

MORFOLOGÍA DEL SISTEMA DIGESTIVO 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., A.E.; VALLEJO E., L.F.; BENAVIDES M., P.; ACUÑA Z., J.R.
Morfología del sistema digestivo de *Hypothenemus hampei* (Ferrari). *Cenicafé* 58 (1):66-74. 2007.

Las observaciones morfológicas realizadas al tracto digestivo de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), indican que su longitud supera tres veces la del cuerpo, como consecuencia de los pliegues que presenta en el estomodeo, el mesenteron y el proctodeo. El estomodeo comienza en la cavidad preoral y continúa con la faringe, el esófago, el buche y el proventrículo, este último está compuesto por ocho aristas muy esclerotizadas y fusionadas a músculos circulares. El mesenteron está formado por dos ventrículos, uno anterior ovoide y el posterior de forma alargada, del cual sobresalen dos ciegos gástricos. La membrana peritrófica recubre la masa alimenticia en esta región. La válvula pilórica une el mesenteron con el proctodeo y desde allí se proyectan seis largos túbulos de Malpighi, cuya base se extiende hasta la región anterior del recto.

Palabras clave: Broca del café, morfología interna, canal alimenticio, anatomía.

ABSTRACT

Morphological observations done in the digestive tract of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), indicate that its length surpasses three times the length of the body, due to the foldings at the stomodeum, mesenteron and proctodeum. The stomodeum starts in the preoral cavity and it continues with the pharynx, esophagus, crop and proventricle. The proventricle is made up of eight very esclerotized edges fused to circular muscles. The mesenteron is made up of two ventricles: an anterior of ovoid shape and a posterior elongated, from the latter two gastric caeca were taken. The peritrophic membrane covers the nutritional mass in this region. The piloric valve joint unites the mesenteron with the proctodeum, and from here six long Malpighian tubules with a base that extends up to the anterior region of the rectum are projected.

Keywords: Coffee berry borer, internal morphology, alimentary canal, anatomy.

-
- * Ingeniero Agrónomo. Mejoramiento Genético y Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.
 - ** Investigador Principal e Investigador Científico II, respectivamente. Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia
 - *** Biólogo, M. Sc. Profesor Entomología. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas.
 - **** Investigador Científico III. Mejoramiento Genético y Biotecnología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

El tracto digestivo del orden Coleoptera presenta ciertas variaciones que dependen del grupo taxonómico y de su hábito alimentario. En términos generales, mantiene el mismo patrón morfológico característico de otros insectos, con tres regiones según su origen embrionario: estomodeo, mesenteron y proctodeo (2, 4, 6). Los estudios que relacionan la morfología interna de los escolítidos han sido orientados a la evaluación morfológica e histológica del sistema digestivo de *Scolytus multistriatus* Marsham (1), *Dendroctonus* spp. (7, 8, 9), *Trypodendron lineatum* Oliv., *Gnathotrichus retusus* LeConte y *G. Sulcatus* LeConte (16), e *Ips pini* Say (12); existen referencias de estudios más específicos como la evaluación del proventrículo de los escolítidos, para la identificación de géneros mexicanos (11).

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), es el principal insecto plaga de este cultivo y se encuentra en la mayoría de los países productores (10). En Colombia fue encontrada en 1988 y desde entonces ha generado pérdidas cuantiosas. Sus hábitos incluyen la perforación del fruto, por parte de la hembra, para reproducirse en el endospermo, lo que ocasiona la destrucción del grano (3, 5). El presente trabajo describe el tracto digestivo de *H. hampei* como parte de un estudio que relaciona la morfología interna, el comportamiento alimentario y la ecología de este insecto, en el cual se pueden reflejar las adaptaciones que ha realizado para su hospedante al igual que un estilo de vida esencialmente críptico-espermatófago.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. Esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Entomología del Centro Nacional de Investigaciones de Café – Cenicafé, Planalto (Chinchiná, Caldas, Colombia).

Material biológico. Se recolectaron hembras de *H. hampei*, de granos de café maduro, provenientes de la Estación Central Naranjal de Cenicafé, localizada en el municipio de Chinchiná (Caldas), a 1.400m de altitud y con un promedio de temperatura 21,6°C. Los granos se separaron y se depositaron en viales de vidrio y se llevaron al laboratorio de Cenicafé.

Disección. Para el estudio morfológico del tracto digestivo, se disecaron los especímenes aletargados en frío, con la ayuda de un Estereoscopio Zeiss Estemi 2000 y aumento según el tejido disecado.

Las disecciones se hicieron sobre un portaobjeto y se adicionó una gota de solución Ringer's, pH 7,2, para evitar el daño celular y la deshidratación de los tejidos. La disección de los insectos se inició con el desprendimiento de los músculos que unen el protórax y el mesotórax, seguidamente se retiraron los élitros y las alas posteriores. Con estiletes entomológicos y pinzas, se separaron las placas dorsales, pleurales y ventrales del meso y metatórax, así como con los tergitos y esternitos abdominales, y se dejó expuesta la zona comprendida desde el proventrículo hasta el ano. La región anterior del estomodeo (cavidad preoral, faringe y esófago) se extrajo y se fraccionó la cápsula cefálica de la broca, y se retiraron las placas cuticulares hasta quedar expuesto todo el tracto digestivo.

Anatomía microscópica y morfometría del tracto digestivo. En total se disecaron 12 individuos; sus órganos se tiñeron con azul de toluidina y eosina, para facilitar la diferenciación de los órganos que comprenden el tracto digestivo. Luego, para determinar la forma y el tamaño de estos órganos, se midieron con la ayuda de un microscopio Zeiss Axiophot, equipado con una reglilla micrométrica.

Microscopía de luz. Los tejidos del tracto digestivo se sumergieron en una solución fijadora de glutaraldehído al 2% - paraformaldehído al 1% en fosfato buffer (PSB), pH 7,2, durante 1 hora. Posteriormente, se lavaron por igual período en PSB. A continuación, se realizó una postfijación con tetróxido de osmio al 1% (OsO₄) en PSB, a 4°C durante 1 hora, y luego los tejidos se lavaron nuevamente con PSB efectuando dos cambios de 5 minutos cada uno. Las muestras se deshidrataron en concentraciones de etanol en forma ascendente (50%, 70%, 80%, 90% y 100%), durante 5 minutos por fase y se trasladaron a una mezcla de acetona y etanol (relación 1:1) por 5 min. Posteriormente se depositaron en acetona al 100% por igual período. Para la preimbibición las muestras se sumergieron en una mezcla de acetona y resina Spurr en relación 3:1, 1:1 y 1:3, por 5 minutos en cada una de las relaciones. Después el tejido se sumergió en resina Spurr durante 1 hora para facilitar la imbibición. La polimerización de los tejidos se efectuó igualmente en resina Spurr a 60°C por 48 horas. Al final de esta fase del experimento, las muestras se cortaron en un ultramicrotomo LKB con

cuchilla de vidrio y se tiñeron con azul de toluidina al 2% para su observación al microscopio de luz.

Microscopía electrónica de barrido a presión ambiental (ESEM). Los tejidos seleccionados se sumergieron 2 horas en una solución de glutaraldehído al 2% en PSB, luego se deshidrataron en soluciones seriadas de etanol 50%, 70%, 80%, 90% y 100%, durante 5 minutos en cada concentración; posteriormente se sumergieron en etanol al 100% y se transportaron hasta el Laboratorio de Física de Plasma de la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, donde se realizó el montaje para el registro fotográfico en el microscopio electrónico de barrido a presión ambiental (ESEM).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Anatomía del tracto digestivo de la broca del café. El tracto digestivo de *H. hampei* está dividido en tres regiones bien definidas estomodeo, mesenteron y proctodeo (Figura 1). En las hembras de *H. hampei*, el sistema

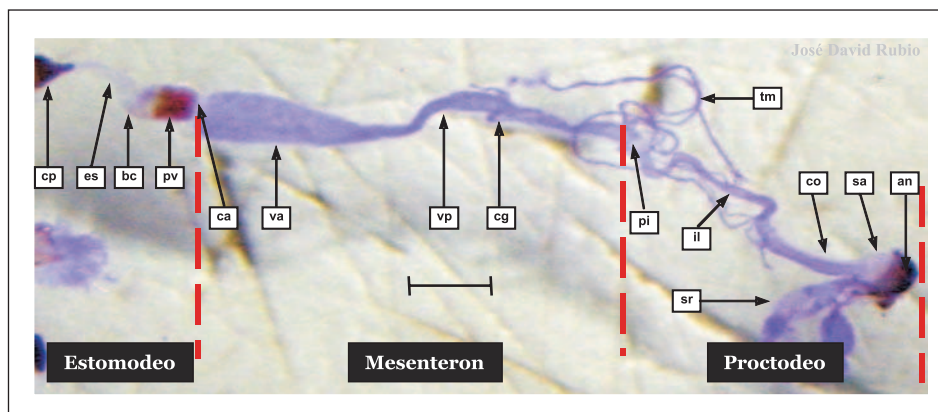


Figura 1. Aspecto general del tracto digestivo de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. Cavidad preoral y faringe (cp); esófago (es); buche (bc); proventrículo (pv); cardias (ca); ventrículo anterior (va); ventrículo posterior (vp); ciegos gástricos (cg); piloro (pi); túbulos de Malpighi (tm); íleon (il); colon (co); saco anal (sa); ano (an); sistema reproductivo (sr). Escala = 400µm.

digestivo está constituido por un tubo de diámetro variable y de longitud tres veces mayor que el insecto (Tabla 1), como consecuencia de los plegamientos que exhibe en la región media y posterior (Figura 1). La proporción de cada región con relación al diámetro total del tracto digestivo es constante, en éste el estomodeo ocupa alrededor del 16%, el mesenteron el 44% y el proctodeo el 40% (Tablas 1 y 2); estos valores son comparables con los registrados por Díaz *et al.* (7) en especies del género *Dendroctonus* (Curculionidae: Scolytinae), los cuales presentan proporciones del estomodeo entre el 15 y el 25%, el mesenteron entre el 42 y el 52% y el proctodeo entre el 30 y el 40%.

Estomodeo: Es un tubo relativamente corto que comienza en la cavidad preoral (Figura 2a) y que abarca la faringe y el esófago (Figuras 2b y 2c); su función principal es

la conducción del alimento. El esófago en su región posterior se dilata para dar cabida a un ensanchamiento llamado buche (Figura 2d), cuya función es almacenar y digerir parcialmente el alimento; anatómicamente el buche posee una íntima que exhibe gran cantidad de espinas dispuestas en hileras seriadas longitudinalmente, en la literatura no hay registros sobre la función que cumplen estas espinas, aunque podrían ser utilizadas como caracteres taxonómicos (Figura 2d). Al buche se le fusiona el proventrículo (Figura 2e), un órgano rígido y esclerotizado, su función es la maceración del alimento. El proventrículo es una pequeña sección esférica, cuyo interior está provisto de ocho placas cuticulares con forma aristada y de conformación poliédrica, que convergen hacia la luz del lumen (Figura 2f). Adosadas externamente a estas placas, gruesas bandas de músculos circulares facilitan la fuerte constricción del proventrículo, y hacen que

Tabla 1. Longitud (mm) \pm error estándar (ee) de las secciones del tracto digestivo de *Hypothenemus hampei* (n = 12 individuos).

| Especie | (n) | Tracto digestivo | | Estomodeo | Mesenteron | Proctodeo |
|------------------|-----|------------------|-------|------------------|------------------|------------------|
| <i>H. hampei</i> | 12 | 4,98 \pm | 0,115 | 0,80 \pm 0,007 | 2,20 \pm 0,065 | 1,98 \pm 0,043 |

Tabla 2. Tamaño de los diferentes segmentos del tracto digestivo de *Hypothenemus hampei*.

| Segmento | (n) | Longitud (mm) \pm ee* |
|----------------------|-----|-------------------------|
| Estomodeo | 12 | 0,80 \pm 0,007 |
| Buche | 12 | 0,25 \pm 0,008 |
| Proventrículo | 12 | 0,29 \pm 0,005 |
| Mesenteron | 12 | 2,20 \pm 0,065 |
| Ventrículo anterior | 12 | 1,23 \pm 0,038 |
| Ventrículo posterior | 12 | 0,95 \pm 0,056 |
| Ciegos gástricos | 12 | 0,18 \pm 0,007 |
| Proctodeo | 12 | 1,98 \pm 0,043 |

ee: Error estándar

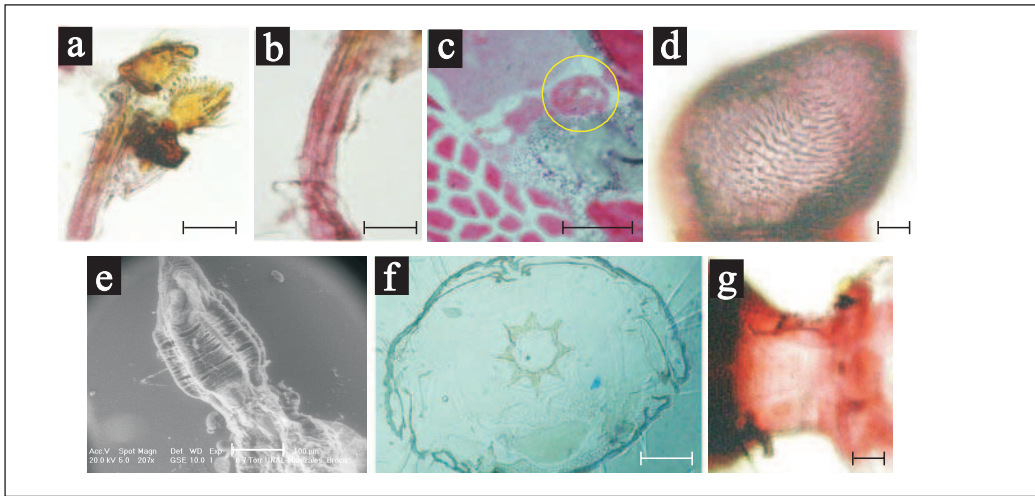


Figura 2. Intestino anterior (estomodeo) de *Hypothenemus hampei*. **a)** Cavidad bucal y faringe, vista lateral; **b)** Esófago y faringe; **c)** Corte transversal del esófago, se aprecia el lumen reducido (circunferencia); **d)** Buche; **e)** Proventriculo, vista lateral; **f)** Corte transversal del proventriculo; **g)** Válvula cardiaca. Escala 100 μ m.

el lumen se reduzca para iniciar la filtración del alimento macerado. El cardias define la terminación del estomodeo (Figura 2g), está rodeado de fuertes músculos circulares que regulan el paso y evitan el retorno del alimento entre el mesenteron y la región posterior del estomodeo.

Mesenteron: De origen endodérmico, la conformación histológica es diferente a la del estomodeo y del proctodeo. Está formado por dos regiones, el ventrículo anterior y el ventrículo posterior (Figura 1), comunes en otros coleópteros (4, 6, 17). El ventrículo anterior aparece bien definido, de forma ovoide y desprovisto de estructuras cuticulares. El ventrículo posterior presenta una longitud similar al anterior, pero el diámetro se reduce casi a la tercera parte, en esta región se proyectan dos ciegos gástricos los cuales se abren independientemente hacia el lumen (Figura 3d).

El mesenteron es el encargado principalmente de la producción y la secreción

de enzimas (13), y en él se realiza la mayor parte de la digestión y la absorción de nutrientes. En *H. hampei* el mesenteron tiene gran cantidad de capilares traqueolares que irrigan su superficie (Figura 3a). La flexibilidad del epitelio del mesenteron (Figura 3c) y la consiguiente elasticidad de este órgano ayudan a la prolongación de los movimientos peristálticos para la absorción de moléculas orgánicas y de iones difundidos hacia y desde el interior (13).

El epitelio de la unión estomodeo - mesenteron está protegido por una secreción celular constituida de mucopolisacáridos, conocida como la membrana peritrófica (Figura 3b); la cual envuelve los alimentos y en cierto modo realiza análogamente la función protectora del *mucus* secretado por las glándulas caliciformes de otros animales (13). En *H. hampei* la membrana peritrófica es del tipo II y es secretada por células de la margen anterior del mesenteron cerca del cardias (Figura 3b). En dicha región, la presencia de microvellosidades en su

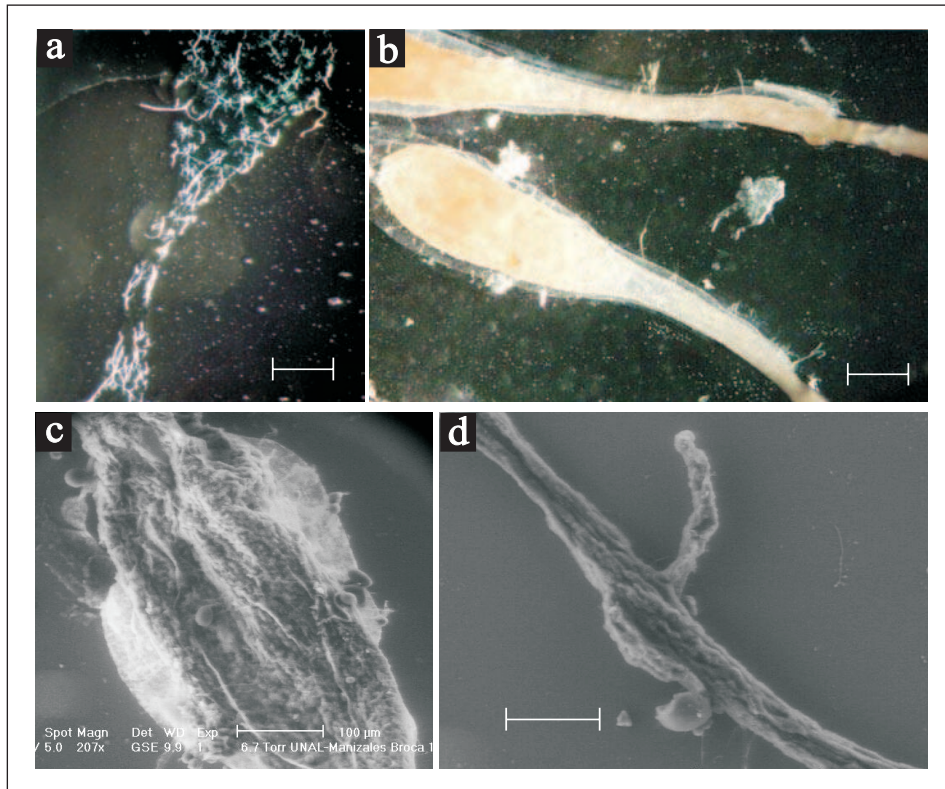


Figura 3. Órganos del mesenteron de *Hypothenemus hampei*. **a)** Vista general de la capilaridad presente en el mesenteron; **b)** Vista dorsal, en la cual se observa la membrana peritrófica que está presente en todo el mesenteron; **c)** ESEM, epitelio flexible que presenta el ventrículo anterior del mesenteron; **d)** ESEM, ciegos gástricos. Escala 100μm.

superficie interna evitan que la membrana peritrófica quede en contacto con la pared celular, para protegerla de partículas gruesas y lacerantes.

La composición química de esta membrana es semejante a la de la endocutícula, es altamente permeable y además facilita el paso de sustancias disueltas, que al entrar en contacto con el epitelio del mesenteron son absorbidas, adicionalmente permite el paso de secreciones gástricas que penetran la masa de los alimentos. Su naturaleza requiere de renovación constante, debido a que la membrana peritrófica es arrastrada

con los alimentos hacia el intestino posterior. La membrana peritrófica defiende al insecto de compuestos tóxicos y de la acción de patógenos, al recubrirlos y evitar su acción directa en las paredes (tejido epitelial) del mesenteron.

El ventrículo posterior presenta en su región media dos ciegos gástricos, dispuestos paralelamente (Figura 3d), estos divertículos tienen forma alargada y cumplen la función de generar células de reemplazo del epitelio y de secretar sustancias digestivas lubricantes y protectoras del epitelio ventricular. El arreglo y el número de ciegos gástricos en

los escolítidos es característico y permite la separación taxonómica de las diferentes especies; por ejemplo: *H. hampei* posee diferencias en la posición de los ciegos gástricos, que contrastan con las especies del género *Dendroctonus* (Curculionidae: Scolytinae) (8). En otros grupos, como en el caso de *Rhynchophorus palmarum* (L.), se presentan numerosos ciegos gástricos en el ventrículo anterior (15); mientras que para *Metamasius hemipterus* (L.) y *M. hebetatus* Gyllenhal, la distribución de éstos es generalizada (14).

Proctodeo: Es cilíndrico (Figura 4a), está separado del mesenteron por la válvula pilórica, y es más claro que el mesenteron, lo que permite apreciar los pliegues contiguos al sistema reproductor (Figura 4b). La disposición de la íntima facilita la observación de las asas que están facultadas para la absorción de los líquidos presentes en las heces. En la región media del píloro se originan seis túbulos de Malpighi; cuatro de ellos emergen de una cámara común mientras que los otros dos se sitúan aparte (lateralmente). En una vista general los túbulos de Malpighi van adheridos a la superficie abdominal y forman circunvoluciones; cuatro desembocan en la región anterior del recto y dos en la base

del saco anal, los primeros son largos y amplios, bien definidos en toda su extensión, y los segundos, son cortos y estrechos tal como se observan en especies del género *Dendroctonus* (8).

La longitud del tracto digestivo de la broca permite diferenciar algunas secciones del intestino posterior, como son la sección inmediatamente posterior a la proyección de los túbulos de Malpighi (conocida como íleum), y la zona media del colon (Figura 4a). Al final del tracto digestivo, el recto inicia con un ensanchamiento circular, fuertemente esclerotizado en su porción distal donde termina el ano (Figura 4c). La estructura anatómica del proctodeo así como la organización muscular (circular y longitudinal), facilitan los movimientos peristálticos; coincide con las observaciones en otros escolítidos y curculiónidos (1, 8, 16, 18).

A diferencia del estomodeo y del mesenteron, el contenido del proctodeo es más denso por la absorción de iones y agua. Las excretas se juntan con ácido úrico en la región posterior del colon y son expulsadas como una pasta semisólida.

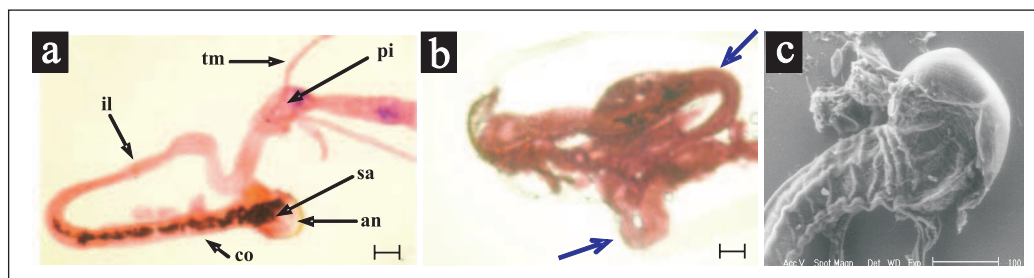


Figura 4. Proctodeo de *Hypothenemus hampei*. **a)** Vista general, túbulos de Malpighi (**tm**), píloro (**pi**), íleum (**il**), colon (**co**), saco anal (**sa**) y ano (**an**); **b)** Vista lateral, se observan pliegues (flechas) en donde se inserta el sistema reproductor de la hembra; **c)** Vista dorsal del recto, saco anal, ano y asas. Escala = 100µm.

El tracto digestivo en insectos que digieren celulosa es más especializado y está dividido en varias cámaras que albergan microorganismos celulíticos, los cuales facilitan el desdoblamiento de esta compleja molécula, los principales productos liberados de la digestión de la celulosa son la glucosa y algunos ácidos grasos de cadena corta, principalmente ácido acético (13).

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Nacional de Investigaciones de Café – Cenicafé y la Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales – Laboratorio de Física de Plasma.

LITERATURA CITADA

1. BAKER, W. V.; ESTRIN, C. L. The alimentary canal of *Scolytus multistriatus* (Coleoptera – Scolytidae). A histological study. Canadian Entomologist 106: 673-686. 1974.
2. BORROR, D.J.; DELONG, D. .; TRIPLEHORN, C. . An introduction to the study of insects. 6. ed. New York, Saunders College, 1992. 875 p.
3. 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.
4. CALDER, A. A. The alimentary canal and nervous system of Curculionidea (Coleoptera): gross morphology and systematic significance. Journal of Natural History 23: 1205-1265. 1989.
5. CORBETT, G.H. Some preliminary observations on the coffee berry beetle borer *Stephanoderes* (Cryphalus) *hampei* Ferrari. Malayan Agricultural Journal 21(1): 8-22. 1933.
6. CROWSON, R. A. The biology of the Coleoptera. Londres, Academic Press, 1981. 802 p.
7. DÍAZ, E.; CISNEROS, R.; ZUÑIGA, G.; URÍA G., E. Comparative anatomical and histological study of the alimentary canal of *Dendroctonus parallelcollis*, *D. rhizophagus* and *D. valens* (Coleoptera – Scolytidae). Annals of the Entomological Society of America 91: 479-487. 1998.
8. 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.
9. DÍAZ, E.; ARCINIEGA, O.; SÁNCHEZ, L.; CISNEROS, R.; ZUÑIGA, 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): 144-152. 2003.
10. LE PELLEY, R. H. Pest of coffee. London, Longmans, Green and Co. 1968. 590 p.
11. 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.
12. 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*, synthesizes monoterpenoid pheromone component ipsdienol de novo. Naturwissenschaften 89: 79-83. 2002.
13. NATION, J. L. Insect physiology and biochemistry. New York, CRC Press, 2002. 485 p.
14. RUBIO G., J. D.; ACUÑAZ., J. R. Anatomía comparada del tracto digestivo en imagos del complejo picudo (Coleoptera: Curculionidae) asociados al cultivo del plátano. Revista Colombiana de Entomología 32: 67-72. 2006.
15. SÁNCHEZ, P. A.; SÁNCHEZ, F.; CAETANO, F. H.; JAFFÉ, K. El tubo digestivo en adultos de *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): Morfología y ultraestructura. Boletín de Entomología Venezolana 15(2): 195-216. 2000.

16. SCHNEIDER, I.; RUDINSKY, A. Anatomical and histological changes in internal organs of adult *Trypodendron lineatum*, *Gnathotichus retusus* and *G. sulcatus* (Coleoptera – Scolytidae). *Annal of the Entomological Society of America* 62(1): 995-1003. 1969.
17. WIGGLESWORTH, V. B. The principles of insect physiology. New York, E.P. Dutton and Co., 1950. 544 p.
18. ZÚÑIGA, G.; GONZÁLEZ, H. M.; FERNÁNDEZ, A. H.; CISNEROS, R. Estudio de la anatomía e histología del tubo digestivo de *Dendroctonus adjunctus*. *Blanford (Coleoptera – Scolytidae). Acta Zoológica Mexicana* 62: 23-35. 1994.