

Fecundación de una hembra de *Rhodnius prolixus* Stal, 1852, por dos machos

por

A. Trejos*, R. Rosabal* y Ana Y. de Hernández*

(Recibido para su publicación el 2 de abril de 1966)

Rhodnius prolixus es una de las dos especies de triatóminos transmisores de la enfermedad de Chagas en El Salvador. Cualquier medida tendiente a su exterminio o total erradicación, sería de gran utilidad en la lucha contra esta enfermedad. Debe probarse por lo tanto todo método conocido para lograr un efectivo exterminio de tales insectos. Estos métodos pueden consistir en el uso de diferentes insecticidas, el uso de machos esterilizados por medio de radiaciones y liberados en el medio ambiente u otros. A este respecto GÓMEZ *et al.* (1) han investigado "...la posibilidad de aplicar el método de control basado en la introducción de machos estériles en una población que se desee erradicar". En sus comentarios generales estos autores dicen: "La objeción más grave al método es el hecho de no existir un tapón copulatorio en la hembra, la cual aunque sólo necesita una sola copulación en su vida, parece copular a menudo". Se basaron los autores para esta aseveración en la siguiente experiencia: "...se escogieron seis hembras normales y se unieron durante cinco semanas con seis machos irradiados con una dosis de 10.000 r. La eclosión de los huevos resultantes fue del 3,9%. Luego estas mismas hembras fueron unidas a machos normales durante un período igual, y la eclosión aumentó paulatinamente hasta un 85.1%, demostrando la ausencia de un "tapón copulatorio" y a la vez una posible competencia entre espermios, ya que el aumento fue gradual y no violento".

La ausencia de tapón copulatorio en *Rhodnius prolixus* quedaba aparentemente demostrada por los autores venezolanos usando un método indirecto. Con las experiencias que relatamos a continuación creemos haber logrado demostrar, en forma directa y terminante, la ausencia de este tapón copulatorio en hembras de *Rhodnius prolixus* y la fecundación de huevos de una hembra por los espermios de dos machos diferentes. Esto parece poner objeciones al empleo de machos esterilizados por medio de radiaciones para la erradicación de tales insectos.

* Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador.

MATERIAL Y METODOS

Las experiencias presentes fueron diseñadas con el objeto de demostrar directamente si los huevos de *Rhodnius prolixus* podían ser fecundados o no por espermios de dos machos diferentes. Los ejemplares de *Rhodnius prolixus* usados se tomaron de colonias de estos insectos mantenidas en nuestro laboratorio. Contábamos para esto con insectos marcados naturalmente de la colonia de *R. prolixus* con ojos rojos de El Salvador, R.O.R. (2). Usamos también insectos de ojos negros de otra colonia de *R. prolixus* procedente de Colombia, mantenidos en la Escuela de Medicina Tropical e Higiene de Londres, Inglaterra, y traídos a El Salvador por el Dr. C. J. Marinkelle en noviembre de 1961. No tenemos conocimiento de la fecha en que estos *Rhodnius* fueron llevados a Inglaterra. Esta colonia ha sido mantenida en nuestro laboratorio desde el año de 1961, sin que hasta el presente hallamos encontrado en ella un solo ejemplar de ojos color rojo.

Para nuestro trabajo tomamos ninfas de 5º estadio de ambas colonias y las colocamos en frascos individuales de vidrio, cilíndricos, de 10 cm de alto por 5 cm de diámetro, con un pedazo de papel secante para que se posaran. Los frascos fueron cubiertos con una malla de nylon sostenida por una banda de hule. Esta separación se hizo con el objeto de estar completamente seguros de que las hembras fuesen vírgenes. Además, los machos serían aproximadamente de la misma edad.

Conforme se iba produciendo la última ecdisis, se anotaba el sexo del adulto y se formaban las parejas entre *R. prolixus* con ojos rojos. Una vez obtenida la cópula entre un macho y una hembra de ojos rojos, se procedió a colocar esta hembra con un macho de ojos negros hasta obtener una segunda cópula. Una vez efectuadas ambas cópulas, las hembras fueron dejadas en su frasco individual para observación, esperando la postura de huevos. Los huevos puestos por estas hembras se colocaron en recipientes adecuados con su respectiva identificación (un recipiente para los huevecillos puestos cada día) hasta obtener su eclosión. Al producirse ésta, procedimos a observar y anotar el color de los ojos de las ninfas.

Los machos de ojos rojos que habían copulado con hembras de ojos rojos, fueron apareados luego con hembras vírgenes de ojos negros, para estar seguros de su fertilidad. Lo mismo se hizo con los machos de ojos negros, efectuando en este caso el apareamiento con hembras vírgenes de ojos rojos, para obtener además información sobre su condición genética.

Anteriormente habíamos demostrado (2) que el carácter ojos rojos es recesivo.

Formulamos así la siguiente hipótesis de trabajo: si una hembra de ojos rojos que ha copulado con un macho también de ojos rojos realiza una segunda cópula con un macho de ojos negros, la observación de la prole nos permitirá deducir cuál de los machos fecundó la hembra o si los espermios de ambos intervinieron. Si todos los descendientes tuvieran ojos rojos querría decir que solamente intervinieron los espermios del macho de ojos rojos. Si todos los des-

cendientes tuvieran ojos negros, sólo habrían intervenido los espermios del macho de ojos negros. Finalmente, si hay una progenie mixta de ojos rojos y ojos negros entonces debemos asumir que los espermios de ambos machos intervinieron, siempre que el macho de ojos negros sea homocigota. Decimos que el macho de ojos negros debe ser necesariamente homocigota para este carácter, ya que el cruzamiento de un macho de ojos negros heterocigota con una hembra de ojos rojos, nos daría descendientes de ojos rojos y de ojos negros en la proporción 1:1, como ya fue comprobado en el trabajo anterior (2).

Tanto las ninfas de quinto estadio como los adultos, fueron alimentados en gallo cada tres semanas aproximadamente. Los frascos con los insectos fueron mantenidos todo el tiempo que duró la experiencia a la temperatura ambiente del laboratorio, la cual varió entre 23 y 30.5°C. Las observaciones fueron hechas diariamente, anotando de inmediato los resultados. Para las cópulas se formaban parejas, manteniéndolas bajo observación constante por períodos de una a tres horas, anotando hora de comienzo y fin de la cópula. Los adultos de *R. prolixus* de ojos rojos se numeraron del 1 al 40 y los de ojos negros del 101 al 122.

RESULTADOS

Se efectuó un total de 197 apareamientos, lográndose obtener 54 cópulas. Once hembras llegaron a efectuar dos cópulas (con el macho de ojos rojos primero y con el macho de ojos negros después). De estas hembras sólo diez pusieron huevos, y los de una de ellas no llegaron a eclosionar.

De las nueve hembras que produjeron progenie, cuatro copularon con machos de ojos negros de los que se pudo demostrar su condición homocigota. A continuación se discuten los resultados del análisis de la descendencia de estas hembras. Los datos relativos a las cópulas, posturas y color de ojos de los descendientes se anotan en el cuadro 1. Los resultados de las pruebas de fertili-

CUADRO 1

Descendencia de hembras de ojos rojos (R.O.R.) que copularon con machos de ojos rojos y de ojos negros.

Hembra No.	Primera cópula. Macho N°	Segunda cópula. Macho N°	Lapso transcurrido entre ambas cópulas	Larvas nacidas		
				Ojos Rojos	Ojos Negros	Huevos sin eclosionar
4	3	104	5 horas	32	38	10
14	28	104	2 días	2	23	0
17	28	104	10 días	10	2	1
23	28	104	14 días	16	38	3

dad y condición genética pueden verse en el cuadro 2.

CUADRO 2

Pruebas de fertilidad de los machos.

R e s u l t a d o					
Macho No.	Apareado con hembra No.	No. huevos	No. larvas	No. huevos sin eclosionar	Condiciones del macho
28 O.R.*	106 O.N.	52	46 O.N.**	6	Fértil
28 O.R.	113 O.N.	53	44 O.N.	9	Fértil
104 O.N.**	11 O.R.	28	27 O.N.	1	Fértil y Homozigota
104 O.N.	112 O.N.	43	37 O.N.	6	Fértil

* O.R. = ojos rojos

** O.N. = ojos negros

DISCUSION

Las hembras de que trataremos en el presente trabajo son las números 4, 14, 17 y 23. Como puede verse en el Cuadro 1, estas hembras efectuaron sus cópulas con los machos números 3, 28 y 104. El hecho de haber utilizado solamente unos pocos machos fue debido a que no todos ellos copularon cuando fueron apareados con las hembras; ya habíamos dicho que se obtuvieron 54 cópulas de 197 apareamientos. Estas 54 cópulas fueron realizadas solamente por 6 machos; como algunos machos no copulaban, cuando las hembras estaban ya en su período de ovoposición, las apareamos con los machos que habían copulado previamente. Debemos mencionar que hembras que habían sido apareadas hasta 15 veces con algún macho sin efectuar cópula, lo hacían el primer día que eran colocadas con un macho que ya había copulado anteriormente. Llegamos a determinar que los machos podían comenzar a copular solamente después de un período de no menos de nueve a trece días después de la última muda. Las hembras, por el contrario, están en capacidad de copular el mismo día que efectúan la última ecdisis. La hembra 36 copuló cuando sus tibias y tarsos posteriores todavía no habían quitinizado, aunque los huevos puestos por ella después de la cópula no llegaron a eclosionar.

Como puede verse en el Cuadro 2, el macho 28 fue apareado también con las hembras 106 y 113. Estas hembras dieron descendientes que indican la fertilidad del macho. En el mismo Cuadro 2 vemos también que el macho de ojos negros 104 al ser cruzado con la hembra 11 de ojos rojos, dio una descendencia total de ojos negros, lo cual es índice, no sólo de la fertilidad de este macho, sino

de su condición homocigota para el carácter ojos negros. Tenemos entonces que las hembras 14, 17 y 23 (Cuadro 1), que efectuaron sus cópulas tanto con el macho 28 de ojos rojos, como con el macho 104 de ojos negros, fueron fecundadas por ambos machos, ya que dieron descendientes de ojos rojos y de ojos negros. Esta experiencia demuestra la ausencia de tapón copulatorio en hembras de *Rhodnius prolixus*.

En el Cuadro 1 podemos ver que la hembra 4 de ojos rojos, cruzada sucesivamente con los machos 3 de ojos rojos y 104 de ojos negros (ambos homocigotas), dio huevos fértiles de los cuales nacieron larvas de ojos rojos y de ojos negros. Llegamos así a la conclusión de que los huevos puestos por las hembras 4, 14, 17 y 23 del mutante de ojos rojos de *Rhodnius prolixus*, fueron fecundados tanto por los espermios del macho del mismo mutante como por los del macho de la cepa silvestre de ojos negros.

Debemos mencionar que los lapsos transcurridos entre una y otra cópula fueron desde 5 horas hasta 14 días (Cuadro 1). En el Cuadro 3 podemos ob-

CUADRO 3

Huevos puestos en lapsos de 24 horas, días de la postura transcurridos después de la 2ª cópula y resultado de la progenie.

Postura	Hembra 4 (O.R.)			Hembra 23 (O.R.)		
	Días transcurridos	larvas O.R.*	larvas O.N.**	Días transcurridos	larvas O.R.	larvas O.N.
1a.	2	1	1	6	0	3
2a.	12	0	2	7	0	4
3a.	13	2	7	8	2	4
4a.	14	0	4	9	1	5
5a.	15	0	3	11	0	2
6a.	16	0	1	29	0	2
7a.	36	4	5	30	5	8
8a.	37	5	6	32	1	2
9a.	38	2	3	48	1	0
10a.	40	2	1	49	0	3
11a.	41	2	0	50	2	2
12a.	47	1	1	52	1	1
13a.	61	3	4	53	3	2
14a.	62	9	0			
15a.	77	1	0			
Total de larvas		32	38		16	38

* O.R. = Ojos Rojos

** O.N. = Ojos Negros

servar como las larvas nacidas de las hembras 4 y 23, que fueron las que más huevos pusieron, iban siendo, indistintamente, de ojos rojos y de ojos negros. La hembra 23, todavía 53 días después de efectuada la segunda cópula, puso huevos que dieron larvas de ojos rojos y de ojos negros. En la hembra 4 este caso se presentó aún 61 días después de la segunda cópula.

Estos hechos muestran que los espermios de *R. prolixus* provenientes de dos machos se mezclan en la hembra, independientemente del lapso transcurrido entre las dos cópulas. Estos espermios van fecundando los huevos al azar durante todo el período de fertilidad de la hembra.

RESUMEN

Con el presente trabajo se demuestra que huevos de *Rhodnius prolixus* pueden ser fecundados por espermios procedentes de dos machos de esta misma especie. Además, se demuestra que los espermios de ambos machos se mezclan en la hembra y están en condiciones de fecundar huevos puestos hasta ocho semanas después de las cópulas. Estas experiencias ponen serias objeciones a las posibilidades de éxito del método de erradicación del *Rhodnius prolixus* mediante la liberación, en el medio ambiente natural, de machos esterilizados por radiaciones.

SUMMARY

Homozygous red-eyed (recessive) females of *Rhodnius prolixus* (R.O.R. strain) were mated with homozygous red-eyed males, and later with homozygous black-eyed males. The offspring showed that sperm from both males is mixed in the female, that the eggs were fertilized by sperm from either male, and that sperm from both males was still capable of fertilizing eight weeks after copulation. These experiments point to serious obstacles to attempts to eradicate *Rhodnius prolixus* by the release in the natural habitat of males sterilized by radiation.

BIBLIOGRAFIA

1. GÓMEZ, J. C., J. C. GALLIMORE, J. FERNÁNDEZ & A. GROSS
1962. El efecto de las radiaciones ionizantes sobre la biología y la ecología de *Rhodnius prolixus*, vector principal de *Schizotrypanum cruzi* en Venezuela. *Acta científ. venezol.* 13: 46-52.
2. ROSABAL, R. & A. TREJOS
1966. Sobre una mutación del color del ojo en *Rhodnius prolixus*. Stål, 1852 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Biol. Trop.*, 14: 99-103.