

La utilització dels Tribolium
en l'ensenyament de la genètica



 Generalitat de Catalunya
Departament d'Ensenyament
Direcció General
d'Ordenació Educativa
Centre de Documentació
i Experimentació de Ciències

Pg. de la Vall d'Hebron. 64-70
08023 BARCELONA
Tel. 417.68.75/417.67.70

LA UTILITZACIÓ DELS TRIBOLIUM EN L'ENSENYAMENT DE LA GENÈTICA.

A pesar de pertenecer al mismo grupo taxonómico que *Drosophila* el gusano (o escarabajo) de la harina — *Tribolium* — presenta diferencias de cultivo, de comportamiento y de biología, etc., que lo hacen bien distinto desde un punto de vista de su utilización didáctica de la genética.

De entrada hay que señalar que la utilización es posible y conveniente porque es una especie que — aunque lejos de alcanzar la profundidad lograda en *Drosophila* — es de genotipo relativamente bien conocido.

El hecho de que no esté muy difundido su uso en nuestro país y sí en cambio en otros como Inglaterra, Estados Unidos, Alemania, etc., cabe achacarlo simplemente a las deficiencias en la información recibida por nuestros profesionales y en el sistema de apoyo a su labor.

El género *Tribolium* comprende algunas especies prácticamente cosmopolitas actualmente en su distribución que vulgarmente reciben el calificativo (que induce a confusión) de gusano de la harina por alimentarse y crecer en este medio y por convertirse muchas veces en plagas de este producto y, en general, de los cereales y semillas oleaginosas almacenados. De acuerdo con ello presenta una fototaxia negativa y preferencias por una temperatura no muy baja y una cierta humedad. El tamaño general (longitud total) es de 2,3-4,4 mm y el color pardo-rojizo, en las dos principales especies: *Tribolium confusum* y la más estudiada (y algo más termófila) *Tribolium castaneum*.

DIFERENCIACIÓN DE LOS SEXOS

Las diferencias sexuales son muy marcadas en el estadio de pupa y más sutiles en el adulto (tanto que si bien — al contrario de lo que a veces se escribe — son reconocibles, todos los manuales las omiten y recomiendan — como se hace aquí — la diferenciación y separación sexual en la fase de pupa):

En el estado de pupa la diferencia sexual estriba en la distinta morfología que presentan los cercos terminales del abdomen, presentando en su base — en la hembra — otro par más pequeño, par que está ausente en el macho y en el que una pequeña depresión ocupa su lugar. Esta diferencia puede apreciarse en la figura 39.

Ciclo biológico

Es el típico de un coleóptero, es decir con holometabolía (como en *Drosophila*, por otra parte). Fundamentalmente está influido — en su duración — por la temperatura y la humedad tal como puede apreciarse en las siguientes tablas:

C. D. E. Ciències
I. P. Verge de la Mercè
C/ Motors, 122-130
08004 BARCELONA

Generalitat de Catalunya
Departament d'Ensenyament
Direcció Gen. d'Ordenació i
Innovació Educativa
C/ D. E. Ciències

Tribolium castaneum

Temperatura OC	Fase de huevo (incubación)	Período larvario			Fase de pupa	Total a 70% H.R.
		Humedad relativa 30%	70%	90%		
17.5	30.4	—	—	—	—	
20.0	16.9	98.3	79.4	81.6	21.6	
22.5	11.5	57.3	43.0	36.2	14.0	
25.0	7.7	35.6	28.9	27.7	10.3	
27.5	5.6	31.0	22.7	21.0	7.7	
30.0	4.9	25.1	18.0	17.8	6.1	
35.0	3.9	23.9	17.9	—	5.0	

Tribolium confusum

Temperatura OC	Fase de huevo (incubación)	Período larvario			Fase de pupa	Total a 70% H.R.
		Humedad relativa 30%	70%	90%		
17.5	—	—	—	—	—	
20.0	13.9	—	109.3	—	24.4	
22.5	9.3	74.0	51.0	44.9	13.4	
25.0	6.8	39.9	31.2	25.0	10.2	
27.0	4.7	32.0	24.3	21.0	7.5	
30.0	3.6	34.8	17.2	15.3	5.5	
35.0	2.7	19.7	12.9	12.0	4.5	
40.0	2.7	—	23.6	—	4.4	

TABLA Tiempo de desarrollo (días) de *Tribolium* en función de la temperatura y de la humedad relativa (según Howe, 1960).

(en estas tablas los tiempos están calculados en base a un medio de cultivo constituido — fundamentalmente — por harina de trigo que es el básico. Sin embargo los medios de cultivo pueden ser muy variados y de hecho, implicar otros tiempos muy distintos).

Las hembras adultas son capaces de empezar a poner huevos a los 10 días de haber alcanzado esta última fase, y como en el caso de *Drosophila*, los óvulos van siendo fecundados a medida que van madurando por los espermatozoides retenidos en el receptáculo seminal, de ahí que — como en aquella especie — conviene partir de hembras vírgenes. El número de huevos puestos por día es de hasta un máximo de 20-30 diarios (con unas cifras más standard del orden de 5-10/día), durante unos 100 días, por término medio. La media de huevos puestos por hembra es del orden de 360 huevos (con un margen de 195-570). La transferencia a un medio fresco incrementa la puesta.

El uso de *Tribolium* en el laboratorio. Ventajas e inconvenientes

De un modo esquemático podemos decir que las principales VENTAJAS, son:

1. Una longevidad elevada, de 6 a 9 meses, en condiciones óptimas de temperatura y humedad (y dieta adecuada).
2. Esta dieta o medio de cultivo es muy simple, y puede consistir en: harina de trigo, con un 5 % de levadura de cerveza seca (p. ej. «Cervesina» de productos Verkos, «Vigor» de productos Santiveri o levadura «Sorribas» de igual marca) de venta en farmacias. La única manipulación que debe sufrir este medio es una esterilización para evitar contaminaciónes. Esterilización que no debe tostar el medio; lo más adecuado son algunas horas (6-8) a 70-80°.
3. Las diferencias sexuales pueden establecerse en una fase inmóvil del ciclo biológico, lo que facilita la separación de los sexos (la manipulación se hace más sencilla, no es preciso anestesiar, etc., etc.).
4. Los cultivos requieren un mínimo de cuidados. De forma que cuando no se utilizar las cepas pueden quedar (a unos 20-25°) durante 4-6 meses sin cuidado alguno, sin necesidad tampoco de reemplazar el medio de cultivo. Los periodos de vacaciones escolares no son así (como contrariamente sucede en el caso de, p. ej. *Drosophila*) ningún obstáculo para mantener los cultivos de un año para otro.
5. Todas las fases del ciclo biológico pueden observarse a la vez y son muy fácilmente separables del medio de cultivo. Basta para ello la utilización de cedazos (aprox. de 1 mm) que retienen los animales y eliminan el medio de cultivo. Un pincel ligeramente humedecido permite manipular sin peligro a los animales.
6. La gama de condiciones de cultivo es muy amplia. Casi cualquier temperatura y casi cualquier humedad permiten que el ciclo biológico no se detenga. No es absolutamente preciso disponer de cámaras de cultivo, y todas las condiciones locales — o casi todas — son apropiadas (no obstante, el óptimo estriba en unos 30° C y una humedad del orden del 70 %).
7. Las pupas no están encerradas en una envuelta quitinosa, por lo que pueden utilizarse también las diferencias de morfología en este estadio en los estudios.
8. Cualquier tipo de frasco (p. ej. los convencionales botes de cierre hermético en la industria alimentaria) sirve para guardar los cultivos sin necesidad de mayores gastos.

9. El hecho de que puedan mantenerse los cultivos indefinidamente en el laboratorio y lo expuesto en el punto 5. hacen que sea un material de elección para en cualquier momento, ilustrar otros aspectos como p. ej. un ciclo biológico, etc.
10. Idem como presa viva, para alimentar animales insectívoros que puedan tenerse en el laboratorio.
11. Los adultos no vuelan a temperaturas ordinarias (si lo hacen, y mucho, las drosófilas, por ejemplo).



Principales diferencias entre *Tribolium castaneum* i *Tribolium confusum*. B: antena, visión lateral y visión ventral de la cabeza de *T. confusum*; T: antena, visión lateral y visión ventral de la cabeza de *T. castaneum*.

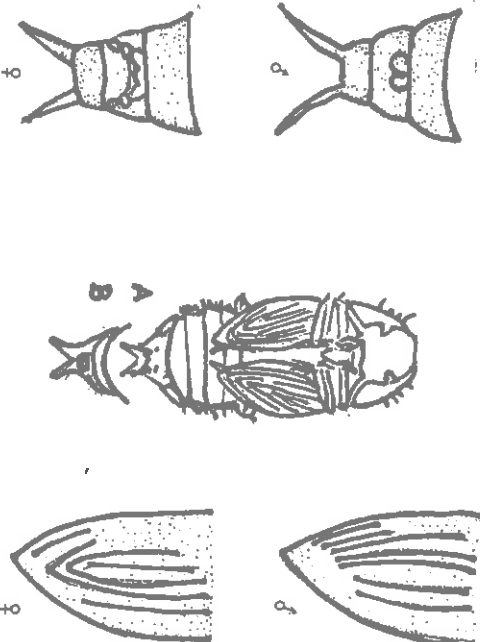


Figura 39. Dimorfismo sexual de *Tribolium*. En el centro visión ventral de la pupa (hembra) de *Tribolium castaneum* (A) y porción lateral del abdomen del macho (B). A la izquierda se presenta ampliada esta misma zona: arriba de un macho y abajo de una hembra; (similar en todo en el caso de *T. confusum*). Los adultos también presentan dimorfismo, aunque la identificación de los sexos es problemática para toda persona no muy familiarizada en el manejo de estos organismos. En todo caso el mejor carácter para el diagnóstico es el dibujo de la parte distal de los élitros: derecha arriba, de macho, y derecha abajo, de hembra, en el caso de *Tribolium confusum*.

1. La mayor parte de las diferencias morfológicas implicadas en el aumento (uso del microscopio estereoscópico) y grado mínimo de cuidado, paciencia y experiencia (por la situación, en este aspecto es la misma que para drosófilas) hacen muy adecuado para escolares sin una familiaridad con técnicas más comunes de laboratorio.
2. Los estadios móviles de *Tribolium* (al canibalismo, especialmente en los cultivos viejos y excepto durante mucho tiempo), ser un inconveniente si se olvidan durante mucho tiempo).
3. Incluso en condiciones óptimas (70% y 70% de humedad) el tiempo de generación es de —aproximadamente— un mes; por tanto, un cruzamiento experimental completo con obtención de una F_2 requiere un tiempo considerable (en este punto *Drosophila* es claramente más adecuada).
4. La separación de sexos en adultos es difícil, excepto para personas experimentadas (debe olvidarse la utilización de esta especie para la comprobación de modelos de herencia ligada al sexo de manifestación en el adulto; no, por ejemplo, en pupa).
5. *Tribolium* segrega quinonas, que juntamente con otros desechos metabólicos se acumulan en los medios de cultivos viejos, haciéndolos gominosos. Estas quinonas pueden constituir una trampa —por su viscosidad— para los adultos, o si están muy concentradas pueden llegar a producir anomalías en las fases juveniles.
6. Los cromosomas son relativamente pequeños y no permiten estudios complementarios de citogenética.

Manejo y utilización

El medio de cultivo ha quedado descrito anteriormente. También se ha dicho que para separar los *Tribolium* de la harina se utilizan cedazos (aprox. de 1 mm); los *Tribolium* se colocarán sobre un papel o cartulina blanca (u otro color que los contraste bien) y con un pincel humedecido se transferirán a la platina de un estereomicroscopio (unos 10 x son generalmente suficientes) donde se realizan las observaciones. Los adultos, por su movilidad, deben ser anestesiados (se puede proceder de igual forma que para las drosófilas).

Otras condiciones generales de cultivo o en la preparación de cruzamientos son similares a las exigidas por el trabajo con drosófila (utilización de hembras vírgenes, retirada de los padres del cultivo una vez comprobada la presencia de descendencia, etc.). Recuérdese no obstante que los huevos quedan mezclados con la harina y que por tanto hay que devolver siempre ésta al medio de cultivo de donde procede).

Del libro: "Didáctica de la Genética", ICE Universidad de Barcelona, 1983.

Les soques de les quals hom disposa són:

Tribolium castaneum

Wild type

pearl: (ojos perla), mientras que en el tipo silvestre el ojo es negro, el autosómico recesivo *pearl* bloquea la síntesis de pigmento produciendo ojos pálidos con reborde («antifaz»).

microcephalic: (microcefalia), autosómico de penetrancia completa que causa una reducción del tamaño de la cabeza, y también por tanto del tamaño de los ojos.

red: recesivo ligado al sexo con penetración total. Ojo de color rojo burdeos.

Tribolium confusum

Wild type

black: (cuerpo negro mate) prácticamente el mismo fenotipo que *ebony*, aunque no es un alelo suyo. Es autosómico semidominante.

Centre de Documentació i Experimentació de Ciències
Ausiàs Marc, 162 Tbl. 245 60 99
08013-BARCELONA

Medi de cultiu de Tribolium confusum i Tribolium castaneum

Una mescla segons la següent proporció:

3 cullerades curulles de farina integral de blat

1 cullarada rasa de llevat de cervesa sec

1 cullarada curulla de sègol.