

Líneas con marcadores morfológicos y enzimáticos de *Ceratitis capitata* Wied mantenidas en el CIT-INIA

A. JIMÉNEZ y M. E. RIVA

Disponer de una colección de líneas del insecto que permita la realización de estudios básicos, principalmente en el campo de la genética.

En aplicaciones prácticas, estas líneas pueden utilizarse para estudios bioecológicos, fundamentalmente en el comportamiento de la especie, dinámica de poblaciones y métodos autocidas, con la finalidad de mejorar las técnicas de control integrado de la plaga.

A. JIMÉNEZ y M. E. RIVA. Dpto. Protección Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. INIA. Ctra. de la Coruña, km 7,2. 28040 Madrid.

Palabras clave: *Ceratitis capitata*, genética, control integrado.

INTRODUCCION

El poder disponer en el laboratorio de material con diferencias genéticas, bien morfológicas, enzimáticas o de comportamiento, representa una gran ventaja para poder estudiar cualquier especie tanto a nivel básico (taxonomía, genética, bioecología, etc.) como aplicado. En el caso de *Ceratitis capitata*, para mejorar las técnicas de control integrado de esta plaga.

En los métodos genéticos de control que utilizan insectos estériles, las ventajas de liberar sólo machos (SMRT) son fundamentalmente económicas, aunque esto es imprescindible en aquellos casos en que las hembras producen algún daño (por ejemplo: daños en los frutos por la picadura de las hembras estériles). Por estas razones, la manipulación de la proporción sexual se hace necesaria en el campo de la entomología aplicada para algunas especies.

Para manipular la proporción de sexos en una población es necesario diferenciar de forma fácil y rápida (automática) los machos de las hembras. La manera más fácil es

utilizar caracteres heredados sólo por los machos o por las hembras. Estos caracteres pueden ser marcadores morfológicos mutantes, que permitirían la separación de los sexos, o letales condicionales que podrían dar lugar a la eliminación de uno de ellos.

En *C. capitata* el marcador morfológico más utilizado para separar los dos sexos es el color de la pupa, existiendo líneas en que los machos salen de pupas marrones y las hembras de pupas blancas.

En relación a los letales condicionales, se hace a los machos resistentes a un agente físico (por ejemplo, la temperatura) o químico (por ejemplo, alcohol) y a las hembras susceptibles, de forma que al aplicar el agente selectivo durante la cría se elimina este sexo.

MATERIAL Y METODOS

C. capitata tiene un cariotipo con 5 pares de autosomas y un par de cromosomas sexuales heteromorfos, siendo los machos XY y las hembras XX.

Para obtener mutantes se investiga en poblaciones naturales, en las que existen mutaciones espontáneas o pueden conseguirse por inducción en laboratorio con agentes mutagénicos, ya sean químicos o por irradiación.

En el laboratorio se hacen los cruzamientos necesarios para aislar líneas homocigotas para los diferentes caracteres, así como para estudiar su localización y comportamiento genético.

Como marcador enzimático, el más utilizado es la enzima alcohol deshidrogenasa, de la que se han encontrado dos alelos en poblaciones naturales: Adh^F y Adh^S que se identifican por sus patrones electroforéticos, que aparecen en la Figura 1. Estos alelos producen la enzima (Adh^*) y confieren a los individuos portadores resistencia a los alcoholes

primarios (etanol) y susceptibilidad a los alcoholes secundarios (alílico). Además de estos alelos «naturales» se han inducido mutantes nulos para este locus, es decir, que no producen la enzima (Adh^- o Adh^N) y hacen que los individuos portadores de este tipo de mutaciones tengan la resistencia y susceptibilidad contrarias a los individuos Adh^* .

En la construcción de cepas de sexado genético, este alelo Adh^N se ha ligado mediante una translocación al cromosoma Y de los machos, con lo que se logra hacer a éstos resistentes, permaneciendo las hembras susceptibles al efecto del alcohol.

En la Figura 2 se muestran las jaulas y cajas en las que se mantienen las líneas para su multiplicación. El medio nutritivo larvario contiene principalmente levadura de cerveza y harina de zanahoria.

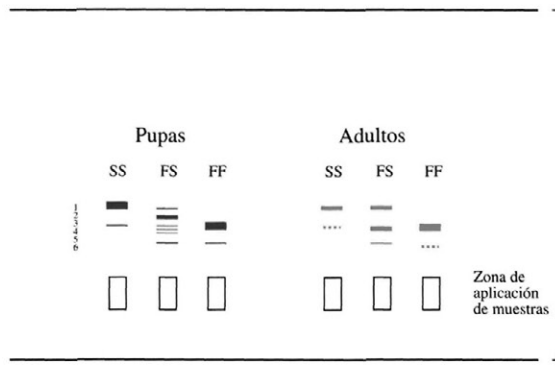


Fig. 1.—Patrones de bandas electroforéticas para ADH en *Ceratitis capitata* en geles de poliacrilamida.



Fig. 2.—Jaulas y platos utilizados en la cría de *Ceratitis capitata*.

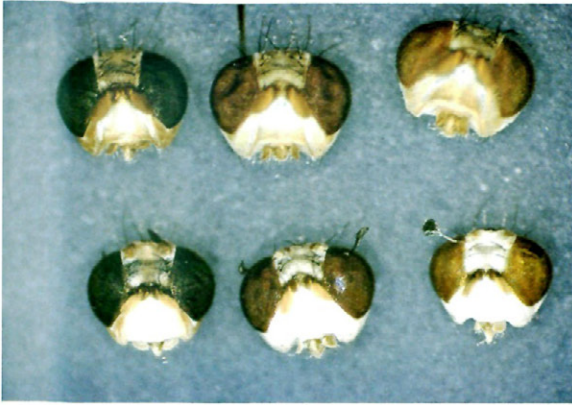


Fig. 3.—Comparación entre distintos tipos de ojo. *Normal* (izquierda), *or* (centro) y *ap* (derecha).



Fig. 4.—Aspecto del ala de un individuo normal. Normal (arriba) y de un individuo *bl/bl* (abajo).



Fig. 5.—Aspecto de pupas *ye/ye* (arriba) y *normal* (abajo).



Fig. 6.—Diferencia entre líneas de ojo: *Wb/Wb* (izquierda) y *normal* (derecha).



Fig. 7.—Pupas de la línea T-30-C: *marrones* (machos) y *blancas* (hembras).

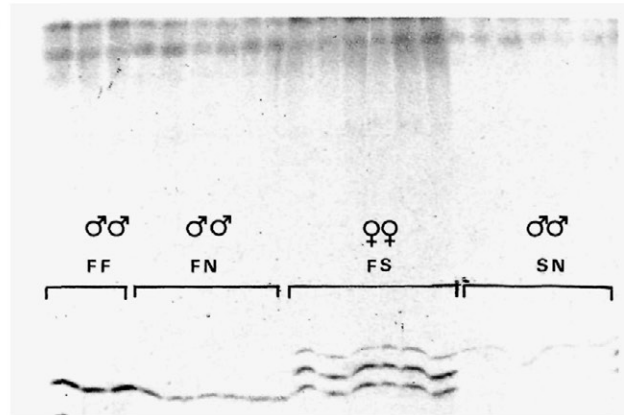


Fig. 8.—Gels con distinto genotipo para ADH.

Cuadro 1.—Líneas con marcadores morfológicos

Línea	Fenotipo	Carácter
<i>ap/ap</i>	Ojos color «albaricoque». Figura 3	Autosómico recesivo. Cromosoma 4
<i>bl/bl</i>	Adultos con quetas claras. Figura 4	Autosómico recesivo
<i>ye/ye</i>	Adultos con quetas amarillentas. Pupas marrón claro. Figura 5	Autosómico recesivo. Cromosoma 2
<i>Wb/Wb</i>	Ojo más estrecho que el normal. Menor brillo. Figura 6	Autosómico dominante. Cromosoma 2
<i>ye/ye; Wb/Wb</i>	Con las dos mutaciones anteriores.	
<i>wp/wp; or/or</i>	Mutaciones en dos loci: Pupa blanca (<i>wp</i>), ojos «anaranjados» (<i>or</i>). Figura 3	Autosómicos recesivos. Cromosoma 5

Cuadro 2.—Líneas con marcadores enzimáticos

Línea	Fenotipo	Carácter
T-30-C	Macho pupa color marrón Hembra pupa blanca Figura 7	Translocación entre los cromosomas 5 e Y. Machos X 5 ^y <i>wp</i> ⁺ /5 <i>wp</i> Hembras XX 5 <i>wp</i> /5 <i>wp</i>
T-1 y T-114	Machos heterocigotos <i>Adh</i> ^F / <i>Adh</i> ^S (FS) Hembras homocigotas <i>Adh</i> ^S / <i>Adh</i> ^S (SS)	Translocación entre los cromosomas 2 e Y. Ligamiento del alelo <i>Adh</i> ^F 2 (<i>Adh</i> ^F) ^Y .
T-128	Machos heterocigotos <i>Adh</i> ^N / <i>Adh</i> ⁺ Hembras homocigotas <i>Adh</i> ⁺ / <i>Adh</i> ⁺ Figura 8	Translocación entre los cromosomas 2 e Y, que liga un alelo nulo (N) de <i>Adh</i> a este último. 2(<i>Adh</i> ^N) ^Y .

Cuadro 3.—Líneas mixtas

Línea	Carácter
<i>FF; Wb/Wb</i>	Doble homocigota Ojo <i>Wb</i> . Actividad <i>Adh</i> ₁
<i>FF; ap/ap</i>	Doble homocigota Ojo «albaricoque». Actividad <i>Adh</i> _f
<i>wp/ap/Adh</i> ^F	Triple homocigota. Pupa blanca. Ojo «albaricoque». Actividad <i>Adh</i> _f

Cuadro 4.—Origen de las líneas

- *ap/ap, bl/bl, Wb/Wb, Wp/Wp; or/or*
Dr. Y. Rossler. Rehovot. Israel.
- *ye/ye*
Dr. M. Zapater. Facultad de Agronomía. Buenos Aires. Argentina.
- *T-30-C*
Laboratorio de OIEA. Seibersdorf. Austria.
- *wp/wp; ap/ap; FF, T-1, T-114, T-128*
Drs. Robinson y Riva, Research Institute ITAL. Wageningen. Holanda.
- *ye/ye; Wb/Wb, FF; Wb/Wb, FF; ap/ap*
Laboratorio de la Canaleja. CIT-INIA. Madrid.

CONCLUSIONES

Los individuos de estas líneas al ser inequívocamente identificados se separan con facilidad de las poblaciones indígenas. Con estudios previos podrán conocerse los caracteres morfológicos de estas últimas, para decidir qué línea debemos utilizar en nuestros propósitos.

Algunos ejemplos de aplicaciones prácticas son:

- En estudios de estimación de poblaciones se elegirá una línea con caracteres distintos de la nativa y después se aplicarán las técnicas de liberación y posterior captura.

- Para cuantificar la supervivencia invernal, el uso de líneas, bien con marcadores

morfológicos o enzimáticos, estaría indicado. En estos ensayos se liberaría un número conocido de insectos, que habría que recapturar en la primavera siguiente.

- En el control de la plaga por la técnica de machos estériles (SMRT) habría que utilizar las líneas de sexado genético, como la T-30-C. Con esta línea se separarían, antes de la liberación de los adultos, las pupas de color marrón de las blancas, aunque ello no evitaría las operaciones de cría del insecto en su fase larvaria.

- El uso de líneas sensibles a los alcoholes (T-128) supondría un ahorro en la cría masiva. Añadiendo alcohol a la dieta larvaria se eliminarían las hembras en los primeros estadíos del desarrollo larvario. Las pupas recogidas darían sólo machos.

ABSTRACT

JIMÉNEZ, A. y RIVA, M. E., 1994: Líneas con marcadores morfológicos y enzimáticos de *Ceratitis capitata* Wied. mantenidas en el CIT-INIA. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**(3): 797-801.

The objective of maintaining a collection of *Ceratitis capitata* strains is to have material available to carry out basic studies mainly on the genetics of the insect.

As regards practical applications, these strains can be used for bioecological studies, behaviour, population dynamics and autocidal methods, to improve the integrated management of the pest.

Key words: *Ceratitis capitata*, genetic, integrated control.

REFERENCIAS

- RIVA, M. E. y ROBINSON, A. S., 1983: Studies on the ADH locus in *Ceratitis capitata*. *Fruit flies of economic importance* (Proc. CEC/IOBC Int. Symp. Athens. 1982. Balkema, Rotterdam: 163-171.
- RIVA, M. E. y ROBINSON, A. S., 1986: Induction of alcohol dehydrogenase null mutants in the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Biochem. Genet.*, **24**: 765.
- RIVA, M. E., 1990: Alcohols as discriminating agents for genetic sexing in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wied.). En *Genetic Sexing of the Mediterranean Fruit Fly*. Proc. Final Res. Coord. Meeting Crete. Joint FAO/IAEA Div Eds.: 147-171.
- ROBINSON, A. S. y RIVA, M. E., 1983: Male-linked translocation in *Ceratitis capitata* for genetic sexing and irradiation, *Fruit Flies of Economic importance* (Proc. CEC/IOBC Int. Symp. Athens. 1982), (CAVALLO, R., Ed.) Balkema, Rotterdam: 190-196.
- ROBINSON, A. S.; RIVA, M. E. y ZAPATER, M., 1986: Genetic sexing in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, using alcohol dehydrogenase locus. *Theor. Appl. Genet.*, **62**: 445.
- RÖSSLER, Y. y KOLTIN, Y., 1976: The genetics of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*: three morphological mutations. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **69**: 604.
- RÖSSLER, Y., 1976: Fitness of the «apricot eye» mutant of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **70**: 544-548.
- RÖSSLER, Y., 1979: The genetics of the mediterranean fruit fly: a «white pupa» mutant. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **72**: 583-585.
- RÖSSLER, Y., 1980: «69-apricot»-a syntetic strain of the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, with sex limited pupal color and eye color marker. *Entomophaga*, **25**: 276-281.
- RÖSSLER, Y. y ROSENTHAL, H., 1988: Genetics of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): eye-color, eye shape and wing mutations. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **81**: 350.
- ZAPATER, M. y ROBINSON, A. S., 1986: Sex chromosome aneuploidy in a male-linked translocation in *Ceratitis capitata*. *Can. J. Genet. Cytol.*, **28**: 161.
- ZAPATER, M. y BATTISTA, M., 1993: Yellow: a new mutant in *Ceratitis capitata*. In *Fruit flies: Biology and Management*. Ed. M. Aluja y P. Liedo. Springer-Verlag, New York, Inc.: 89-94.