiento del carácter, es decir, filamentos cortos en Pucón y Algarrobo y fila-

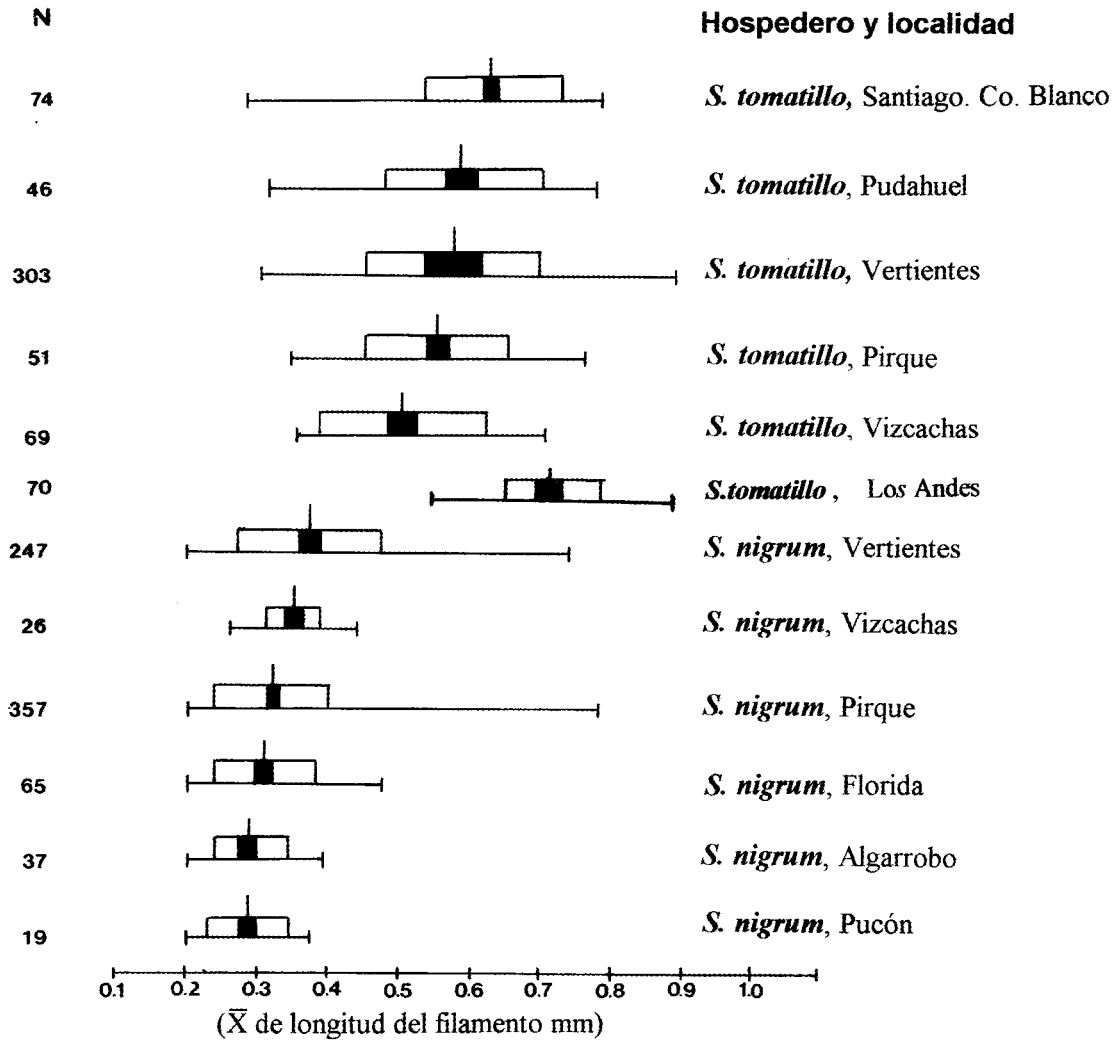


Fig. 3. Promedios de longitud del filamento de los huevos recolectados en frutos parasitados en poblaciones simpátricas y alopátricas de *R. conversa* que se asocian a *S. tomatillo* y a *S. nigrum* en diferentes localidades. Se indica además el número de huevos analizados en cada localidad y hospedero. La línea vertical corresponde al promedio, la línea horizontal al rango, el rectángulo blanco a la desviación estándar y el rectángulo negro al error estándar.

Mean length of eggs filaments collected on fruits of sympatric and allopatric *R. conversa* populations associated to *S. tomatillo* and to *S. nigrum* in different localities. The number of eggs of each female and analyzed and dates of collection are indicated. Vertical lines represent averages; horizontal lines represent observed ranges; white rectangles represent standard deviations; black rectangles represent the standard errors.

mentos muy largos en Los Andes. En la Fig. 3 se muestran además los resultados en poblaciones simpátricas donde coexisten ambas razas (Cerro Blanco, Pudahuel, Vertientes, Pirque, Vizcachas y Florida). En ellas se observa en cambio un aumento de los rangos y variancias, modificándose los promedios, aumentando en los huevos recolectados en frutos de *S. nigrum* y disminuyendo en los huevos recolectados en frutos de *S. tomatillo*. En la Fig. 4 se observan los promedios de longitud del filamento de los huevos proveniente

de los ovarios de hembras recolectadas sobre *S. tomatillo* y sobre *S. nigrum* en las Vertientes. Como se aprecia, sobre el hospedero *S. nigrum* fue recolectada una hembra en cuyos ovarios había huevos de filamento largo (se indica con una flecha) perteneciente a la raza de *S. tomatillo* y sobre *S. tomatillo* se recolectaron dos hembras con filamentos cortos de la raza de *S. nigrum* (se indican con una flecha). Esto sugiere que algunas hembras de ambas razas oviponen en un hospedero que no es el habitual, lo que explica la dismi-

TABLA 1

Mediciones corporales (mm) y diferencias morfológicas de huevos, larvas y pupas de *R. conversa* asociadas a *S. tomatillo* y *S. nigrum*

Body measures (mm) and morphological differences of eggs, larvae and pupae of *R. conversa* associated to *S. tomatillo* and *S. nigrum*

		<i>S. tomatillo</i>	<i>S. nigrum</i>
Huevos n = 180 (ST) n = 200 (SN)	LFL	0,60 ± 0,05	0,33 ± 0,02
	Longitud total	1,81 ± 0,09	1,47 ± 0,12
Larvas	Estado 1 LAC Esclerito hipofaríngeo	0,40 ± 0,03 Largo y esclerizado	0,17 ± 0,01 Corto y poco esclerizado
	Estado 2 LAC IM IEP Dientes preorales extras	0,54 ± 0,02 2,5 0,16 No	0,50 ± 0,01 1,7 0,26 Si (tres ordenados linealmente en el borde de las carinas)
	Estado 3 LAC IM IEP Número de carinas Número dientes preorales Número de túbulos en los espiráculos anteriores	0,96 ± 0,06 2,6 0,16 6,0 3-4 12 - 22	0,7 ± 0,03 2,0 0,20 5,0 4-5 (3 accesorios) 17 - 24
Pupas	Color	Blancas, café claras y oscuras	Café oscuras
	Forma del espiráculo anterior	Unilobulado	Bilobulado
	Número de túbulos	14-18	18-20

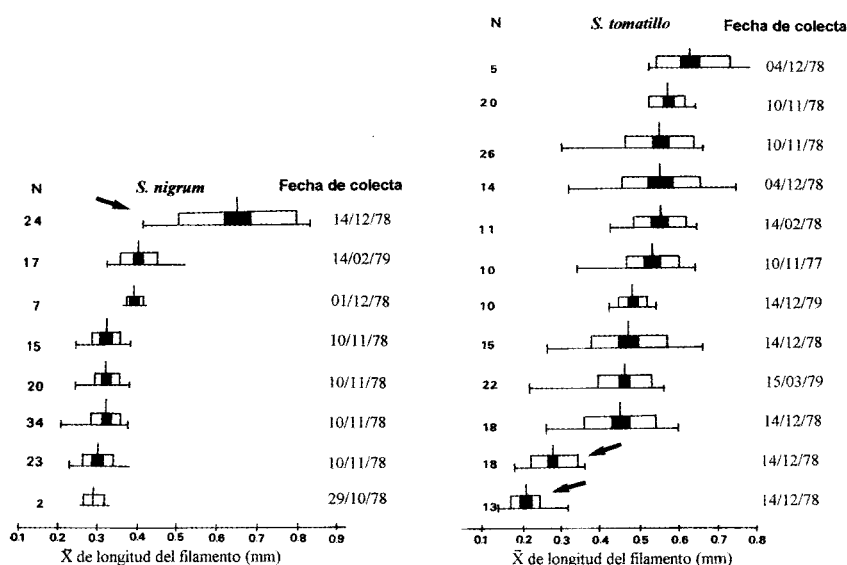


Fig. 4. Promedio de longitud del filamento de los huevos de hembras recolectadas sobre *S. tomatillo* y sobre *S. nigrum* en Las Vertientes en condición de simpatria. Se indican el número de huevos analizados en cada hembra y las fechas de recolecta. La línea vertical corresponde al promedio, la línea horizontal al rango, el rectángulo blanco a la desviación estándar y el rectángulo negro al error estándar.

Mean length of egg filaments of females collected on *S. tomatillo* and on *S. nigrum* in Las Vertientes in sympatric condition. The number of eggs of each female and analyzed and dates of collection are indicated. Vertical lines represent averages; horizontal lines represent observed ranges; white rectangles represent standard deviations; black rectangles represent the standard errors.

nución del desplazamiento del carácter en simpatría (Fig. 3). En las Figs. 5 y 6 se observan los promedios de longitud del filamento de los huevos de hembras recolectadas sobre ambos hospederos en Las Vizcachas y en Pirque, respectivamente. En ambos casos se observa que en cada localidad las diferencias de longitud del filamento de los huevos son estadísticamente significativas y no se registraron oviposiciones cruzadas, probablemente debido a que la distancia que se-

paraba a ambos hospederos era, en cada localidad de uno y dos kilómetros, respectivamente. En cambio en Las Vertientes las plantas estaban muy próximas, separadas por 1 a 10 m de distancia.

Larvas. Las larvas de los tres estados en ambas razas fueron distintas en morfología y longitud del aparato cefalofaríngeo (Fig. 7), siendo más corto en la raza de *S. nigrum*, diferenciándose además en cuanto al índice mandibular y al índice de los espiráculos posteriores. Además, se obser-

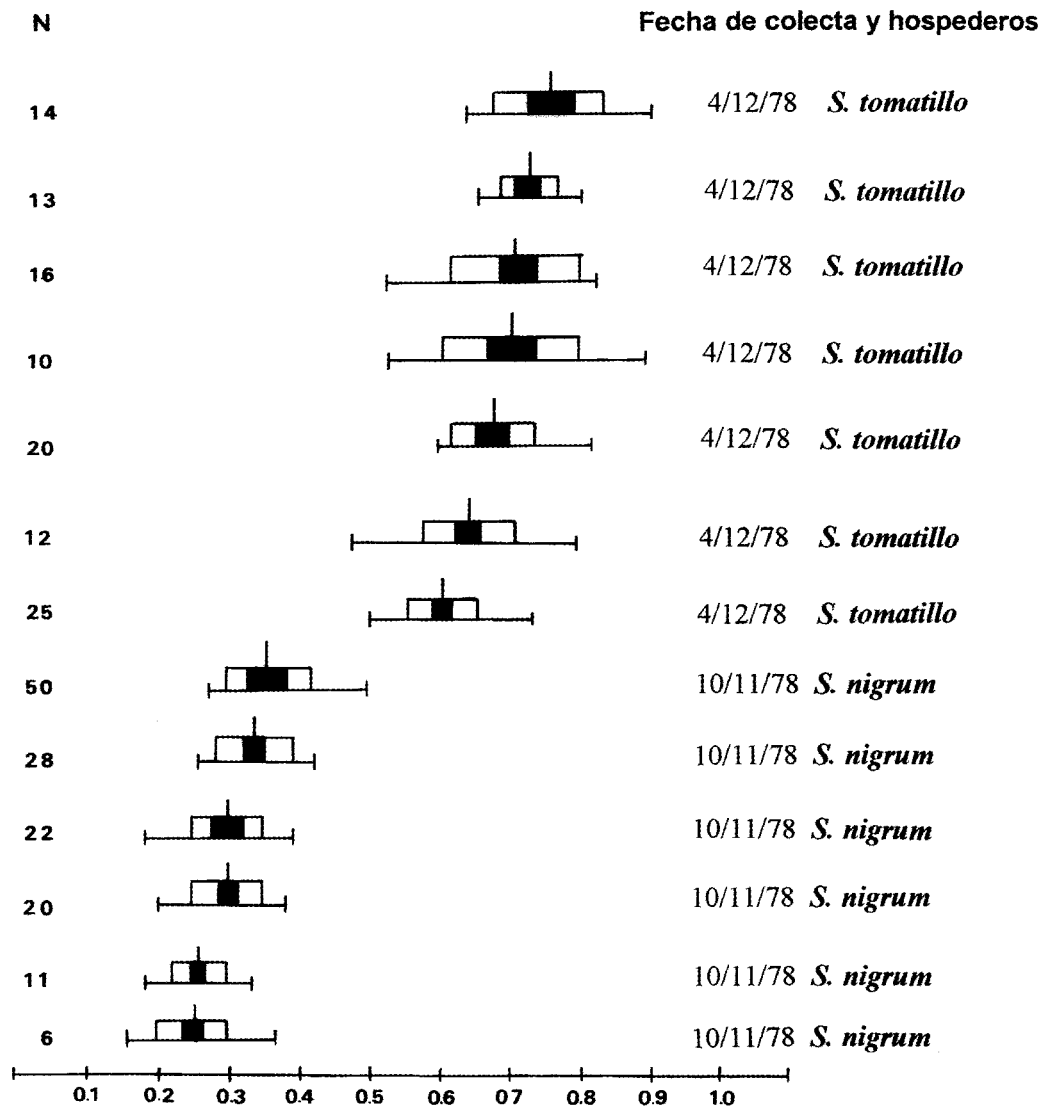


Fig. 5. Promedio de longitud del filamento de los huevos de hembras recolectadas sobre *S. tomatillo* y sobre *S. nigrum* en Las Vizcachas. Se indican el número de huevos analizados en cada hembra y las fechas de recolecta. La línea vertical corresponde al promedio, la línea horizontal al rango, el rectángulo blanco a la desviación estándar y el rectángulo negro al error estándar. Se indican además las fechas de muestreo y hospedero.

Mean length of eggs of females collected on *S. tomatillo* and on *S. nigrum* in Las Vizcachas. The number of eggs of each female and analyzed and dates of collection are indicated. Vertical lines represent averages; horizontal lines represent observed ranges; white rectangles represent standard deviations; black rectangles represent the standard errors.

varon diferencias en el número de dientes preorales, número de rebordes orales o carinas, forma y número de túbulos de los espiráculos anteriores, y coloración de las pupas (Tabla 1). A continuación se describen las principales diferencias para las larvas de cada estado de desarrollo que no están resumidas en la Tabla 1.

Larvas de primer estado. En las poblaciones de *S. nigrum*, el esclerito hipofaríngeo es muy corto y además es diferente la morfología de los cuernos ventrales y dorsales, siendo éstos muy poco esclerizados y poco desarrollados; el diente apical es más largo y agudo y el diente preapical es muy curvo y ubicado de la región media de la abertura mandibular (Fig. 7a, 7d, 15b).

Larvas de segundo estado. En las larvas de *S. nigrum* el diente apical es muy aguzado y poco esclerizado con un diente preapical ubicado en la región media de la abertura mandibular. En cambio en la raza de *S. tomatillo* el diente preapical se ubica más cerca del diente apical. La región posterior ventral de la mandíbula también es aguzada y poco esclerizada. El tubérculo de la región dorsal posterior de la mandíbula es corto. El esclerito hipofaríngeo en la raza de *S. nigrum* es corto y bastante esclerizado, similar a la región posterior de las mandíbulas. Los cuernos dorsal y ventral son poco esclerizados y bifurcados. La barra parastomal está ausente en la raza de *S. nigrum* pero presente en la raza de *S. tomatillo* (Fig. 7b y 7e). Los dientes preorales en la raza de *S. tomatillo* se ubican muy cerca del costado interno de los órganos sensoriales orales, mientras que en la otra raza se ubican bajo el mencion-

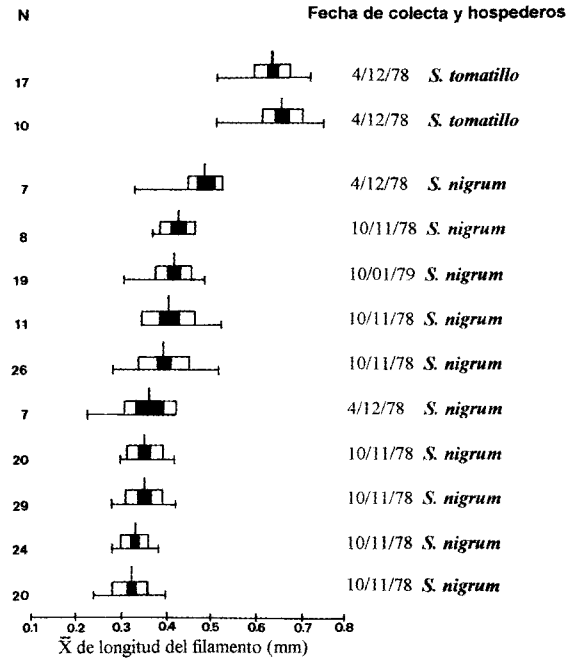


Fig. 6. Promedio de longitud del filamento de los huevos de hembras recolectadas sobre *S. tomatillo* y sobre *S. nigrum* en la localidad de Pirque. Se indican el número de huevos analizados en cada hembra y las fechas de colecta. La línea vertical corresponde al promedio, la línea horizontal al rango, el rectángulo blanco a la desviación estándar y el rectángulo negro al error estándar.

Mean length of egg filaments of females collected on *S. tomatillo* and on *S. nigrum* in the locality of Pirque. The number of eggs of each female and analyzed and dates of collection are indicated. Vertical lines represent averages; horizontal lines represent observed ranges; white rectangles represent standard deviations; black rectangles represent the standard errors.

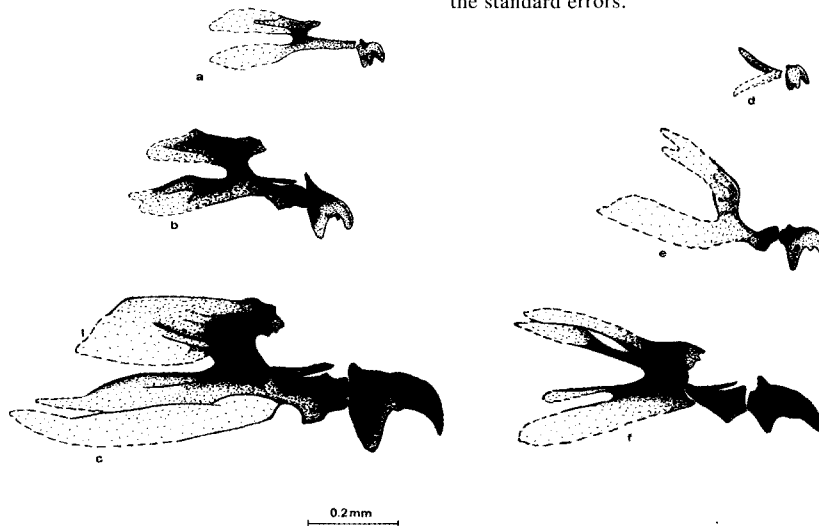


Fig. 7. Aparato cefalofaríngeo de la raza *R. conversa* asociada a *S. tomatillo* (a, b, c) y a *S. nigrum* (d, e, f).

Cephalofaringeal apparatus of the *R. conversa* race associated to *S. tomatillo* (a, b, c) and to *S. nigrum* (d, e, f).

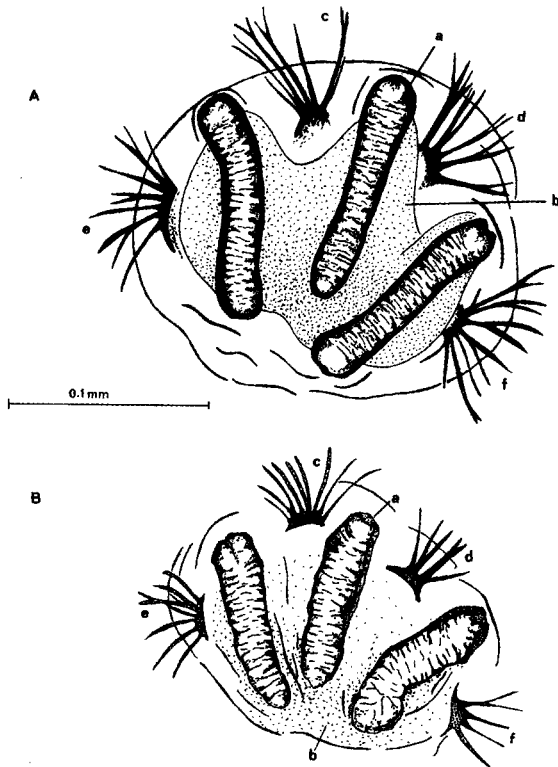


Fig. 8. Espiráculos posteriores de larvas de segundo estado de la raza asociada a (A) *S. tomatillo* y de la raza asociada a (B) *S. nigrum*. En cada caso se observan (a) las aberturas estigmáticas, (b) la placa espiracular, (c y d) los cepillos espiraculares mediales, y (e y f) los cepillos interespiraculares laterales. Las diferencias se mantienen proporcionalmente en larvas de tercer estado en ambas razas.

Posterior spiracles of second instar larvae races associated to (A) *S. tomatillo* and to (B) *S. nigrum*. Figures show (a) the spiracular slit, (b) the spiracular plate, (c and d) medial spiracular bristles, and (e and f) lateral interspiracular bristles. In both races the differences are proportional among third instar larvae.

nado órgano (Fig. 9 y 10). Los órganos sensoriales orales están constituidos por una sola papila en ambas razas. Los espiráculos posteriores son muy diferentes en *S. nigrum*: las aberturas estigmáticas son de una longitud menor y mucho menos esclerotizadas, y estas diferencias se mantienen proporcionalmente en las larvas de tercer estado (Fig. 8A y 8B).

Larvas de tercer estado. El aparato cefalofaríngeo en ambas poblaciones es más esclerotizado que en las larvas de segundo estado, manteniéndose las diferencias interpopulacionales en morfología e índices de las mandíbulas (Fig. 7c y 7f). En la raza de *S. nigrum* la barra parastomal es corta y muy poco

esclerotizada, y el tubérculo del esclerito hipofaríngeo se ubica en la región subterminal de la región anterior del esclerito que es corto y triangular en vista dorsal. En este estado, y en relación a los espiráculos posteriores, se mantienen las diferencias de longitud y esclerotización ya descritas para las larvas de segundo estado. En la raza de *S. tomatillo* las placas

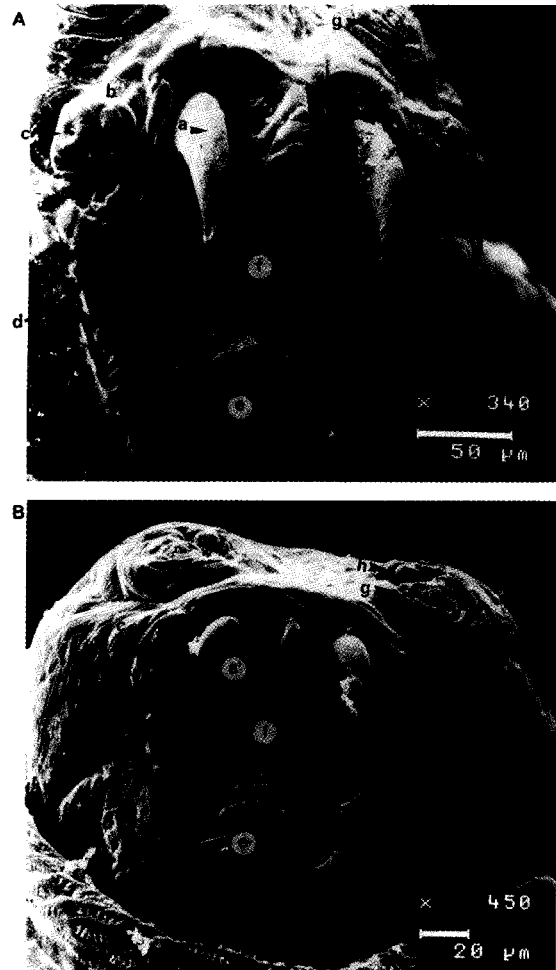


Fig. 9. Vista frontal de la región anterior de (A) una larva de tercer estado de la raza de *S. tomatillo* y (B) de una larva de segundo estado de la raza asociada a *S. nigrum*. Se observa (a) diente apical y (a') diente preapical, (b, b') dientes preorales y dientes preorales accesorios (sólo en la raza de *S. nigrum*), (c) órgano sensorial oral, (d) rebordes orales o carinas, (e) labio, (f) abertura bucal, (g) órganos sensoriales de las maxilas y (h) órganos sensoriales de las antenas.

Front view of the anterior region of the (A) third instar larvae of the *S. tomatillo* host race, and (B) the second instar larvae associated to *S. nigrum*. Figures show (a) the apical tooth and (a') the preapical tooth, (b, b') preoral teeth and preoral accessories (only in the host race associated to *S. nigrum*), (c) the oral sensory organ, (d) oral ridges, (e) the labium, (f) the mouth opening, (g) the maxillary sensory organ, and (h) the antennal sensory organ.



Fig. 10. Ampliación de la región frontal lateral izquierda de las larvas de la Fig. 9. (A) Raza de *S. tomatillo* y (B) raza de *S. nigrum*. (a) Dientes perórales, (b) dientes preorales accesorios y (c) órgano sensorial oral.

Enlargement of lateral front left view of larvae shown in Fig. 9. (A) *Solanum tomatillo* host race and (B) *S. nigrum* host race; (a) preoral teeth, (b) accessory preoral teeth, and (c) oral sensory organ.

espiraculares están bien delineadas y esclerizadas (Fig. 8). El número de rebordes orales o carinas es menor en la raza de *S. nigrum*, presentando además una morfología diferente, siendo los pliegues menos voluminosos (Fig. 9 y 10, Tabla 1). En relación a los espiráculos anteriores, éstos son unilobulados en las larvas del hospedero *S. tomatillo* y bilobulados en el hospedero *S. nigrum*, siendo el número de túbulos menor en *S. tomatillo* (12-22 túbulos) que en *S. nigrum* (17-24 túbulos, Fig. 11, Tabla 1).

Pupas. En la raza de *S. tomatillo* las pupas son blancas café claro y café oscuro, mientras que en la otra raza las pupas son siempre café oscuro. Los espiráculos anteriores son unilobulados en la raza de *S. tomatillo* y bilobulados en la raza de *S.*

nigrum existiendo una diferencia en el número de túbulos que es estadísticamente significativa ($t = 10,48$, $n = 52$, $P < 0,05$, Tabla 1).

Diferencias genéticas

La Fig. 12 muestra la movilidad de 16 sistemas enzimáticos en pupas de *R. conversa* que se asocian a *S. tomatillo* en las localidades de Las Vertientes y Las Vizcachas, así como de una población asociada a *S. nigrum* de la localidad de Pirque. Se observa que para todos los sistemas estudiados no hay diferencias en la movilidad enzimática. Solo siete de ellos correspondieron a loci polimórficos en la población asociada a *S. tomatillo*: PGM, FUM, GOT, MDH, α GDH, EST2 y EST3. En la población de *S. nigrum* se registró que uno de esos loci, FUM, es monomórfico, habiéndose fijado el alelo de mayor frecuencia. La heterocigosidad promedio fue mayor en las poblaciones asociadas a *S. tomatillo* (0,104 y 0,147 en Las Viscachas y Las Vertientes, respectivamente) comparado con aquellas de *S. nigrum* en la localidad de Pirque (0,088).

Distribución geográfica

Los datos de distribución geográfica (Fig. 13) indican que la raza de *S. tomatillo* se distribuye entre la VI y V Regiones preferentemente en la región precordillerana sobreponiéndose en esos lugares con la distribución de la raza de *S. nigrum* que posee una mayor distribución geográfica entre las regiones IV a la XI, preferentemente en zonas costeras e intervenidas por el hombre, usualmente en bordes de los caminos o bien asociándose con plantas autóctonas como el Quilo, *Baccharis*, *Tessaria*, u otros arbustos endémicos y también a malezas, preferente zarzamora.

En la Tabla 2 se muestra la densidad de cada planta hospedera en diferentes localidades. Para *S. tomatillo* se observa una mayor densidad de plantas en las localidades de Las Vertientes y Las Vizcachas, correspondientes a la Región Metropolitana. La densidad poblacional de esta planta disminuye hacia el sur, hacia el norte, y hacia las regiones costeras. *Solanum nigrum* por el contrario, es más abundante en el sur de Chile (Lirquén, Concepción), recolectándose además en la costa de la zona central (e.g., Algarrobo), y sus poblaciones son menos densas en las zonas de superposición con *S. tomatillo* (Pirque, Las Vertientes y Las Vizcachas, Tabla 2).

En la Fig. 14 se muestran los porcentajes de plantas infectadas en aquellas zonas donde ambos

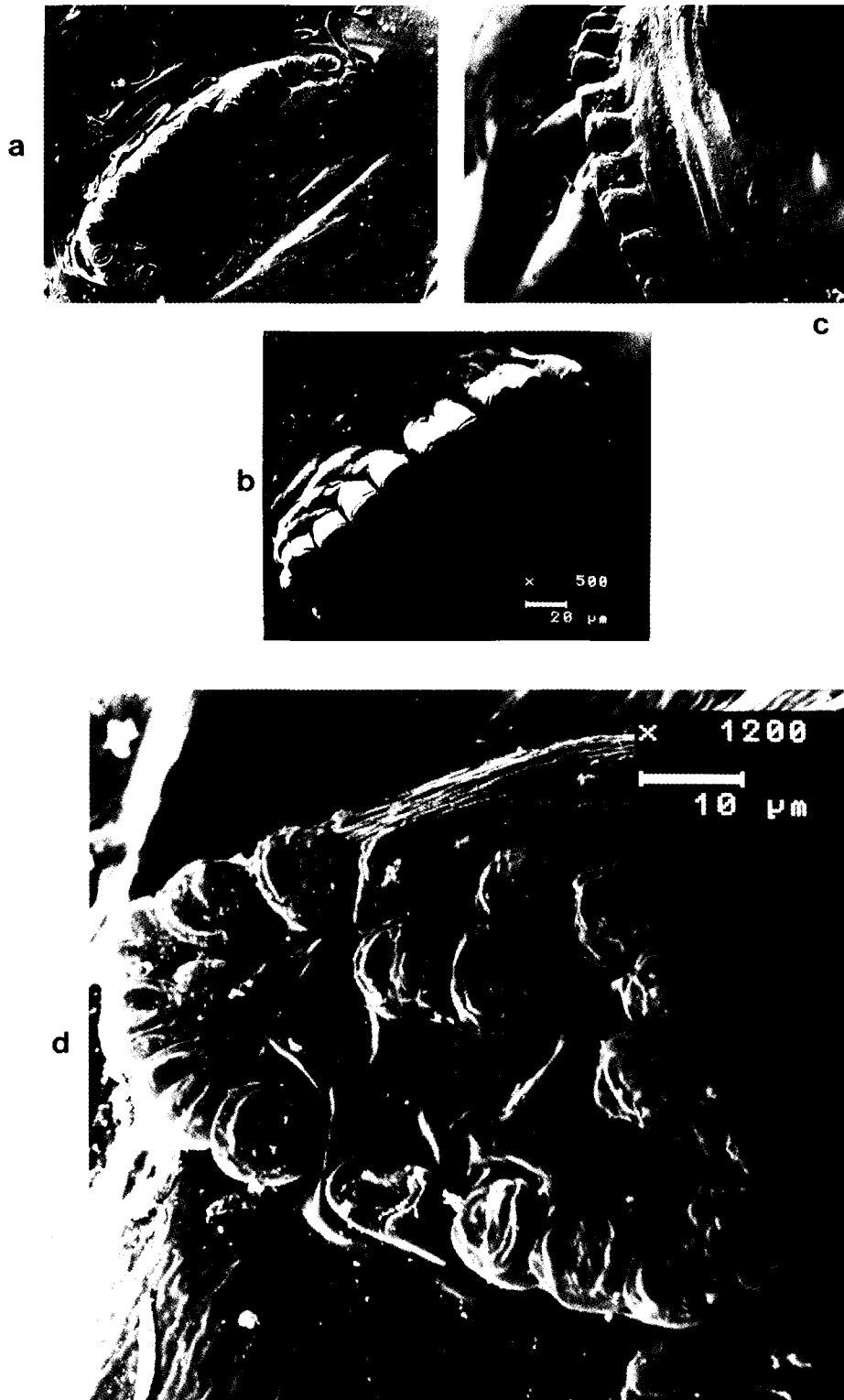


Fig. 11. Espiráculos anteriores de la raza asociada a *S. tomatillo*, en vista frontal (a y b) y (c) en posterior; (d) espiráculos anteriores de la raza asociada a *S. nigrum* en vista frontal.

Anterior spiracles of the host race associated to *S. tomatillo* in frontal (a and b), and posterior (c) view; (d) anterior spiracles of the host race associated to *S. nigrum* in frontal view.

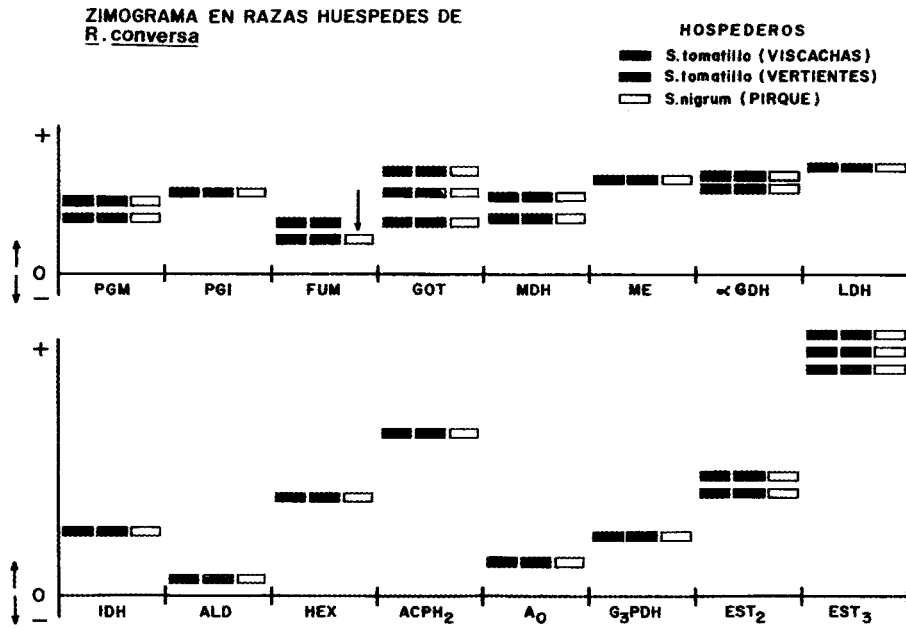


Fig. 12. Zimograma donde se observa la movilidad relativa para cada sistema enzimático en las razas *S. nigrum* y *S. tomatillo*.

Zymogram in relation with the relative mobility of each enzymatic system of the host race associated to *S. tomatillo* and to *S. nigrum*.

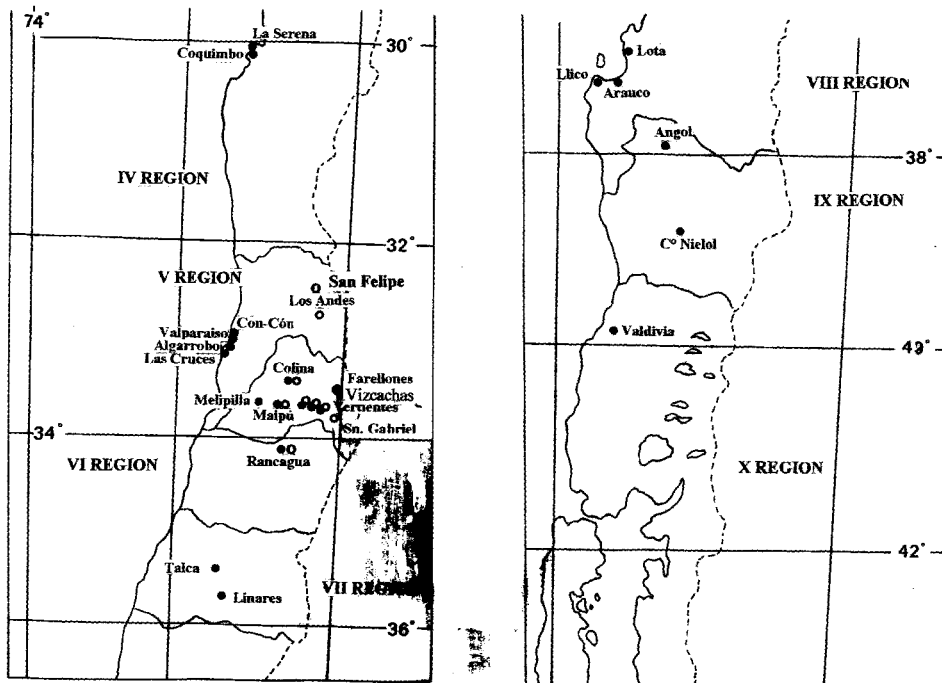


Fig. 13. Distribución geográfica de ambas razas de *R. conversa* en base a muestreos efectuados en las localidades y regiones que se indican. Los círculos blancos corresponden a aquellos lugares donde se recolectó la raza de *S. tomatillo* y los círculos negros a los lugares donde se recolectó la raza de *S. nigrum*.

The map shows the geographic distribution of both host races of *R. conversa* based on collections carried out in the localities and regions indicated. White circles correspond to places where the host race of *S. tomatillo* was collected and black circles correspond to places where the host race of *S. nigrum* was collected.

TABLA 2

Densidad de plantas de *S. nigrum* y *S. tomatillo* (100 m²). Localidades ordenadas de norte a sur. Alopatría = +; simpatría = o

Plants density of *S. nigrum* and *S. tomatillo* (100 m²). Localities are ordered from north to south. Allopatric = +; sympatric = o

Localidad		<i>S. tomatillo</i>		<i>S. nigrum</i>	
		n	%	n	%
San Felipe	+	1	1,72	0	0
Los Andes	+	2	3,45	0	0
Colina	o	2	3,45	0	0
Cerro Blanco	o	2	3,45	0	0
Pudahuel	o	2	3,45	0	0
Pirque	o	4	6,90	2	4,08
Las Vertientes	o	21	36,20	2	4,08
Las Vizcachas	o	19	32,80	2	4,08
San Alfonso	+	4	6,90	0	0
Algarrobo	+	0	0	3	6,12
Rancagua	o	1	1,72	1	2,04
Lirquen	+	0	0	10	20,40
Concepción	+	0	0	25	51,02
Valdivia	+	0	0	4	8,16
Número total		58		49	

hospederos coexisten y además en poblaciones alopátricas. Se observa que el parasitismo es mayor en *S. tomatillo* que en *S. nigrum*. Además, en *S. tomatillo* el parasitismo es mayor en aquellas localidades donde la planta es más abundante (Las Vertientes, Las Vizcachas, Pirque) y es menor en las poblaciones más pequeñas de plantas (San Felipe, Rancagua). Las poblaciones de *S. nigrum* en la zona central (Pirque, Las Vertientes, Las Vizcachas, Algarrobo) presentan una densidad menor que las poblaciones del sur (Lirquen, Concepción; Tabla 2). Sin embargo, la Fig. 14 indica que el parasitismo es mayor en estas localidades de sobreposición con *S. tomatillo* que en las poblaciones alopátricas. Esto podría indicar que esas localidades corresponderían al lugar donde se inició el cambio de hospedero desde las poblaciones de *S. tomatillo* a *S. nigrum*.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Diferencias genéticas y morfológicas

Del zimograma se concluye que entre ambas razas huéspedes no hay diferencias en la movilidad de los alelos estudiados. La variación genética detectada en términos de la hereocigocidad promedio y también aquella estimada en base al número de alelos por locus y número de locus polimórficos es mayor en las poblaciones que

viven en la planta huésped *S. tomatillo*, existiendo una gran identidad genética entre ambas razas ($I = 0,98$, Frías 1982), diferenciándose principalmente por la fijación de un alelo en fumarasa en la raza *S. nigrum* (Fig. 12). Sin embargo, estudios del ADN genómico digerido con enzimas de restricción han mostrado que ambas razas en simpatría (en Las Vertientes) se diferencian en los patrones de movilidad electroforética al digerirlo con las siguientes cinco enzimas de restricción (Sau III, Mbo IID de I, EcoR V y Taq I; Frías et al. 1996), siendo estas mismas poblaciones también diferentes en la heterocromatina constitutiva detectada a través del método de bandeo C (Frías 1993).

De los estudios morfológicos de los estados inmaduros es posible concluir que tanto en huevos, larvas de los tres estados y pupas existen diferencias que permiten identificar estas razas. Estos caracteres son longitud del filamento en los huevos; número de túbulos de los espiráculos anteriores, longitud y grado de esclerotización de los espiráculos posteriores, morfología y tamaño del esqueleto cefalofaríngeo, morfología de los cuernos dorsales y ventrales y del esclerito hipofaríngeo, posición de los dientes preorales en relación al órgano sensorial oral y morfología de las carinas en las larvas; coloración y número de túbulos de los espiráculos anteriores de la tercera muda larvaria en el caso de las pupas. Esta gran estabilidad de determinados caracteres en los es-

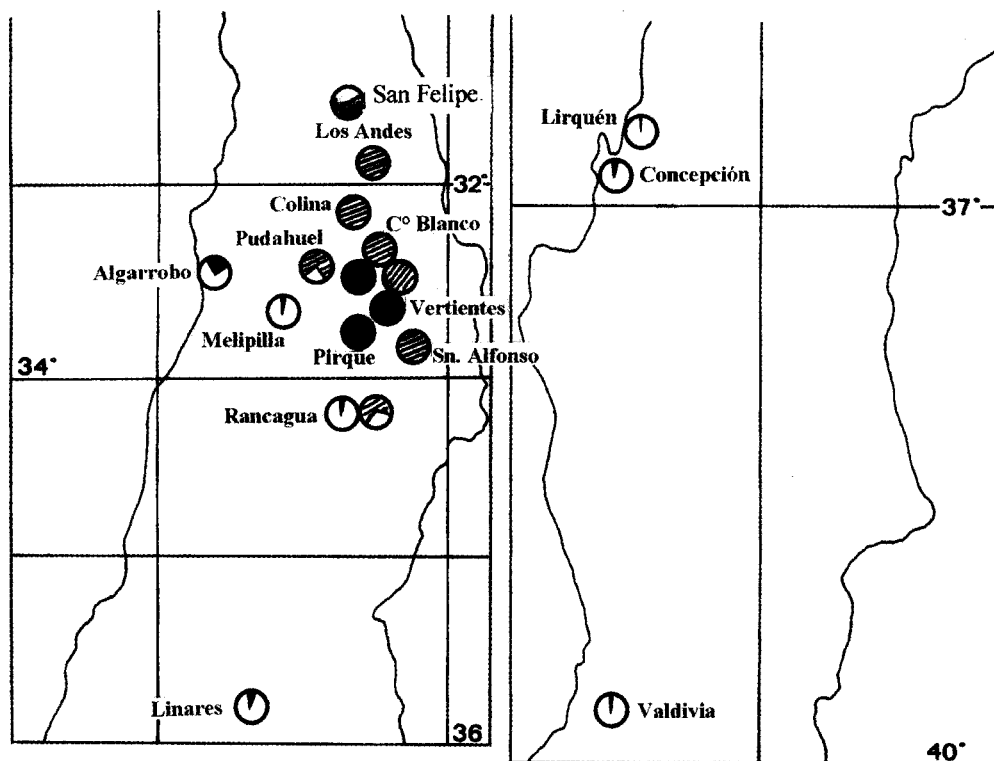


Fig. 14. Porcentaje de plantas parasitadas por parte de *R. conversa* en *S. tomatillo* (círculos achurados) y en *S. nigrum* (círculos negros) en diferentes localidades de las zonas central y sur de Chile. En ambos casos, las partes blancas de cada círculo corresponden a plantas no parasitadas. Tanto en Las Vertientes como en Pirque, por razones de espacio los de ambas razas están sobrepuestos y corresponden a un 100 % de plantas parasitadas en ambos hospederos.

Percentages of plants parasitized by *R. conversa* living on *S. tomatillo* (marked circles) and in *S. nigrum* (black circles) in different localities of central and south of Chile. In both cases the white areas correspond to plants without parasitism. In Las Vertientes and Pirque there is an overlapping of circles of both races, and in both plant hosts correspond a 100 % of parasitism.

tados inmaduros contrasta con el gran polimorfismo detectado a nivel de los adultos tanto en los patrones cromáticos de la quetología, patrones de diseños torácicos y alares y en la morfología de los ovipositores, lo que ha dificultado la identificación de ambas razas y la eventual descripción de una nueva especie (Frías 1981, 1992, 1993, Frías et al. 1987).

Aislamiento reproductivo

La fijación de un alelo en fumarasa en la población de *S. nigrum* en condición de simpatría, las diferencias ya descritas en los patrones del ADN genómico digerido con enzimas de restricción y las diferencias cromosómicas de bandeo C sugieren ausencia de flujo genético entre ambas razas en simpatría, siendo las principales barreras al flujo genético el aislamiento de hábitat y además un

desfase estacional de los ciclos vitales. Así, se ha descrito que tanto las cópulas como las oviposiciones de cada raza se producen en épocas diferentes en sus respectivos hospederos (Frías 1989).

Probable centro de origen

La mayor variación genética, cromosómica y morfológica observada en la raza de *S. tomatillo*, sumado a que tanto *R. conversa* como su hospedero son endémicos de Chile sugiere que esta es la raza ancestral a partir de la cual se derivó la raza de *S. nigrum* a través de un efecto fundador en simpatría. El efecto fundador habría causado la reducción de la variación morfológica y genética ya descrita en la raza de *S. nigrum*. La posibilidad de que el cambio de hospedero se halla efectuado en simpatría corresponde al modelo más parsimo-

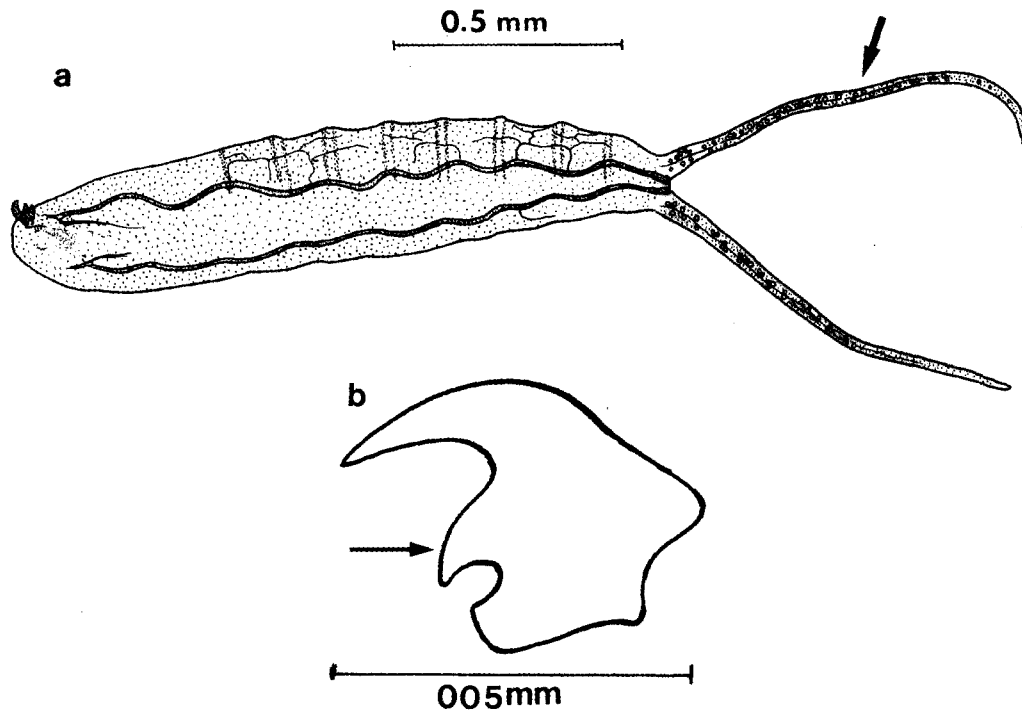


Fig. 15. (a) Larva de primer estado con los tubérculos de la región posterior; (b) mandíbula de una larva de primer estado donde se indican el diente apical, diente preapical y porción ventral posterior.

(a) First instar larvae with tubercles of the posterior region; (b) mandible of a first instar larvae where the apical tooth, the preapical tooth, and the ventral posterior region of mandible are shown.

nioso ya que ambas razas son monófagas y sobrepone su distribución geográfica entre las regiones V y VI, especialmente en la precordillera de los Andes, desarrollando sus ciclos de vida en sus respectivos hospederos (Frías et al. 1984, Frías 1989). En un eventual cambio de planta huésped, por parsimonia, el éxito de la colonización es mayor en una planta muy cercana a una muy alejada geográficamente. El fuerte desplazamiento del carácter en alopatría en relación a la longitud del filamento de los huevos y la disminución del desplazamiento del carácter en condición de simpatria constituye una prueba de lo anterior. Además, los resultados muestran que en simpatria hembras de una raza, a pesar del desfase reproductivo ya descrito, pueden ovipositar en la planta de la otra raza debido a que sus épocas reproductivas se sobrepone en los meses de noviembre y diciembre. Dicho período corresponde a la parte final de la época reproductiva de la raza de *S. nigrum* pero al inicio del período reproductivo de la raza *S. tomatillo* (Frías 1989). Lo anterior se comprobó al recolectar en simpatria (Las Vertientes) dos hembras de la raza de *S. tomatillo* sobre la planta de *S. nigrum*, y una hembra de esta última raza sobre *S. tomatillo*

(Fig. 4). Además, al medir los filamentos de los huevos provenientes de los frutos de cada hospedero en simpatria se comprobó que existen oviposiciones cruzadas. Lo anterior explica la mayor varianza encontrada en condición de coexistencia para el mencionado carácter (Las Vertientes). Por el contrario, en las poblaciones alopatricas se detectó un gran desplazamiento del carácter lo que demuestra que no existen las oviposiciones cruzadas ya descritas. Además, el mayor parasitismo observado en *S. nigrum* en condiciones de coexistencia con *S. tomatillo* (Fig. 14), a pesar que allí la planta huésped es menos abundante (Tabla 2), sugiere una gran adaptación al ambiente y un posible centro de origen de esta raza a partir de *R. conversa* que parasita a *S. tomatillo*. Luego del cambio de hospedero en simpatria, la nueva raza habría expandido su distribución geográfica colonizando *S. nigrum* en otras localidades.

Las marcadas diferencias morfológicas encontradas en las larvas de primero, segundo y tercer estado, especialmente aquellas detectadas en el aparato cefalofaríngeo, dientes preorales y rebordes orales, como así mismo en los espiráculos anteriores y posteriores son indicadores que am-

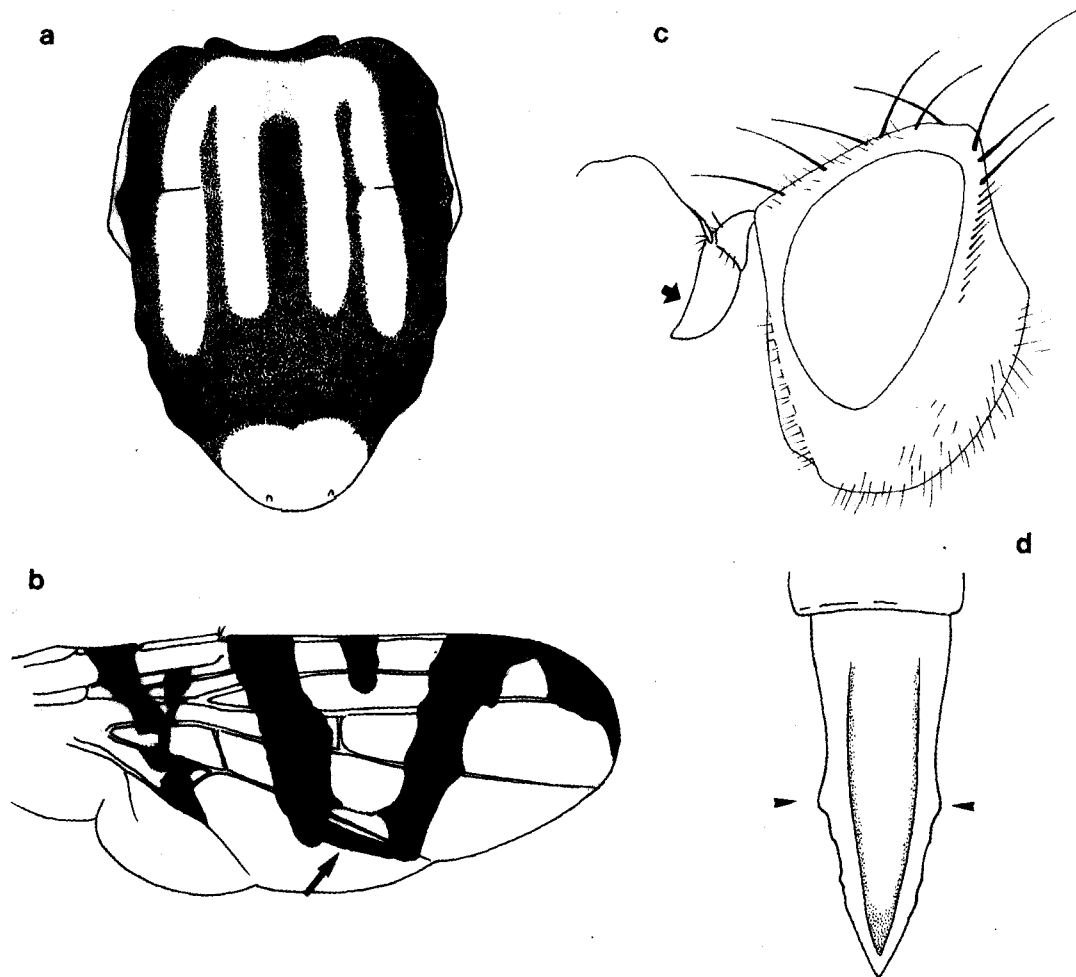


Fig. 16. (a) Tórax de una hembra de *R. brncici*; (b) diseño alar de una hembra; (c) cabeza de una hembra en vista lateral indicando el tercer segmento elongado y anguloso en el ápice; (d) ovipositor de una hembra indicando las proyecciones laterales.

(a) thorax of a female of *R. brncici*; (b) wing pattern of a female; (c) head of a female in lateral view (the figure shows the third segment that is elongated and sharp in the apex); (d) ovipositor of females with lateral projections.

bas razas corresponden a especies distintas. En las larvas de ambas razas existen caracteres estables que permiten separar especies, una situación similar se ha detectado en una población asociada a ciruela silvestre en Chile (Frías & Alviña 1996). A continuación se hace la descripción de esta nueva especie en base a los adultos que incluye la descripción ya efectuada en los estados inmaduros.

Rhagoletis brncici n. sp.

Holotipo: hembra, Región Metropolitana, Pirque 30 km al sur de la ciudad de Santiago, 10 de noviembre de 1978, D. Frías (recolector). Depositado en el Instituto de Entomología de la Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación (IEUMCE, Santiago, Chile). Paratipos: cin-

co hembras y cinco machos de la misma fecha y localidad que el holotipo, D. Frías (recolector), 10 de noviembre de 1978, depositado en el Museo Nacional de Historia Natural de Chile (Santiago, Chile). Diez hembras y 10 machos, V Región, Algarrobo, 130 km al este de Santiago, 20 de octubre de 1978, D. Frías (recolector), depositado en IEUMCE. Una hembra y dos machos, Lirquen, Concepción, 560 km al sur de Santiago, D. Frías (recolector). Una hembra y un macho, Valdivia, 900 km al sur de Santiago, Melipilla, 50 km al este de Santiago, una hembra y un macho, D. Frías (recolector).

Localidad tipo: Pirque, 30 km al sur de la ciudad de Santiago.

Distribución: *Rhagoletis brncici* se distribuye entre los 30 y 40° S, asociada a *Solanum nigrum* (Fig. 13).

Descripción de los adultos

Tanto machos como hembras poseen un diseño torácico provisto de cuatro bandas longitudinales claras unidas en la región anterior (Fig. 16a). Alas como en la Fig. 16b, presentan una unión entre las bandas medial cruzada y subapical cruzada a la altura de la vena M3 + CU1. Esta unión es muy variable, puede insinuarse solo en algunos individuos o bien comprometer a la vena M3 + CU1. Escutelo casi totalmente amarillo. Patas amarillas, excepto los fémures que son casi totalmente negros. Tercer segmento de la antena elongado y anguloso en la parte apical (Fig 16c). Ovipositor de las hembras con una proyección lateral en la parte apical y de una longitud de $1,17 \pm 0,06$ mm (1,10-1,28, Fig. 16d).

Diagnosis

Esta especie es posible distinguirla de sus congéneres por las siguientes características. En los huevos la presencia de un filamento de $0,33 \pm 0,02$ mm de longitud. En las larvas de primer estado son muy pequeñas de 1,1 a 3 mm de longitud, con un aparato cefalofaríngeo muy poco esclerizado, casi traslúcido de unos $0,17 \pm 0,12$ mm, con dos tubérculos en la región posterior y una longitud de aproximadamente la mitad de la longitud del cuerpo de la larva. Ganchos mandibulares con un diente preapical muy curvo, aparato cefalofaríngeo de larvas de segundo estado con el esclerito hipofaríngeo muy corto y esclerizado, barra parastomal ausente, dientes preorales ubicados bajo el órgano sensorial oral. Presencia de dientes preorales extras ubicados linealmente en los bordes de las carinas (Fig. 9B y 10B). Tubérculos de la región posterior presentes pero más cortos que la mitad de la longitud del cuerpo de la larva (Fig. 15a). En las larvas de tercer estado los cuernos ventrales y dorsales son bifurcados, los espiráculos posteriores muy poco esclerizados, en los cuales la amplitud cabe cinco veces en su longitud, las pupas son uniformemente café obscuras. En los adultos las alas presentan una unión entre las bandas medial cruzada y subapical cruzada a la altura de la vena M3 + CU1. Tórax con cuatro bandas longitudinales claras unidas en la región dorsal anterior.

Etimología. Esta especie se describe como un homenaje póstumo al Profesor Danko Brncic en reconocimiento a su fecunda y generosa contribución al desarrollo de la genética en Chile y en agradecimiento por las oportunidades académicas brindadas al autor que permitieron desarrollar una línea de trabajo en biología evolutiva de moscas de las frutas de la familia Tephritidae.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Stephanie Gueguen y Andrés Alviña por la ayuda en algunos de los cálculos estadísticos en los estados inmaduros y confección de los esquemas, respectivamente, y que hicieron posible que parte de este trabajo fuese presentado al Tercer "Meeting of the Working Group on Fruit Flies of the Western Hemisphere" en Ciudad de Guatemala, entre 4 y 9 de julio de 1999. La base de este trabajo corresponde a la tesis de doctorado del autor cuyos resultados no habían sido publicados. Los estudios de estados inmaduros fueron financiados en parte con fondos de un Proyecto DIUMCE, GAF II 02 IE 99.

LITERATURA CITADA

- AYALA FJ, JR POWELL, ML TRACEY, CA MOURAO & S PÉREZ-SALAS (1972) Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group, IV. Genetic variation in natural populations of *Drosophila willistoni*. *Genetics* 70: 113-139.
- BERG GH (1979) Clave pictórica de las larvas de la familia Tephritidae. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria, San Salvador, El Salvador. 36 pp.
- BUSH GL (1966) The taxonomy, cytology and evolution of the genus *Rhagoletis* in North America (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 134: 431-562.
- BUSH GL (1992) Host race formation and sympatric speciation in *Rhagoletis* fruit flies (Diptera Tephritidae). *Psyche* 99: 335-358.
- BUSH GL, JL FEDER, SH BERLOCHER, BA MCPHERON, DC SMITH & CHA CHILCOTE (1989) Sympatric origins of *R. pomonella*. *Nature* 339: 346.
- BUSH GL & RN HUETTEL (1972) Starch gel electrophoresis of Tephritidae protein: a manual of techniques. International Biological Program, Working Group on Fruit Flies, Population Genetics Project, Phase I. 56 pp.
- CARROLL LE, RA WHARTON (1989) Morphology of the immature stages of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 82: 201-214.
- FRÍAS LD (1981) Biología evolutiva de dípteros Otitidae y Tephritidae (Diptera: Acalypttratae). Tesis de Doctorado, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 243 pp.
- FRÍAS LD (1982) Genética ecológica de insectos fitófagos y sus huéspedes. *Actas del Quinto Congreso Latinoamericano de Genética*: 256-271.
- FRÍAS LD (1986) Biología poblacional de *Rhagoletis nova* (Schiner) (Diptera: Tephritidae). *Revista Chilena de Entomología* 13: 75-84.
- FRÍAS LD, M IBARRA & AM LLANCA (1987) Un nuevo diseño alar en *Rhagoletis conversa* (Bréthes) (Diptera: Tephritidae). *Revista Chilena de Entomología* 15: 21-26.

- FRÍAS LD (1988) Tiempos y modos de especiación. En: Santibañez I (ed) Manejo del tiempo en biología y sus ingeniosas maneras de estudiarlo: 145-158. Publicaciones de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- FRÍAS LD (1989) Diferenciación ecológica y reproductiva de dos razas huéspedes de *Rhagoletis conversa* (Bréthes) (Diptera: Tephritidae). Acta Entomológica Chilena 15: 163-170.
- FRÍAS LD (1992) Genética, ecología y evolución de las especies chilenas del género *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae). Acta Entomológica Chilena 17: 211-223.
- FRÍAS LD (1993) Evolutionary biology of certain Chilean *Rhagoletis* species. En: Aluja M & P Liedo (eds) From fruit flies: biology and management. Springer-Verlag, New York, New York.
- FRÍAS LD, A MALAVASI & JS MORGANTE (1984) Field observations of distributions and activities of *Rhagoletis conversa* (Diptera Tephritidae) on two host in nature. Annals of the Entomological Society of America 77: 548-551.
- FRÍAS LD, H MARTÍNEZ, & A ALVIÑA (1993) Morphological description of immature stages of *Rhagoletis tomatitis* Foote (Diptera: Tephritidae). Acta Entomológica Chilena 18: 31-40.
- FRÍAS LD, I NORTHLAND & J CAPETILLO (1991) Aspectos de la biología de *Rhagoletis tomatitis* Foote (Diptera: Tephritidae) en poblaciones de la II Región de Chile. Acta Entomológica Chilena 16: 193-200.
- FRÍAS D, B URZÚA, CH GONZÁLEZ, A HENRY & A ALVIÑA (1996) Diferencias morfológicas y genéticas de las especies de *Rhagoletis* de distribución chilena. Proceedings of the second meeting of the Working Group on Fruits Flies of the Western Hemisphere, Viña del Mar, Chile.
- FRÍAS D & A ALVIÑA (2000) Taxonomy of *Rhagoletis* population associated with wild plums in Chile. In: Tan KH (ed) Area-wide control of fruit flies and other insect pests: 685-692. Permebit Universiti Sains Malaysia, Pulau Pinang, Malaysia.
- FOOTE RH (1981) The genus *Rhagoletis* Loew south of the United States. United States Department of Agriculture Technical Bulletin 1607: 77.
- FOOTE RH, FL BLANC & AL NORRBOM (1993) Handbook of the fruit flies (Diptera: Tephritidae) of America North of Mexico. Cornell University Press, Ithaca, New York. 557 pp.
- HERNÁNDEZ-ORTÍZ V (1993) Description of a new *Rhagoletis* from tropical Mexico (Diptera: Tephritidae). Proceedings of the Entomological Society (Washington) 95: 418 - 424.
- HERNÁNDEZ-ORTÍZ V & D FRÍAS (1999) A revision of the striatella group of the genus *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae). Insecta Mundi 13: 11-20.
- HOFFMANN A (1978) Flora silvestre de Chile: zona central. Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago, Chile. 255 pp.
- HOFFMANN A (1991) Flora silvestre de Chile: zona Araucana. Segunda edición. Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago, Chile. 258 pp.
- MCPHERON BA & HY HAN (1997) Phylogenetic analysis of North American *Rhagoletis* (Diptera Tephritidae) and related genera using mitochondrial DNA sequence data. Molecular Phylogenetics and Evolution 7: 1-16.
- MUÑOZ M (1980) Flora del Parque Nacional Puyehue. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 557 pp.
- NAVAS EL (1979) Flora de la cuenca de Santiago de Chile. Tomo III. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. 509 pp.
- NORRBOM AL, LE CARROLL & A FRIEDBERG (1998) Status of knowledge. In: Thompson FC (ed) Fruit fly expert identification system and systematic information database: 9-48. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.
- PERSSON PI (1963) Studies on the biology and larval morphology of some Trypetidae (Diptera). Opuscula Entomologica 28: 1- 69.
- SHAW CR & AL KOEN (1968) Starch gel electrophoresis of enzymes. In: Smith I (ed) Chromatographic techniques: 325-364. Interscience Publisher, New York, New York.
- SELIVON D & ALP PERONDINI (1998) Eggshell morphology in two cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). Annals of the Entomological Society of America 91: 474-478.
- STECK GJ & RA WHARTON (1986) Description of immature stages of *Eutreta* (Diptera: Tephritidae). Journal of the Kansas Entomological Society 59: 296-302.
- STECK GJ & RA WHARTON (1988) Description of immature stages of *Anastrepha interrupta*, *A. limae* and *A. grandis* (Diptera: Tephritidae). Annals of the Entomological Society of America 81: 994-1003.
- STECK GJ, LE CARROLL & H CELEDONIO-HURTADO (1990) Methods for identification of *Anastrepha* larvae (Diptera: Tephritidae), and key to 13 species. Proceedings of the Entomological Society (Washington) 92: 333-346.
- WHITE IM & MM ELSON-HARRIS (1992) Fruits flies of economic significance: their identification and bionomics. Commonwealth Agricultural Bureau International, United Kingdom. 559 pp.

Editores Invitados: R. Godoy-Herrera y G. Gajardo

Recibido el 20 de enero de 2000; aceptado el 18 de septiembre de 2000