

PROGRAMA MOSCAMED
Guatemala – México – Estados Unidos

**MANUAL PARA LA DETERMINACIÓN DE FERTILIDAD O ESTERILIDAD DE
ADULTOS DE MOSCA DEL MEDITERRÁNEO *Ceratitis capitata* (Wiedemann).**

Elaborado por:

Grupo Técnico del Programa Moscamed


Grupo de trabajo:


Ing. Jorge C. Guillén Aguilar
Licda. Liliana Muñoz
Ing. Jorge G. López
Ing. Edgar Recinos
Ing. David Domínguez
Ing. Hilario Celedonio
Ing. Luis J. Maldonado


Revisado/ Aprobó MTG


Ing. Raúl Castañeda
Dr. David Midgarden
Ing. Wilmar Méndez
Ing. Edgar Miguel Cotoc
Ing. José Luis Zavala
Ing. Antonio Villaseñor
Ing. Hilario Celedonio

Autorizó UMT:


John Hurley
Director
USDA-APHIS
E.E.U.U.


Eimer Salazar
Director en funciones
MAGA
GUATEMALA


Walther Enkerlin
Co-Director
SAGARPA-SENASICA-DGSV
MÉXICO


José Manuel Gutiérrez
Director
SAGARPA-SENASICA-DGSV
MÉXICO

19 de febrero de 2015

INDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. OBJETIVOS ,.....	7
2.1. De la actividad	7
2.2. Del manual	7
3. DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS UTILIZADOS EN LA DETERMINACION DE FERTILIDAD O ESTERILIDAD DE ADULTOS DE MOSCA DEL MEDITERRANEO	7
3.1. Detección de marcaje fluorescente.....	7
3.1.1. Ingreso de laminillas al laboratorio	7
3.1.2. Extracción de moscas de laminillas	8
3.1.3. Observación de ejemplares con luz ultravioleta UV.....	9
3.1.4. Observación de ejemplares con microscopio epifluorescente.....	11
3.1.5. Deficiencia en el marcaje.....	12
3.2. Disección y determinación de fertilidad o esterilidad por estudio cito-histológico de los órganos reproductores.....	14
3.2.1. Sistema reproductor en las hembras de <i>C. capitata</i> (Wied.)	14
3.2.2. Procedimiento de disección en las hembras.....	17
3.2.3. Maduración ovárica en hembras silvestres y TSL sin irradiar y en hembras irradiadas a 100, 125 y 145 Gy	18
3.2.4. Sistema reproductor en los machos de <i>C. capitata</i> (Wied.)	31
3.2.5. Procedimiento de disección de machos	34
3.2.6. Maduración de testículos en machos, silvestres y TSL sin irradiar comparados con los irradiadas a 100, 125 y 145 Gy	35
4. ASPECTOS RELEVANTES.....	48
5. CASOS ESPECIALES DE CAPTURA EN ÁREA LIBRE Y BAJA PREVALENCIA	51
6. INFORME DE RESULTADOS.....	51
7. MATERIALES Y EQUIPO	52
8. FUNCIONES Y RESPONSABILIDADES DEL PERSONAL TÉCNICO DEL LABORATORIO.....	53
8.1. Jefe del Laboratorio de Identificación:	53
8.2. Técnico Laboratorista:.....	53
9. ACTIVIDADES COLATERALES A LA ACTIVIDAD DE LOS LABORATORIOS.....	54
9.1.1. Control de Calidad interno de la actividad.....	54
9.1.2. Entrenamiento y capacitación.....	54
9.1.3. Exámenes de la vista	54
9.1.4. Programa de estímulos.....	54
9.1.5. Renovación de equipo de microscopia con tecnología de punta, cómputo y mobiliario.....	54
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
11. ANEXOS	57

INDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	PAGINA
Figura 1. Detección de marca fluorescente: a) Pupas de <i>C. capitata</i> ; b) Ingreso de laminillas al laboratorio; c) Extracción de moscas de las laminillas con pegamento; d) Ordenado de moscas en papel cuadriculado: psm= pupas sin marca, pcm= pupas con marca.	9
Figura 2. Observación con luz ultravioleta (UV): a) Observación de moscas ordenadas bajo las lámparas de luz UV (Black Ray modelo B-100AP); b y c) Posición frontal para ver la sutura ptilineal; d) Opción de apoyo con microscopio estereoscópico; e) Moscas que no presentan color de marcaje encerradas en un círculo y código anotado; f) Sutura ptilineal, y zona frontal bien marcada: sfr= sedas frontales espatuladas, spt= sutura ptilineal, zfr= zona frontal.	10
Figura 3. Observación en microscopio Epifluorescente: a) Ordenado de cabeza-cuerpo con deficiencia de marca; b) Observación de capsulas cefálicas bajo el microscopio epifluorescente; c) Mosca marcada en la región interna de la sutura ptilineal; d) Cabeza con dudas en la calidad de la marca: mai= marcas aisladas, rui= región interna u invertida.	11
Figura 4. Deficiencias en el marcaje (Nótese en todos los casos ausencia de marca en sutura ptilinal): a) Severa contaminación de marcaje en la lúnula, base de antenas, carina facial y estructuras bucales; b) Contaminación moderada en, ojos, segmento basal de la antena, y región genal; c) Capsula cefálica contaminada en ojos y área frontal; d) Escasa contaminación en área frontal, carina facial.	12
Figura 5. Determinación final de presencia o ausencia de marca: a) Contaminación moderada en segmentos antenales, carina facial y alrededor de los ojos; b) Posición posterior de la capsula cefálica, exponiendo el orificio occipital al observador; c) Capsula cefálica lavada con xilol, en el siguiente paso resultó con marcas fluorescentes internas; d) Pliegues internos del saco ptilinal con residuos de marca fluorescente de cabeza enseñada en c.; e) Capsula cefálica lavada con xilol, en el siguiente paso resultó sin marcas fluorescentes internas; f) Pliegues internos del saco ptilinal sin residuos de marca fluorescente de cabeza enseñada en e.	13
Figura 6. Sistema reproductor de una hembra silvestre de mosca del Mediterráneo <i>C. capitata</i> (Wied.) de 12 días de edad.	15
Figura 7. Ovariola de una hembra silvestre de mosca del Mediterráneo <i>C. capitata</i> (Wied.) de 12 días de edad, teñida con aceto-orceína.	16
Figura 8. a) TSL sin irradiar de 0 días; b) Silvestre 0 días; c) TSL 100 Gy, 0 días; d) TSL sin irradiar 0 días teñida; e) Silvestre 0 días teñida; f) TSL 125 Gy, 0 días teñida; g) TSL sin irradiar 1 día; h) Silvestre 1 día; i) TSL 145 Gy, 1 día: Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fb= Foliculo basal, Fo= Foliculo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glándula rectal, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral, Ta= Tejido adiposo, Tt= Tubo Traqueal.	19
Figura 9. Longitud de ovarios de <i>C. capitata</i> (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad n= 15.	21
Figura 10. Ancho de ovarios de <i>C. capitata</i> (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad n= 15.	21
Figura 11. a) TSL sin irradiar 1 día, teñida; b) Silvestre 1 día, teñida; c) TSL 100 Gy 1 día, teñida; d) TSL sin irradiar 2 días; e) Silvestre 2 días; f) TSL 125 Gy, 2 días; g) TSL sin irradiar 2 días, teñida; h) Silvestre 2 días, teñida; i) TSL 145 Gy, 2 días, teñida: Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fb= Foliculo basal, Fo= Foliculo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glandula rectal, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral.	22

- Figura 12.** Número de ovocitos maduros por ovario de *C. capitata* (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad n= 30 ovarios..... 24
- Figura 13.** a) TSL sin irradiar 3 días; b) Silvestre 3 días; c) TSL 100 Gy, 3 días; d) TSL sin irradiar 3 días, teñida; e) Silvestre 3 días, teñida; f) TSL 125 Gy, 3 días teñida; g) TSL sin irradiar 4 días; h) Silvestre 4 días; i) TSL 145 Gy, 4 días; Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fo= Folículo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glandula rectal, Om= Ovocito maduro, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral, Ta= Tejido adiposo, Tt= Tubo traqueal..... 25
- Figura 14.** a) TSL sin irradiar 4 días; b) Silvestre 4 días, teñida; c) TSL 100 Gy 4 días, teñida; d) TSL sin irradiar 5-7 días; e) Silvestre 5-7 días; f) TSL 125 Gy, 5-7 días; g) TSL sin irradiar 5-7 días, aumentado; h) Silvestre 5-7 días aumentado; i) TSL 145 Gy, 5-7 días, teñida; Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fo= Folículo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glándula rectal, Om= Ovocito maduro, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral, Ta= Tejido adiposo, Tt= Tubo traqueal..... 26
- Figura 15.** a) TSL sin irradiar 8-20 días; b) Silvestre 8-20 días, teñida; c) TSL 100 Gy, 8-20 días; d) TSL sin irradiar 8-20 días, aumentado; e) Silvestre 8-20 días, aumentado; f) TSL 125 Gy, 8-20 días, teñida; g) TSL sin irradiar 25 días; h) Silvestre 25 días; i) TSL 145 Gy, 25 días; Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fo= Folículo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glándula rectal, Mo= Membrana ovárica, Om= Ovocito maduro, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral..... 28
- Figura 16.** a) TSL sin irradiar 25 días, aumentado; b) Silvestre 25 días, aumentado; c) TSL 100 Gy 25 días, teñida; d) Espermateca hembra silvestre 4 días de edad, sin esperma; e) Espermateca hembra silvestre 10 días de edad, con esperma; f) Espermateca hembra silvestre 10 días de edad; Aumentado: Ce= Conducto espermatecal, Es= Espermateca, Ez= Espermatozoides, Fo= Folículo ovárico, Ge= Germario, Mo= Membrana ovárica, Om= Ovocito maduro, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral, Ta= Tejido adiposo, Tt= Tubos traqueales..... 30
- Figura 17.** Sistema reproductor de un macho silvestre de mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wied.) de 9 días de edad..... 33
- Figura 18.** Testículo de un macho silvestre de mosca del Mediterráneo *C. capitata* de 10 días de edad, señalando las células de las diferentes etapas del desarrollo normal de la espermatogénesis..... 34
- Figura 19.** Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparados con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 0 días; b) Silvestre 0 días; c) TSL 100 Gy, 0 días; d) TSL sin irradiar 1-2 días; e) Silvestre 1-2 días; f) TSL 125 Gy, 1-2 días; g) TSL sin irradiar 1-2 días, región apical aumentada; h) Silvestre 1-2 días, región apical aumentada; i) TSL 125 Gy, 1-2 días, región apical aumentada; El= Esperma libre, Epg= Espermatogonias, Esp= Espermatocitos primarios, Ess= Espermatocitos secundarios, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Zcr= Zona de crecimiento, Est= Espermátidas..... 37
- Figura 20.** Longitud de testículos de *C. capitata* (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad n=15..... 39
- Figura 21.** Ancho de testículos de *C. capitata* (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad n= 15..... 39
- Figura 22.** Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparadas con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 3-4 días; b) Silvestre 3-4 días; c) TSL 145 Gy, 3-4 días; d) TSL sin irradiar 3-4 días región basal aumentada; e) Silvestre 3-4 días región basal aumentada; f) TSL 145 Gy, 3-4 días, región basal aumentada; g) TSL sin irradiar 5 días; h) Silvestre 5 días; i) TSL 100 Gy, 5 días; El= Esperma libre, Epg= Espermatogonias, Esp= Espermatocitos primarios, Ess=

Espermatocitos secundarios, Ft= Funda del testículo, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Vs= Vesícula seminal o base del Testículo. 40

Figura 23. Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparados con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 5 días, región apical aumentada; b) Silvestre 5 días, región apical aumentada; c) TSL 100 Gy, 5 días, región apical aumentada; d) TSL sin irradiar 6 días; e) Silvestre 6 días; f) TSL 125 Gy, 6 días; g) TSL sin irradiar 8 días; h) Silvestre 8 días; i) TSL 145 Gy, 8 días: El= Esperma libre, Epg= Espermatogonias, Ft= Funda del testículo, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Zcr= Zona de crecimiento, Est= Espermátidas. 42

Figura 24. Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparados con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 10 días; b) Silvestre 10 días; c) TSL 100 Gy 10 días; d) TSL sin irradiar 12 días; e) Silvestre 12 días; f) TSL 125 Gy, 12 días; g) TSL sin irradiar 15 días; h) Silvestre 15 días; i) TSL 145 Gy, 15 días: El= Esperma libre, Epg= Espermatogonias, Ft= Funda del testículo, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Zcr= Zona de crecimiento, Est= Espermátidas. 44

Figura 25. Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparados con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 17 días; b) Silvestre 17 días; c) TSL 100 Gy, 17 días; d) TSL sin irradiar 20 días; e) Silvestre 20 días; f) TSL 125 Gy, 20 días; g) TSL sin irradiar 25 días; h) Silvestre 25 días; i) TSL 145 Gy, 25 días: El= Esperma libre, Epg= Espermatogonias, Ft= Funda del testículo, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Zcr= Zona de crecimiento, Est= Espermátidas. 46

INDICE DE CUADROS

CONTENIDO	PAGINA
Cuadro 1. Longitud de ovarios de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiadas a 100, 125 y 145 Gy. (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 hembras por día.	20
Cuadro 2. Ancho de ovarios de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiadas a 100, 125 y 145 Gy. (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 hembras por día.	20
Cuadro 3. Ovocitos maduros por ovario de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiadas a 100, 125 y 145 Gy (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 hembras por día y los dos ovarios.	24
Cuadro 4. Longitud de testículos de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 machos por día.	38
Cuadro 5. Ancho de los testículos de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 machos por día.	38

1. INTRODUCCIÓN

La mosca del Mediterráneo es considerada una de las plagas más dañinas de las frutas y hortalizas, por causar altas pérdidas de cosechas y limitaciones al intercambio comercial entre áreas infestadas y libres. Por esta razón los países tienen programas de prevención, control o erradicación para combatir a esta plaga.

Desde los inicios de la aplicación de la TIE durante los años 70s en los programas de MIP para la supresión y erradicación de la mosca del Mediterráneo, un aspecto de vital importancia y de constante preocupación ha sido la diferenciación certera, confiable y oportuna entre las moscas irradiadas liberadas que son capturadas por los sistemas de trapeo así como las silvestres, ya que de estos diagnósticos se derivan en gran medida las estrategias de control de todo un programa fitosanitario en determinada área, región o país.

La identificación de las moscas silvestres e irradiadas implica una sucesión de técnicas y procedimientos muy especializados, donde expertos en el área tienen como primer paso detectar la marca fluorescente, con el que las moscas fueron marcadas antes de su liberación en el campo y culminar con el diagnóstico de esterilidad o fertilidad de las que no presentaron marca mediante un fino estudio histológico.

Las variaciones producidas por la irradiación en la maduración de testículos y ovarios de *C. capitata*, son graduales y se acentúan con la edad. Este proceso ha sido bien descrito y documentado mediante la comparación de moscas silvestres e irradiadas en el "Manual para la diferenciación de moscas del Mediterráneo *C. capitata* (Wied.) silvestres (fértil) de moscas irradiadas (estériles)" (Guillén 1983). Este manual se utilizó como base para el diagnóstico de esterilidad y fertilidad de las moscas capturadas de la cepa bisexual, irradiada al menos 1 día de emergencia a 145 Gy que era el material biológico que en ese entonces se producía y liberaba en el campo. Sin embargo, cuando en el Programa Moscamed en México y Guatemala se decidió adoptar la cepa TSL para la liberación de machos estériles irradiados a menos 2 días de emergencia a 100, 125 y 145 Gy. Los laboratorios de identificación empezaron a reportar inconsistencias entre las imágenes y descripciones del manual y las observadas en los montajes de testículos de machos estériles cepa TSL capturados, ocasionando que algunos de los diagnósticos fueran dudosos sobre todo en especímenes jóvenes de entre 4 a 6 días de edad.

Basados en los recientes trabajos titulados, "Efecto de la irradiación gamma en los testículos de la mosca del Mediterráneo *C. capitata* (Diptera: Tephritidae) cepa de sexado genético TSL." (Guillén-Aguilar *et al* 2012, en preparación) y "Efecto de la irradiación gamma en los ovarios de la Mosca del Mediterráneo *C. capitata* (Diptera: Tephritidae) cepa de sexado genético TSL." (Guillén-Aguilar *et al* 2011, en preparación), donde se examinan y describen las diferentes características morfológicas, morfométricas e histológicas tanto de testículos como de ovarios de *C. capitata* (Wied.) fértiles (silvestres) y estériles (cepa TSL, irradiadas a 100, 125 y 145 Gy), se presenta ahora esta nueva guía, donde paso a paso y de manera clara, ordenada e ilustrada con microfotografías de alta resolución se describen los métodos y procedimientos para la diferenciación de *C. capitata* silvestres (fértil) o irradiadas (estériles) cepa TSL. Con la aplicación correcta de esta herramienta por parte de los técnicos especialistas en los laboratorios de identificación, se espera que las moscas que se capturan mediante el trapeo

sean identificadas con la certeza, oportunidad y confiabilidad que requiere el Programa Moscamed.

2. OBJETIVOS

2.1. De la actividad

Determinar la fertilidad o esterilidad de los adultos de mosca del Mediterráneo capturados en los diferentes tipos de trampas utilizadas en los programas de control donde se libera la cepa TSL.

2.2. Del manual

- a. Establecer los lineamientos y procedimientos para determinar la fertilidad o esterilidad de los adultos de *C. capitata* (Wied.) cepa TSL.
- b. Constituir una herramienta de capacitación para el personal.

3. DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS UTILIZADOS EN LA DETERMINACION DE FERTILIDAD O ESTERILIDAD DE ADULTOS DE MOSCA DEL MEDITERRANEO

3.1. Detección de marcaje fluorescente

En las plantas de producción y esterilización de la mosca del Mediterráneo en las etapas finales del proceso de cría se realiza el marcaje de pupas. Este, consiste en impregnar a las pupas con un polvo orgánico muy fino de origen vegetal de características fluorescentes (Fig.1a). Durante el proceso de emergencia del adulto el polvo se adhiere al ptilinum que es un órgano membranoso y retráctil que se encuentra en la parte frontal de la capsula cefálica, quedando así marcadas antes de su liberación en el campo. Una vez que las moscas adultas capturadas por la red de trapeo son recibidas en los laboratorios de identificación, se inicia todo el proceso de diferenciación, con la observación de la presencia o ausencia de la marca fluorescente de acuerdo a los siguientes pasos:

3.1.1. Ingreso de laminillas al laboratorio

El técnico del laboratorio encargado de la recepción de material de trapeo proveniente del campo, conjuntamente con cada revisor de trampas (Fig.1,b) verificará el número de laminillas entregadas con captura y sin captura, así como el total de trampas asignadas a revisión coincide con lo registrado en su reporte.(Anexos 5 y 5a). En caso de haber diferencia deberá existir un motivo justificado en el informe diario de campo/laboratorio. De presentarse errores técnicos estos deben ser registrados y reportados por escrito a los encargados de laboratorio y detección (Anexos 5 y 5a). Es recomendable que el ingreso de laminillas no exceda las 24 horas posteriores a la revisión de las trampas, a fin de agilizar los diagnósticos.

3.1.2. Extracción de moscas de laminillas

Después de seleccionar la laminilla a revisar se deben de verificar los datos de ésta con el reporte entregado por el revisor. Antes de iniciar el ordenado de moscas, deberán anotarse los datos de la laminilla en el primer espacio del formato cuadrulado (Anexo 1), cuando se trata del inicio de una ruta, en el espacio inmediato vacío cuando se trata de darle continuidad a las diferentes laminillas de una misma ruta.

Posteriormente todas las moscas presentes en la laminilla pegajosa se ordenan una a la vez en la hoja cuadrulada utilizando un palillo de madera desechable mismo que deberá utilizarse una sola vez por cada extremo y por seguridad romperse en dos partes y en seguida ser desechado para evitar contaminaciones. También se puede usar una aguja de disección entomológica (Fig. 1, c, d), en este caso se deberá tener el cuidado de limpiar con aceite mineral la aguja de disección cada vez que se ordena una mosca. Cada ejemplar ubicado en la cuadrícula deberá colocarse de manera completa y con la parte cefálica orientada hacia arriba y al frente para facilitar su observación en la siguiente fase. A continuación, con la ayuda de una lámpara de magnificación o de un microscopio estereoscópico sencillo, se determina el sexo de cada ejemplar, marcando la cuadrícula con el signo "♀" si corresponde a una hembra, teniendo en cuenta que en éstas, los últimos segmentos abdominales están modificados para formar la terminalia femenina constituida por el sintergosternito 7 (oviscapto), membrana eversible y el ovipositor (aculeus); en los machos la determinación del sexo se efectúa confirmando la presencia de la terminalia masculina en los últimos segmentos abdominales donde se localizan estructuras como las prensisemas y el edeago, que se observa como un fino tubo esclerotizado y enrollado color cobrizo que forma la mayor parte del órgano intromitente; otra característica taxonómica importante en la determinación de los machos consiste, en, identificar el par de setas orbitales superiores en forma espatulada que se localizan en el área frontal cefálica de los ejemplares. (Fig. 2,b).

Cuando se termina de ordenar los ejemplares, se hace el conteo de moscas por sexo y se anota el total de éstas en el cuadro siguiente a la última mosca ordenada. Cuando se trata de trampas (Multilure) donde las capturas están en un medio líquido, las moscas son extraídas en su totalidad y se utiliza el mismo formato cuadrulado para ordenar los ejemplares con los palillos o agujas de disección, acompañadas de una pequeña porción de pegamento para fijarlas y ubicarlas en la posición adecuada para el siguiente paso de observación.

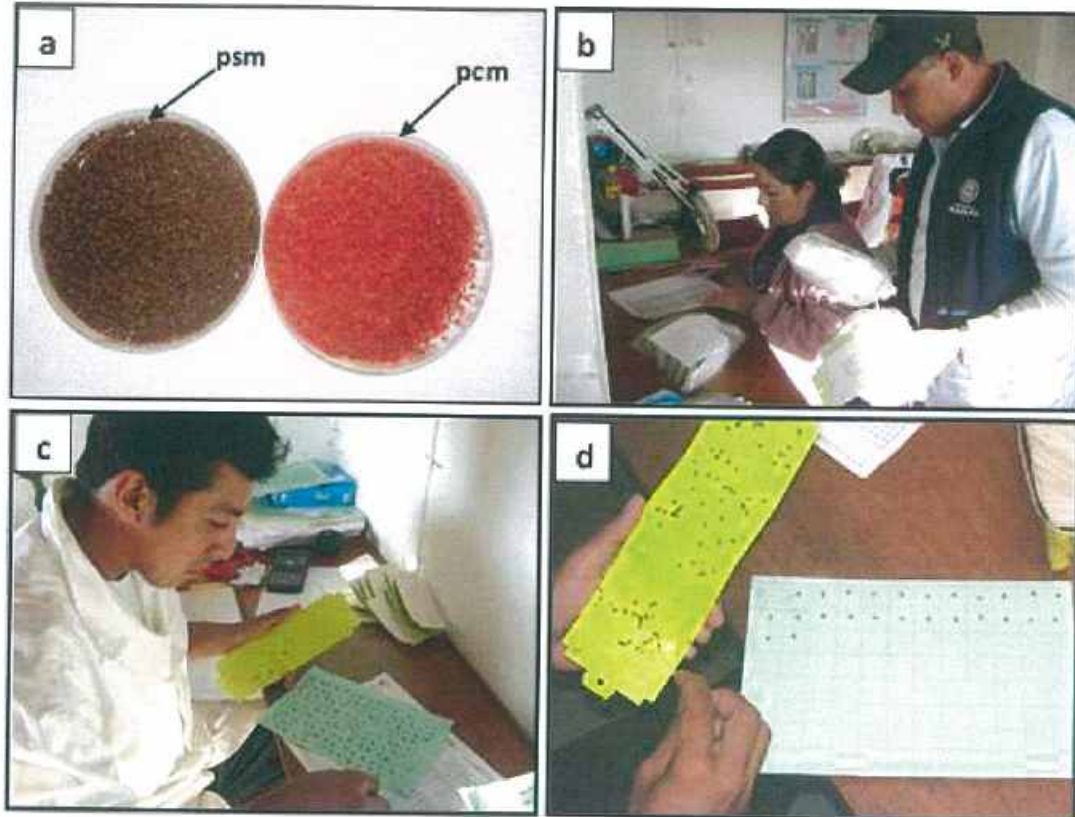


Figura 1. Detección de marca fluorescente: a) Pupas de *C. capitata*; b) Ingreso de laminillas al laboratorio; c) Extracción de moscas de las laminillas con pegamento; d) Ordenado de moscas en papel cuadrículado: psm= pupas sin marca, pcm= pupas con marca.

3.1.3. Observación de ejemplares con luz ultravioleta UV

El siguiente paso es la observación en cuarto oscuro con luz ultravioleta (UV) de todos los ejemplares ordenados para detectar el color fluorescente con que fueron marcados en la planta de producción y esterilización. Las lámparas de luz UV (Black Ray modelo B-100AP)(Fig.2,a) que se usan actualmente presentan en el centro del campo de iluminación un punto más incidente mejorado, con el cono concentrador de luz, por lo que el ejemplar que se va a observar debe de estar exactamente debajo de este punto. Debido a que las moscas pueden contaminarse con colorante en las alas, patas y/o resto del cuerpo, al quedar atrapadas en el pegamento de la laminilla, las moscas deben colocarse ayudadas con la aguja de disección o palillos desechables con la cabeza de frente al observador para observar la sutura ptilineal(Fig.2,b,c). En esta parte del proceso se puede optar por la observación directa de los ejemplares con las lámparas de luz UV o de apoyarse además con un microscopio sencillo estereoscópico (Fig.2,d), esto dependerá de la buena marca que presente el lote de moscas observados, de la intensidad de luz que tenga la lámpara de luz UV y de las condiciones de obscuridad en el área.

Las moscas que no presenten el marcaje fluorescente, se seleccionan en un círculo y se registra con E/M (escasa marca) según sea la apreciación del técnico, (Fig.2,e). Se debe evitar el uso de bolígrafo de tinta roja u otras de tipo fluorescente para evitar confusiones. Las moscas que presenten la marca fluorescente se determinan como estériles (Fig.2,f).

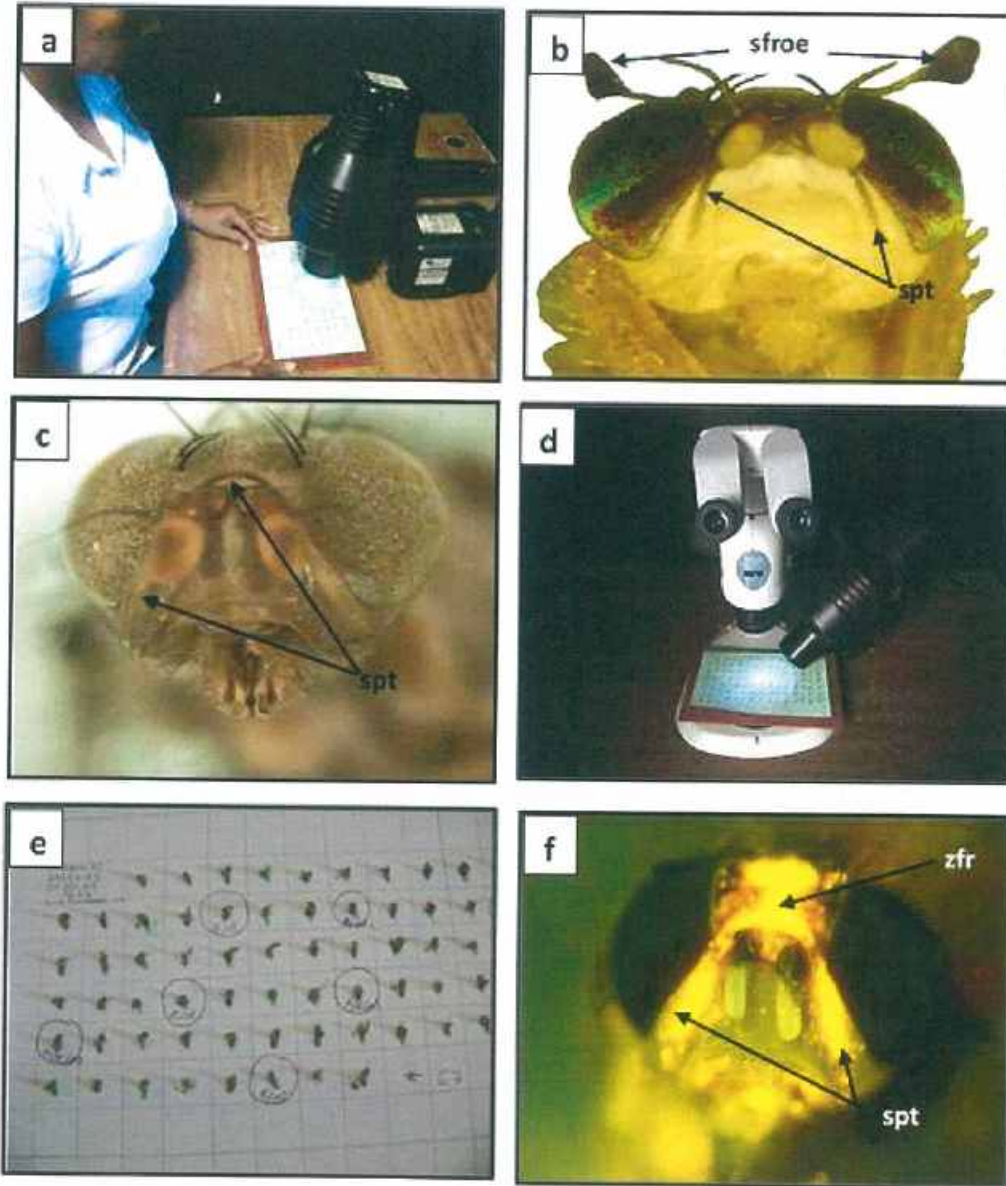


Figura 2. Observación con luz ultravioleta (UV): a) Observación de moscas ordenadas bajo las lámparas de luz UV (Black Ray modelo B-100AP); b y c) Posición frontal para ver la sutura ptilineal; d) Opción de apoyo con microscopio estereoscópico; e) Moscas que no presentan color de marcaje encerradas en un círculo y código anotado; f) Sutura ptilineal, y zona frontal bien marcada: sfroe= sedas frontales espatuladas, spt= sutura ptilineal, zfr= zona frontal.

3.1.4. Observación de ejemplares con microscopio epifluorescente

Las moscas antes seleccionadas en el círculo, deberán trasladarse a una nueva hoja cuadriculada (Anexo1,b). Esta nueva hoja cuadriculada deberá ser mas angosta que la anterior con la finalidad de que tenga mayor margen de maniobrabilidad en los equipos de epifluorescencia.

Al observar la cabeza en el microscopio epifluorescente (Fig. 3,b), se debe centrar la atención del observador en la sutura ptilineal. Si la cabeza no está ubicada en la posición adecuada, debe moverse de tal forma que permita visualizar la sutura de manera completa.

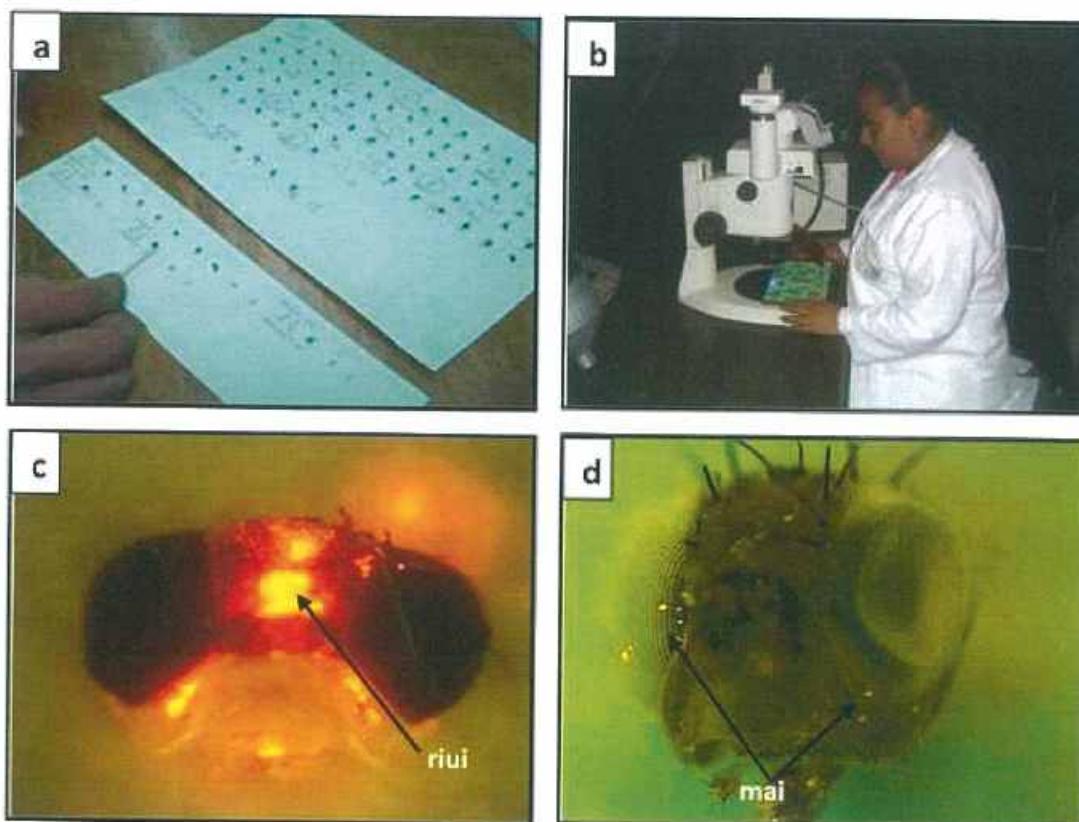


Figura 3. Observación en microscopio Epifluorescente: a) Ordenado de cabeza-cuerpo con deficiencia de marca; b) Observación de capsulas cefálicas bajo el microscopio epifluorescente; c) Mosca marcada en la región interna de la sutura ptilineal; d) Cabeza con dudas en la calidad de la marca: mai= marcas aisladas, riui= región interna u invertida.

A cada cabeza debe dedicársele el tiempo suficiente de observación para detectar la fluorescencia. El punto clave de observación será la sutura ptilineal que tiene forma de "U" invertida. En esta área debe apreciarse la fluorescencia en especial en la parte de la curvatura de la U invertida (Fig.3,c), donde deberá observarse de manera interna y consistente la fluorescencia del colorante. De ser así, el diagnóstico será mosca

marcada y en consecuencia determinada estéril; a la menor duda del marcaje (Fig.3,d) se continuará con el siguiente paso.

3.1.5. Deficiencia en el marcaje

Si el marcaje es muy poco visible o deficiente, escasas partículas dispersas en toda la cápsula cefálica, marcaje muy pobre o se sospeche de algún tipo de contaminación(Fig.4 (a-d), Fig.5, a), entonces la cabeza (Fig.5,c,e) y el cuerpo del ejemplar deberá ser lavado en un frasco con xilol agitándolo alrededor de un minuto, dependiendo de la cantidad de pegamento que tenga adherido y luego trasladado a la solución salina, donde debe permanecer de 5 a 60 minutos según condiciones de conservación del ejemplar. En todo momento debe acompañarse de una etiqueta informativa con los datos: código único de trampa y correlativo de ruta. El siguiente paso es separar la cabeza del resto del cuerpo, se deberá tener cuidado de no perder la exacta correlación entre la cabeza y cuerpo de los ejemplares, y continuar con forme al siguiente procedimiento:

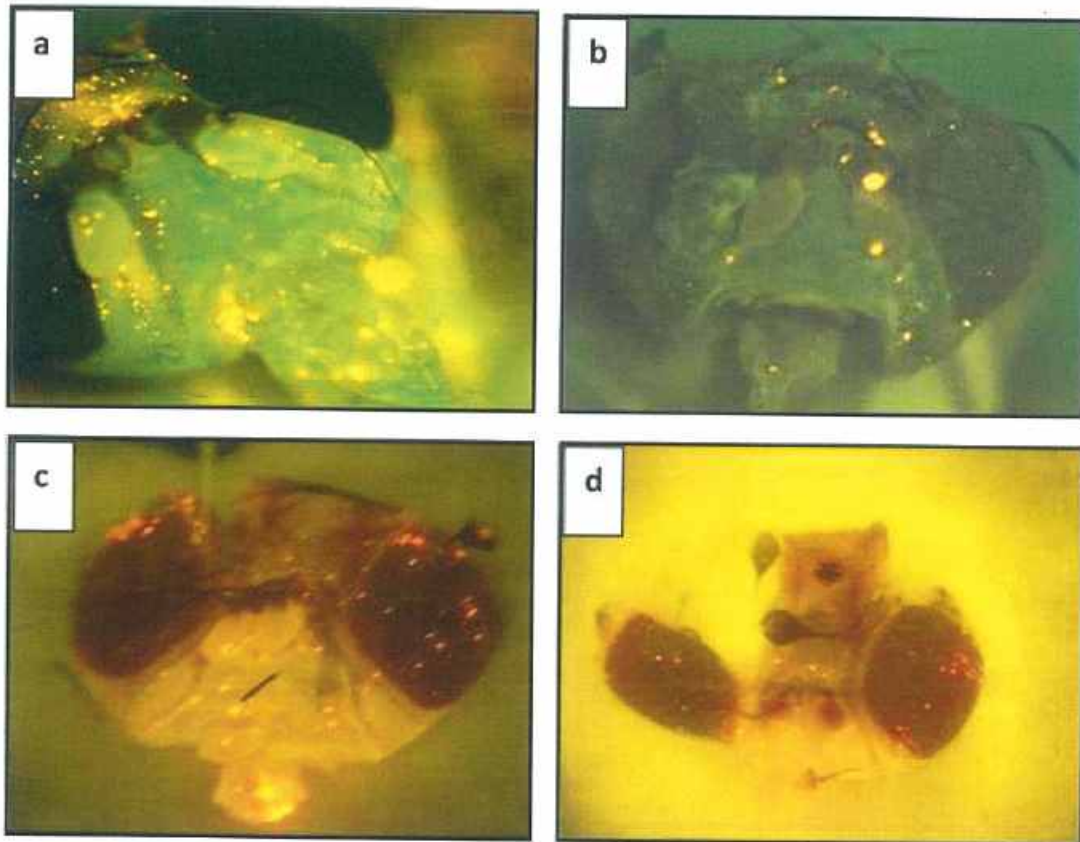


Figura 4. Deficiencias en el marcaje (Nótese en todos los casos ausencia de marca en sutura ptilinal): a) Severa contaminación de marcaje en la lúnula, base de antenas, carina facial y estructuras bucales; b) Contaminación moderada en, ojos, segmento basal de la antena, y región genal; c) Capsula cefálica contaminada en ojos y área frontal; d) Escasa contaminación en área frontal, carina facial.

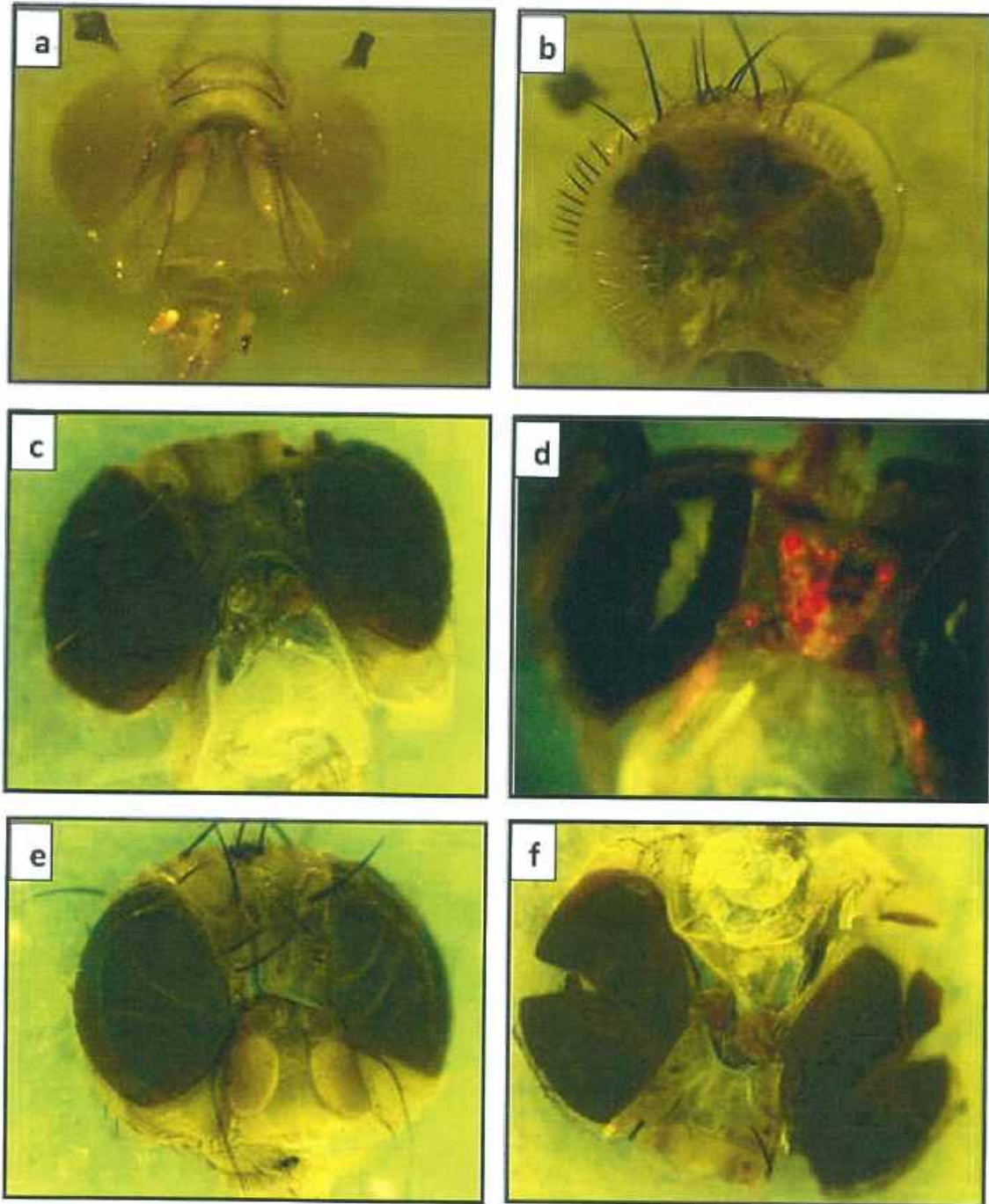


Figura 5. Determinación final de presencia o ausencia de marca: a) Contaminación moderada en segmentos antenales, carina facial y alrededor de los ojos; b) Posición posterior de la capsula cefálica, exponiendo el orificio occipital al observador; c) Capsula cefálica lavada con xilol, en el siguiente paso resultó con marcas fluorescentes internas; d) Pliegues internos del saco ptilinal con residuos de marca fluorescente de cabeza enseñada en c; e) Capsula cefálica lavada con xilol, en el siguiente paso resultó sin marcas fluorescentes internas; f) Pliegues internos del saco ptilinal sin residuos de marca fluorescente de cabeza enseñada en e.

- a. Colocar la cabeza en hoja de papel filtro adherida a una pequeña porción de pegamento limpio (sin contaminación de colorante) en posición posterior de tal forma que el orificio occipital este de frente al observador. (Fig.5,b).
- b. Disección con pinzas de punta extrafina abriendo por el occipucio separando las partes de la cabeza hacia los lados para exponer la parte interna del saco ptilineal.
- c. Verificar minuciosamente bajo el microscopio epifluorescente la presencia o ausencia de marcaje en los pliegues internos del saco ptilineal(Fig.5,d,f).

Si el ejemplar presenta marca de manera interna, aunque estas sean partículas mínimas se determinará como mosca estéril(Fig. 5,d).

Si no presenta marca (Fig.5,f), entonces el ejemplar debe continuar al siguiente y último filtro, que es el estudio cito-histológico de sus órganos sexuales y finalmente determinar su condición de esterilidad o fertilidad.

3.2. Disección y determinación de fertilidad o esterilidad por estudio cito-histológico de los órganos reproductores¹

3.2.1. Sistema reproductor en las hembras de *C. capitata* (Wied.)

La principal función del sistema reproductor femenino es recibir y almacenar los espermatozoides transferidos por los machos en las espermatecas, producir ovocitos maduros, asegurar el encuentro de estos con los espermatozoides para lograr la fertilización y depositarlos en los sustratos alimenticios apropiados para su eclosión y el desarrollo posterior de las larvas. En general, la terminología empleada para describir aquí las diferentes estructuras del sistema reproductor de las hembras se basa en las obras de McAlpine (1981) y Norrbom & Kim (1988), y para las estructuras internas a Dean (1935) y Guillén (1983). Existe una considerable confusión terminológica entre los estudios posteriores donde se han utilizado diferentes términos anatómicos de las mismas estructuras o una terminología incorrecta utilizada en diferentes tefrítidos principalmente en el género *Anastrepha* ampliamente documentada por Martínez y Hernández Ortiz (1997). El sistema reproductor de las hembras consta de los siguientes órganos genitales internos:

Ovarios (Fig.6): En una hembra madura son un par de órganos de forma ovoidea y de origen mesodérmico algo aplanados en su parte ventral y achatados en el extremo anterior, están libres en la cavidad abdominal y son soportadas por las tráqueas ováricas

¹Manual to Differentiate Wild, Fertile Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata*, from Irradiated, Sterile TSL flies [pdf]. Insect Pest Control Section of the Joint FAO/IAEA Division, International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria, September 2013. <http://www-naweb.iaea.org/nafa/ipc/public/manuals-ipc.html>

que se ramifican por encima de la delgada membrana que lo cubre. Munguira, *et al.* (1983), reportan que cada ovario está formado por 20 a 45 ovariolas de tipo politrófico que son las unidades funcionales de los ovarios aunque se encuentran ovarios hasta con 58 ovariolas en hembras maduras de más de 9 días de edad. En la parte más anterior de las ovariolas (Fig.7) se localiza el germario, en el que se encuentran las células germinales. En seguida se forman los folículos ováricos, cada folículo está unido al que le precede y al que sigue por una fila de células foliculares. Primeramente se acumula el vitelo en el ovocito (vitelogénesis) y más adelante ocurre la coriogénesis que es la formación del corion o cubierta exterior del huevo. Las ovariolas tienen una fina membrana formada por células planas que hacen que cada ovariola sea independiente una de otra. En el extremo anterior esta membrana se prolonga formando el filamento terminal. Conforme los folículos van madurando tienen un alargamiento principalmente del ovocito basal, y los trofocitos crecen y se sitúan en la parte apical del folículo alcanzado su mayor tamaño cuando el ovocito ocupa casi la mitad del folículo, posteriormente degeneran y las células foliculares sintetizan el corion. Cuando el ovocito completa su crecimiento, la cubierta folicular se rompe en su parte posterior y el ovocito maduro puede entonces continuar su deslizamiento por el resto de los conductos genitales y la cubierta folicular es reabsorbida.

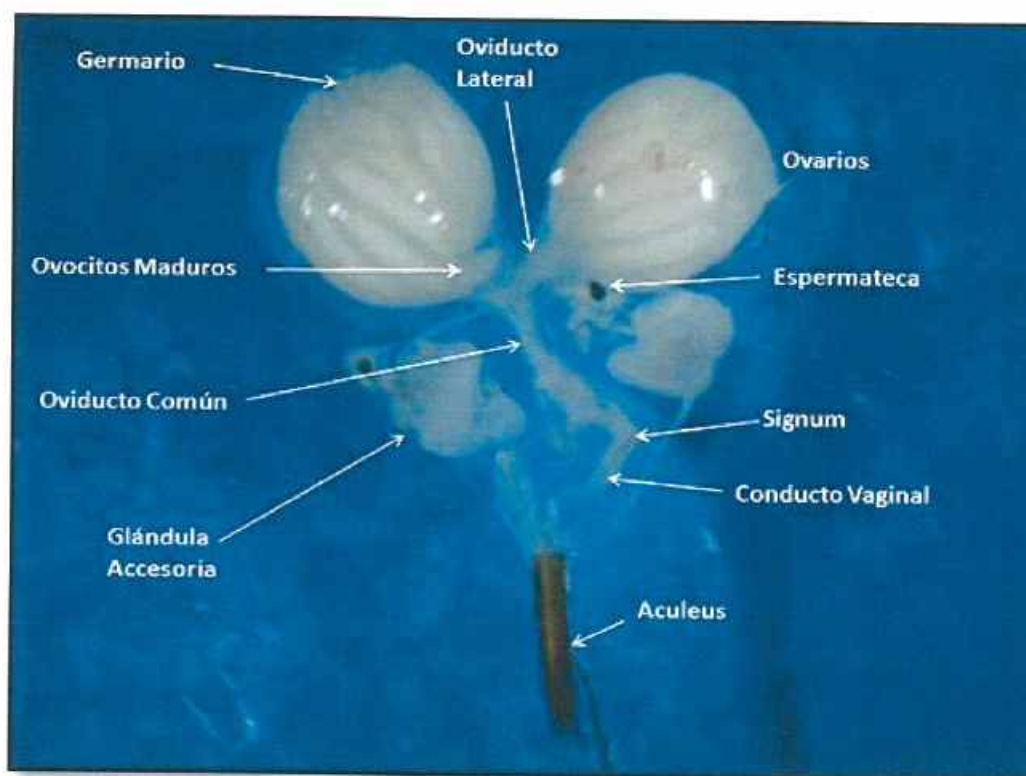


Figura 6. Sistema reproductor de una hembra silvestre de mosca del Mediterráneo *C. capitata* (Wied.) de 12 días de edad.

Oviductos laterales (Fig.6): Son de origen mesodérmico, son cortos de forma cónica, en la parte más cercana al ovario son anchos, desembocando en esta región los pedicelos de las ovariolas.

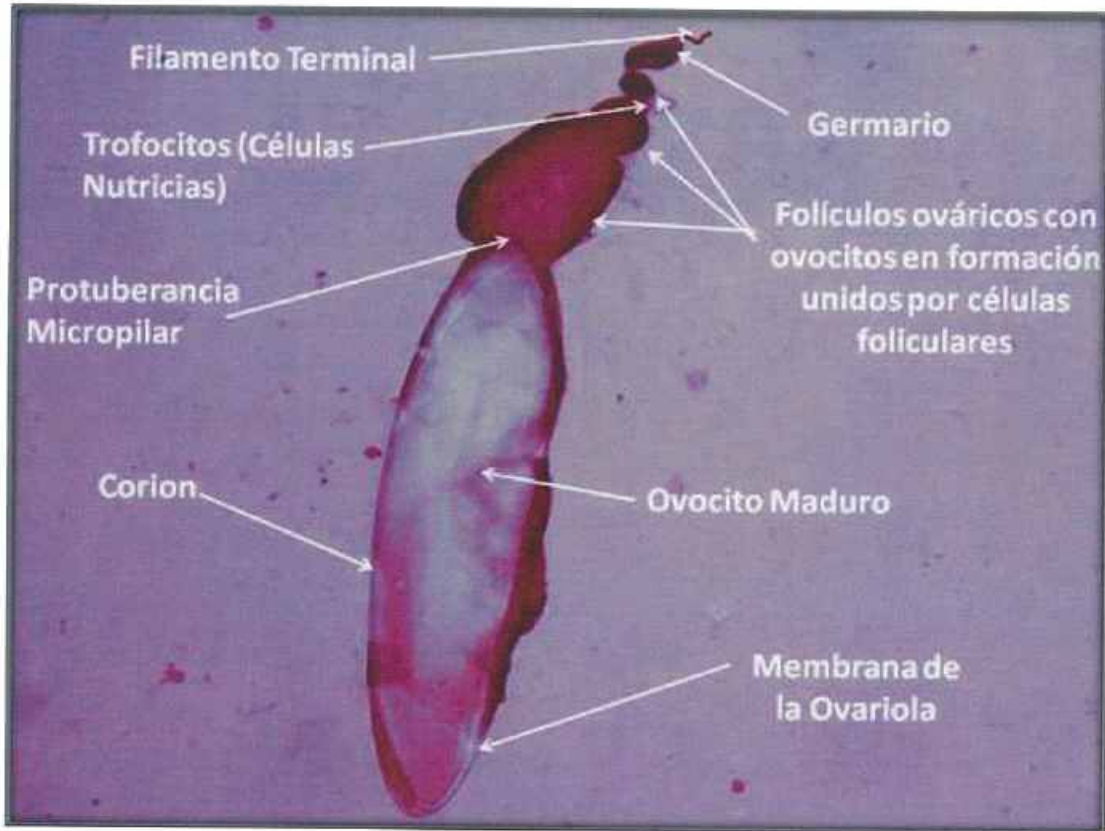


Figura 7. Ovariola de una hembra silvestre de mosca del Mediterráneo *C. capitata* (Wied.) de 12 días de edad, teñida con aceto-orceina.

Oviducto común (Fig.6): Se forma al juntarse los dos laterales que desemboca en el ducto vaginal conducto muy largo que termina en el aculeus. En su parte anterior existe una zona abultada donde probablemente se localice la bursacopulatrix que está formada por una extensión cuticular de la pared ventral llamado receptáculo ventral. En la parte dorsal de la zona abultada desembocan los conductos de las glándulas accesorias y espermatecales. En el tercio basal del conducto vaginal se localizan dos piezas cuticulares formando el signum.

Glándulas accesorias (Fig.6): Constituyendo parte también del sistema reproductor interno de las hembras, se encuentran las glándulas accesorias, estas son en par y de forma acorazonada traslucidas y se ubican en la parte lateral y ventral a los ovarios, las secreciones que producen es vertida al interior de las glándulas donde se acumula y se observan turgentes cuando están en plena actividad. Es probable que las secreciones sirvan para lubricar a los huevos cuando descienden por el oviducto común ya que se conectan a través de los conductos glandulares a la parte dorsal de este conducto.

Espermatecas(Fig.6):Las espermatecas son dos órganos esclerotizados de forma de pera, responsables del almacenamiento de los espermatozoides transferidos por los machos, son de color negro y están rodeados por un epitelio glandular recubriendo el epitelio secretor, células adiposas pueden adherirse a la cubierta protectora de la espermateca y células musculares componen el conducto, estas últimas probablemente sean las responsables del vertido de una pequeña cantidad de esperma cuando la región micropilar del ovocito pasa por la zona engrosada de la vagina. Estos órganos se conectan a la parte dorsal de la vagina a través de sus conductos espermatecales.

Aculeus(Fig.6): También conocido como ovipositor es una estructura muy esclerotizada, que se conecta a la sección posterior del ducto vaginal que es bastante largo y se dobla antes de penetrar al aculeus paralelo al conducto rectal que desemboca en la abertura cloacal ubicada en la parte final del oviducto. Esta estructura altamente esclerotizada, contiene la abertura cloacal que es, por donde salen los huevos al ser depositados en los sustratos de oviposición.

3.2.2. Procedimiento de disección en las hembras

El tórax y abdomen de la hembra cuya cabeza se determinó sin marcaje, y en el último paso se transfirió en un frasco con solución salina (Anexo 2), debe ser retirado de éste. Con el apoyo de un microscopio estereoscópico, se debe colocar el abdomen sobre un porta-objetos en posición dorsal y que el ovipositor apunte hacia el disector. Utilizando una magnificación de 10x a 30 x se deben separar con cuidado todos los segmentos abdominales (dorsales y ventrales) utilizando para ello pinzas entomológicas de punta extrafinas (no. 5) para exponer las estructuras internas de la región abdominal. Cuando los ovarios se encuentran con un grado de madurez avanzado, son bastante voluminosos y ocupan la mayor parte de la región abdominal central. En caso contrario ya sea por su corta edad o existe atrofia por la irradiación se deberán ubicar en la región abdominal central en los extremos de cada oviducto lateral. La disección debe hacerse de manera muy delicada para evitar rupturas de las diferentes estructuras que componen el sistema reproductor de la hembra y únicamente por personal técnico calificado. La disección debe realizarse con el abdomen inmerso en agua destilada para evitar deshidratación de las estructuras, eliminar restos de tejidos que no son de interés en el estudio para centrar la observación en los ovarios, considerando el siguiente aspecto:

Criterio 1. Ovarios con 1, 2 o más ovocitos maduros, debe diagnosticarse fértil.

Criterio 2. Ovarios que tiene apariencia de estar en desarrollo, destruidos o no se definen ovariolas formadas debe observarse la disección en el microscopio compuesto aplicando antes una gota de colorante aceto-orceina(Anexo 3) y colocarle un cubre-objetos. Si se desea conservar un montaje permanente, los ovarios y estructuras adyacentes disectados deberán pasarse a un portaobjetos cóncavo y cubrirlos con un medio de montaje (Bálsamo de Canadá, líquido de Hoyer, Entellan). La determinación final se hace considerando los criterios técnicos del capítulo siguiente.

3.2.3. Maduración ovárica en hembras silvestres y TSL sin irradiar y en hembras irradiadas a 100, 125 y 145 Gy

Día 0 (Emergencia). (Figs.8(a-f),9,10; Cuadros 1,2). Al momento de la emergencia los ovarios en todos los grupos (irradiados y no irradiados) presentan formas redondeadas pero algo más larga que ancha, con abundante tejido graso adherido a la parte externa de ellos y ramificaciones traqueales que se extienden a su interior para aportar oxígeno a los órganos. La cubierta ovárica es delgada pero ya está definida. Los germarios están ya presentes y son de un tamaño mayor que en hembras maduras y ocupan gran parte del área anterior ovárica. En las ovariolas se pueden observar de uno a dos y hasta tres folículos ováricos de forma redondeada por ovariola pues se está iniciando ya la vitelogénesis y aunque en los grupos de moscas irradiadas estos folículos se observan teñidos con menor intensidad con la aceto-orceina que en las no irradiadas no es posible establecer diferencias histológicas consistentes. Por otro lado las tallas promedio oscilan entre 0.383 a 0.395 mm de largo por 0.260 a 0.267 mm de ancho sin diferencias significativas entre los grupos.

Día 1. (Figs.8(g-i),9,10,11(a-c); Cuadros 1,2). Las tallas de todos los grupos aumentan ligeramente llegando a 0.413 mm de longitud promedio en los ovarios de TSL 100 Gy pero no existe diferencia significativa entre los grupos. El resto de las características siguen siendo similares al día 0, si bien los folículos ováricos en irradiadas se observan menos teñidas aún no es posible establecer sólidas diferencias con los grupos de las no irradiadas.

Día 2. (Figs.9,10,11(d-i); Cuadros 1,2). Los ovarios de los grupos TSL sin irradiar y silvestres inician a partir de este día un rápido crecimiento llevando la delantera el primer grupo quien alcanza tallas de 0.614X0.428 mm. En estos ovarios el tejido adiposo se ha reducido y las ovariolas con sus folículos ováricos con cuatro en la mayoría de ellos, han crecido considerablemente. Los ovocitos basales tienen ya formas muy alargadas y son visibles sin la necesidad de tinción con aceto-orceina. Es posible que en esta etapa se inicie la coriogénesis. Separar los ovarios del grupo TSL sin irradiar tanto de las silvestres como de las irradiadas es posible tanto morfométricamente como histológicamente. Pues las silvestres a pesar de que llegan a tallas promedio de 0.435X0.315 mm aún no es posible diferenciar ovocitos basales de formas alargadas y no son visibles sin tinción. Y en el grupo de irradiadas siguen presentando nódulos de tejido adiposo, tubos traqueales y los folículos ováricos escasos y poco teñidos no pueden diferenciarse claramente entre los tres grupos de irradiadas, con tallas son muy similares entre sí con una media de .383X.258 mm. Estas características histológicas hacen difícil que en esta etapa se puedan diferenciar con certeza de las silvestres.

Día 3. (Figs.9,10,12,13 (a-f); Cuadros 1,2,3). Un notable crecimiento se observa ahora en los ovarios de las moscas TSL sin irradiar que adquieren formas ovoideas y alcanzan tallas promedio de 0.991X0.657 mm es decir 2.5 veces más que el día de la emergencia, y sus ovariolas la mayoría presenta folículos ováricos con ovocitos basales que también han crecido considerablemente y que pueden verse sin necesidad de tinción al microscopio estereoscópico con aumentos de 25X. Las cubiertas foliculares se rompen y los ovocitos maduros pueden pasar por los conductos foliculares pudiendo tener la

primera puesta, como se puede observar en hembras precoces en su desarrollo donde ovocitos maduros pueden ser detectados descendiendo por los oviductos laterales. En estos individuos se pueden encontrar de 2 a 10 ovocitos maduros por ovario. El grupo de moscas silvestres que también aumenta sus dimensiones tiene características similares a la de TSL sin irradiar de 2 días de edad, sin embargo, en algunos ejemplares que maduran tempranamente se pueden detectar también ovocitos maduros. En las hembras con menos desarrollo los ovocitos basales se observan de forma alargada y la zona germinal bien definida cuando se utiliza aceto-orceína para teñir a los ovarios. Los tres grupos de irradiadas crecen ligeramente teniendo ovarios redondeados un poco más largos que anchos con tallas promedio de 0.379X0.255 mm que presentan como en el día anterior tejido adiposo y tubos traqueales. Es posible observar como la zona de germarios se tiñen menos debido probablemente a que algunas células en los germarios empiezan a desintegrarse, los folículos ováricos tienen formas redondeadas y se tiñen con menor intensidad que en las no irradiadas estableciendo ya evidencia morfológica e histológica diferente entre ambos grupos.

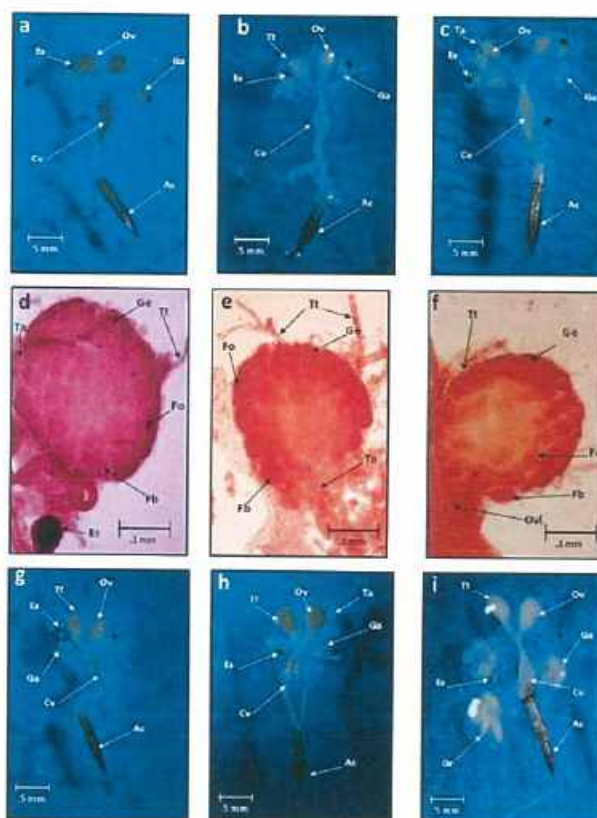


Figura 8. a) TSL sin irradiar de 0 días; b) Silvestre 0 días; c) TSL 100 Gy, 0 días; d) TSL sin irradiar 0 días teñida; e) Silvestre 0 días teñida; f) TSL 125 Gy, 0 días teñida; g) TSL sin irradiar 1 día; h) Silvestre 1 día; i) TSL 145 Gy, 1 día; Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fb= Folículo basal, Fo= Folículo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glándula rectal, Ov= Ovario, Ovi= Oviducto lateral, Ta= Tejido adiposo, Tt= Tubo Traqueal.

Cuadro 1. Longitud de ovarios de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiadas a 100, 125 y 145 Gy. (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 hembras por día.

EDAD (DÍAS)	Longitud de ovarios (mm)									
	TSL SIN IRRADIAR	SILVESTRE	TSL 100 Gy	TSL 125 Gy	TSL 145 Gy					
0	0.386 \pm 0.044	a	0.384 \pm 0.036	a	0.395 \pm 0.036	a	0.385 \pm 0.024	a	0.383 \pm 0.037	a
1	0.401 \pm 0.039	a	0.401 \pm 0.037	a	0.413 \pm 0.043	a	0.405 \pm 0.048	a	0.406 \pm 0.032	a
2	0.614 \pm 0.088	a	0.435 \pm 0.076	b	0.390 \pm 0.024	bc	0.375 \pm 0.047	c	0.386 \pm 0.055	c
3	0.991 \pm 0.159	a	0.475 \pm 0.064	b	0.379 \pm 0.029	c	0.375 \pm 0.036	c	0.385 \pm 0.046	c
4	1.204 \pm 0.163	a	0.623 \pm 0.083	b	0.394 \pm 0.051	c	0.413 \pm 0.049	c	0.399 \pm 0.057	c
5	1.255 \pm 0.153	a	1.045 \pm 0.191	b	0.430 \pm 0.038	c	0.427 \pm 0.068	c	0.423 \pm 0.047	c
6	1.260 \pm 0.175	a	1.070 \pm 0.188	b	0.485 \pm 0.063	c	0.499 \pm 0.070	c	0.491 \pm 0.048	c
7	1.245 \pm 0.103	a	1.189 \pm 0.139	a	0.517 \pm 0.051	b	0.518 \pm 0.054	b	0.502 \pm 0.047	b
8	1.291 \pm 0.058	a	1.284 \pm 0.126	a	0.496 \pm 0.043	b	0.517 \pm 0.050	b	0.500 \pm 0.041	b
9	1.301 \pm 0.140	a	1.311 \pm 0.146	a	0.501 \pm 0.057	b	0.502 \pm 0.062	b	0.513 \pm 0.056	b
10	1.305 \pm 0.123	a	1.311 \pm 0.118	a	0.491 \pm 0.034	b	0.491 \pm 0.047	b	0.503 \pm 0.049	b
11	1.353 \pm 0.079	a	1.299 \pm 0.150	a	0.484 \pm 0.052	b	0.510 \pm 0.057	b	0.482 \pm 0.052	b
12	1.261 \pm 0.150	a	1.339 \pm 0.161	a	0.491 \pm 0.053	b	0.493 \pm 0.053	b	0.519 \pm 0.059	b
13	1.264 \pm 0.160	a	1.201 \pm 0.204	a	0.501 \pm 0.054	b	0.499 \pm 0.042	b	0.483 \pm 0.044	b
14	1.268 \pm 0.181	a	1.261 \pm 0.125	a	0.497 \pm 0.044	b	0.493 \pm 0.045	b	0.505 \pm 0.049	b
15	1.292 \pm 0.154	a	1.237 \pm 0.138	a	0.493 \pm 0.060	b	0.507 \pm 0.047	b	0.494 \pm 0.058	b
16	1.304 \pm 0.181	a	1.304 \pm 0.206	a	0.490 \pm 0.065	b	0.503 \pm 0.061	b	0.495 \pm 0.049	b
17	1.328 \pm 0.078	a	1.277 \pm 0.165	a	0.523 \pm 0.052	b	0.511 \pm 0.038	b	0.505 \pm 0.060	b
18	1.349 \pm 0.103	a	1.298 \pm 0.163	a	0.497 \pm 0.046	b	0.515 \pm 0.056	b	0.517 \pm 0.065	b
19	1.294 \pm 0.110	a	1.327 \pm 0.178	a	0.494 \pm 0.057	b	0.526 \pm 0.052	b	0.494 \pm 0.051	b
20	1.311 \pm 0.102	a	1.292 \pm 0.115	a	0.526 \pm 0.060	b	0.503 \pm 0.069	b	0.511 \pm 0.044	b
25	1.327 \pm 0.095	a	1.341 \pm 0.080	a	0.519 \pm 0.062	b	0.495 \pm 0.057	b	0.505 \pm 0.043	b

Para cada variable, seguida de la misma letra, en la misma fila significa que no son estadísticamente diferentes (Prueba de Fisher, $P < 0.05$).

Cuadro 2. Ancho de ovarios de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiadas a 100, 125 y 145 Gy. (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 hembras por día.

EDAD (DÍAS)	Ancho de ovarios (mm)									
	TSL SIN IRRADIAR	SILVESTRE	TSL 100 Gy	TSL 125 Gy	TSL 145 Gy					
0	0.351 \pm 0.042	a	0.313 \pm 0.038	b	0.333 \pm 0.030	ab	0.315 \pm 0.039	b	0.339 \pm 0.040	ab
1	0.345 \pm 0.037	a	0.296 \pm 0.030	b	0.293 \pm 0.033	b	0.295 \pm 0.029	b	0.276 \pm 0.036	b
2	0.326 \pm 0.036	a	0.305 \pm 0.038	a	0.282 \pm 0.022	b	0.277 \pm 0.027	b	0.276 \pm 0.022	b
3	0.326 \pm 0.026	a	0.309 \pm 0.039	ab	0.292 \pm 0.031	bc	0.275 \pm 0.019	c	0.276 \pm 0.034	c
4	0.323 \pm 0.023	a	0.296 \pm 0.032	b	0.289 \pm 0.033	b	0.283 \pm 0.029	b	0.277 \pm 0.035	b
5	0.316 \pm 0.037	a	0.303 \pm 0.043	ab	0.284 \pm 0.036	b	0.294 \pm 0.030	ab	0.284 \pm 0.047	b
6	0.315 \pm 0.035	a	0.295 \pm 0.034	a	0.236 \pm 0.020	b	0.228 \pm 0.029	b	0.231 \pm 0.026	b
7	0.305 \pm 0.036	a	0.295 \pm 0.037	a	0.234 \pm 0.035	b	0.218 \pm 0.020	b	0.223 \pm 0.021	b
8	0.295 \pm 0.031	a	0.295 \pm 0.033	a	0.233 \pm 0.039	b	0.223 \pm 0.025	b	0.229 \pm 0.032	b
9	0.305 \pm 0.031	a	0.289 \pm 0.030	a	0.205 \pm 0.019	b	0.215 \pm 0.033	b	0.199 \pm 0.025	b
10	0.295 \pm 0.030	a	0.285 \pm 0.033	a	0.203 \pm 0.035	b	0.196 \pm 0.029	b	0.209 \pm 0.038	b
11	0.295 \pm 0.031	a	0.286 \pm 0.031	a	0.211 \pm 0.043	b	0.198 \pm 0.029	b	0.197 \pm 0.025	b
12	0.279 \pm 0.036	a	0.279 \pm 0.023	a	0.185 \pm 0.024	b	0.186 \pm 0.019	b	0.193 \pm 0.032	b
13	0.280 \pm 0.033	a	0.284 \pm 0.022	a	0.193 \pm 0.031	b	0.185 \pm 0.023	b	0.185 \pm 0.024	b
14	0.287 \pm 0.028	a	0.291 \pm 0.031	a	0.186 \pm 0.031	b	0.187 \pm 0.033	b	0.185 \pm 0.024	b
15	0.286 \pm 0.034	a	0.275 \pm 0.028	a	0.185 \pm 0.027	b	0.175 \pm 0.033	b	0.175 \pm 0.027	b
16	0.290 \pm 0.040	a	0.270 \pm 0.027	a	0.183 \pm 0.032	b	0.175 \pm 0.019	b	0.165 \pm 0.030	b
17	0.285 \pm 0.032	a	0.276 \pm 0.029	a	0.173 \pm 0.032	b	0.165 \pm 0.027	b	0.174 \pm 0.034	b
18	0.277 \pm 0.030	a	0.275 \pm 0.032	a	0.175 \pm 0.025	b	0.165 \pm 0.031	b	0.162 \pm 0.026	b
19	0.278 \pm 0.030	a	0.265 \pm 0.043	a	0.164 \pm 0.028	b	0.163 \pm 0.028	b	0.151 \pm 0.025	b
20	0.278 \pm 0.026	a	0.273 \pm 0.023	a	0.165 \pm 0.023	b	0.145 \pm 0.021	c	0.145 \pm 0.021	c
25	0.269 \pm 0.029	a	0.265 \pm 0.024	a	0.141 \pm 0.026	b	0.135 \pm 0.026	b	0.142 \pm 0.024	b

Para cada variable, seguida de la misma letra, en la misma fila significa que no son estadísticamente diferentes (Prueba de Fisher, $P < 0.05$).

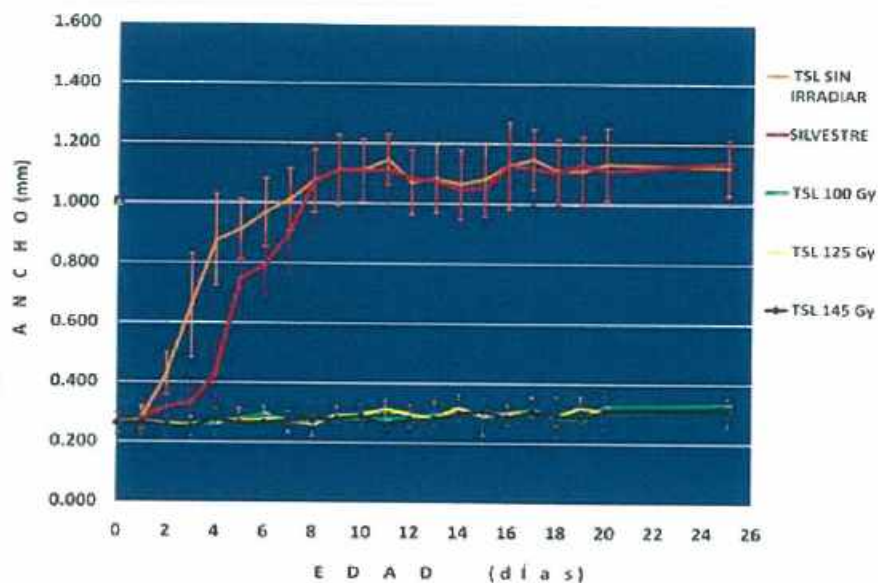


Figura 9. Longitud de ovarios de *C. capitata* (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad $n=15$.

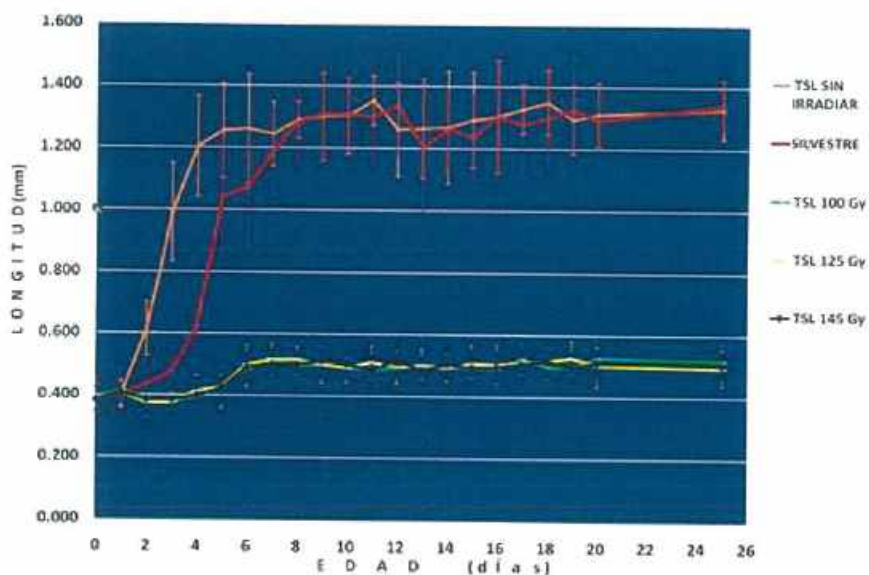


Figura 10. Ancho de ovarios de *C. capitata* (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad $n=15$.

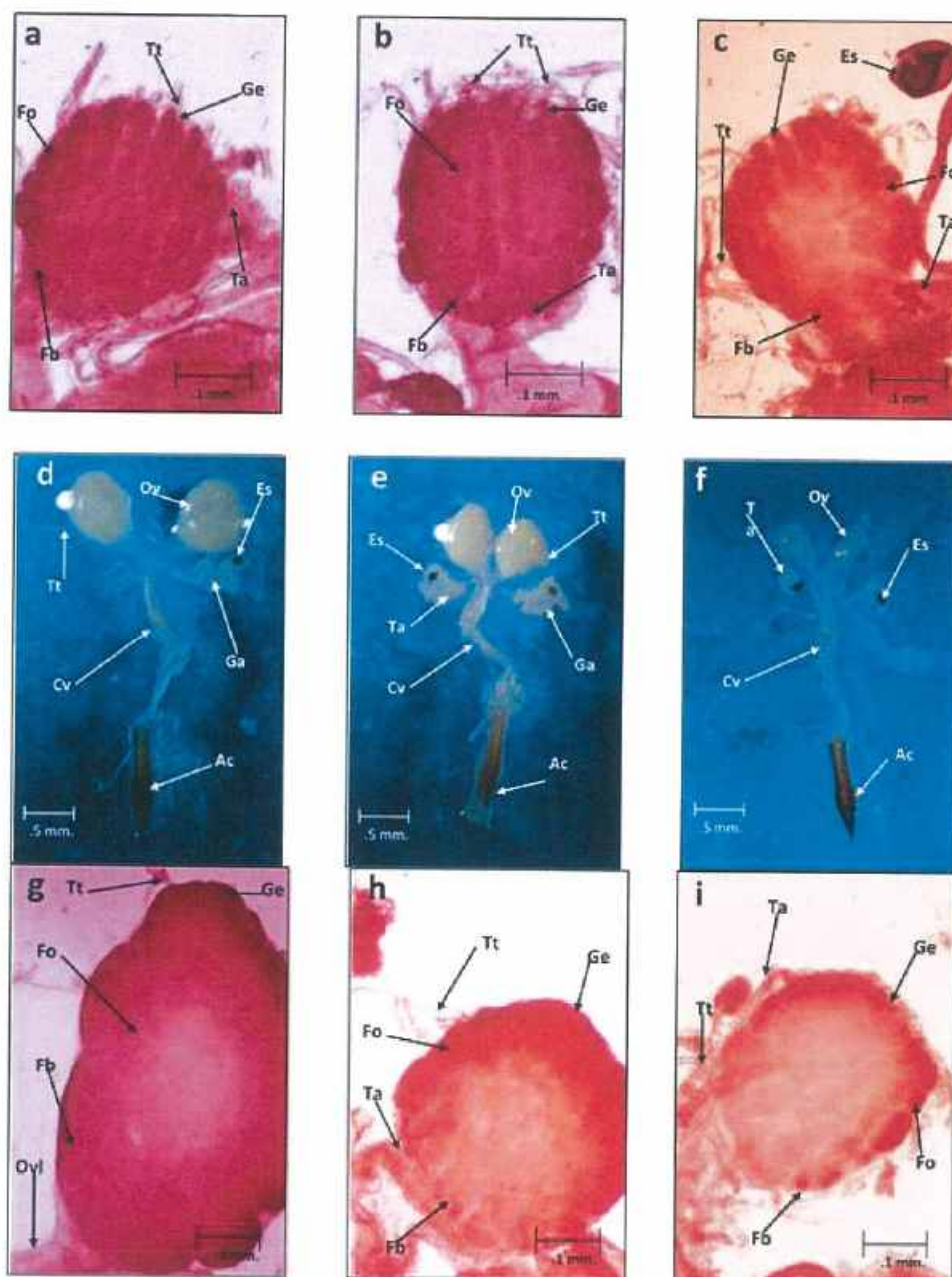


Figura 11. a) TSL sin irradiar 1 día, teñida; b) Silvestre 1 día, teñida; c) TSL 100 Gy 1 día, teñida; d) TSL sin irradiar 2 días; e) Silvestre 2 días; f) TSL 125 Gy, 2 días; g) TSL sin irradiar 2 días, teñida; h) Silvestre 2 días, teñida; i) TSL 145 Gy, 2 días, teñida: Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fb= Folículo basal, Fo= Folículo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glandula rectal, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral.

Día 4. (Figs.9,10,12,13 (g-i),14 (a-c); Cuadros 1,2,3). Continúa el desarrollo ovárico y los ovarios de TSL sin irradiar pueden medir en promedio 1.204 ± 0.163 mm de longitud por 0.323 ± 0.023 mm de ancho. Son de forma ovoidea y la mayoría de las ovariolastienen forma muy alargada

con los ovocitos basales ocupando casi la mitad inferior del ovario visible a simple vista o con la ayuda del estereoscopio con 25X. Los germarios han disminuido de tamaño con respecto a los primeros días y se orientan al azar en la parte anterior, que junto con los filamentos terminales forman una red que delimita al ovario en su parte apical dándole forma redondeada. A esta edad se pueden encontrar ovocitos maduros en los ovarios de la mayoría de hembras oscilando entre 2 y 28 con una media de 10.06 ± 7.52 que nos indica además que no todas las hembras tienen el mismo grado de madurez. Las hembras silvestres también siguen creciendo en talla alcanzando en promedio 0.623 ± 0.083 mm de longitud por 0.427 ± 0.112 mm con características muy similares a las moscas de entre 2 y 3 días de la TSL sin irradiar, sin embargo, es posible encontrar ovarios con hasta 11 ó 12 ovocitos maduros y con el resto de ovocitos basales grandes alargados y en plena coriogenesis, estos ovocitos son visibles a simple vista o con ayuda del estereoscopio a 25X.

El grupo de irradiadas crece mínimamente y se mantienen todos los grupos en tallas promedio de 0.402 de longitud por 0.270 mm de ancho sin diferencias importantes entre estos grupos (Cuadro 1 y 2). En todos los grupos de irradiados los ovarios siguen presentando tejido adiposo adherido a la superficie de los esbozos de ovarios y también tienen ramificaciones traqueales alrededor de los órganos, al teñir estas estructuras con aceto-orceina es posible observar disminución de células en el área de germarios y aun es posible observar folículos ováricos de formas redondas que hacen esfuerzos por desarrollarse pero ya algunos se van desintegrando dejando grandes espacios intercelulares y los que quedan se tiñen cada vez con menos intensidad que en días anteriores.

Días 5, 6 y 7. (Figs. 9,10,12,14 (d-i); Cuadros 1,2,3). En estos días el incremento en el tamaño de los ovarios continúa tanto en TSL sin irradiar como en silvestres haciéndose cada día menos la diferencia entre ambas llegando a tener al día 7 tallas promedio de 1.245 X 1.013 mm en el primer grupo y de 1.189 X 0.907 mm en las silvestres donde ya no existe diferencia estadística significativa entre ellas. La producción de ovocitos maduros se ha generalizado y las ovariolas de todas las hembras de la cepa TSL sin irradiar presentan ovocitos maduros ya listos para ser ovipositados lo que algunos autores (Kendra et al. 2006) describen como "la carga de huevos". Sin embargo se puede encontrar amplia variación en la cantidad de ovocitos maduros por ovariola que va desde 5 hasta 26 con medias de 14.4, 11.2 y 12 para los días 5, 6 y 7, respectivamente, lo que nos indica por un lado que hay claras diferencias en el desarrollo ovárico aun en grupos de la misma edad, pero también las puestas de huevos ya puede estar ocurriendo, debido al grado de madurez sexual temprana de estas hembras. Lo anterior es aplicable también al grupo de silvestres, no obstante una carga de huevos menor puede ser observada respecto al grupo anterior y con una variación más amplia ya que se pueden contabilizar los ovocitos maduros en ovariolas desde 0 hasta 32, con medias de 8.0, 9.0 y 9.2 para los días 5, 6 y 7, respectivamente. Estas medias se ven afectadas a la baja ya que en algunas hembras la cantidad es mínima, condición que nos indica aun mayor diferencia en la madurez sexual entre estas hembras que en las de TSL sin irradiar.

Cuadro 3. Ovocitos maduros por ovario de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiadas a 100, 125 y 145 Gy (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 hembras por día y los dos ovarios.

EDAD (DÍAS)	Ovocitos maduros				
	TSL SIN IRRADIAR	SILVESTRE	TSL 100 Gy	TSL 125 Gy	TSL 145 Gy
0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
1	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
2	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
3	1.2 \pm 2.7	a	0.1 \pm 0.7	b	0.0 \pm 0.0
4	10.1 \pm 7.5	a	0.8 \pm 2.9	b	0.0 \pm 0.0
5	14.4 \pm 4.9	a	8.0 \pm 5.7	b	0.0 \pm 0.0
6	11.3 \pm 5.1	a	9.1 \pm 6.0	a	0.0 \pm 0.0
7	12.0 \pm 4.7	a	9.2 \pm 8.6	a	0.0 \pm 0.0
8	14.2 \pm 5.9	b	19.8 \pm 9.9	a	0.0 \pm 0.0
9	16.5 \pm 5.0	a	18.0 \pm 6.8	a	0.0 \pm 0.0
10	15.9 \pm 5.9	a	18.2 \pm 10.8	a	0.0 \pm 0.0
11	16.6 \pm 6.0	a	20.3 \pm 10.5	a	0.0 \pm 0.0
12	17.3 \pm 6.3	b	26.3 \pm 8.9	a	0.0 \pm 0.0
13	20.2 \pm 8.1	a	18.0 \pm 5.5	a	0.0 \pm 0.0
14	18.5 \pm 5.0	a	20.8 \pm 8.3	a	0.0 \pm 0.0
15	21.9 \pm 10.9	a	18.7 \pm 5.4	a	0.0 \pm 0.0
16	28.3 \pm 10.7	a	23.0 \pm 6.9	b	0.0 \pm 0.0
17	21.2 \pm 12.8	a	20.9 \pm 11.1	a	0.0 \pm 0.0
18	23.9 \pm 8.6	a	16.6 \pm 6.3	b	0.0 \pm 0.0
19	26.8 \pm 8.2	a	16.4 \pm 5.8	b	0.0 \pm 0.0
20	21.5 \pm 10.8	a	12.0 \pm 3.6	b	0.0 \pm 0.0
25	20.7 \pm 9.7	a	12.3 \pm 2.7	b	0.0 \pm 0.0

Para cada variable, seguida de la misma letra, en la misma fila significa que no son estadísticamente diferentes (Prueba de Fisher, $P < 0.05$).

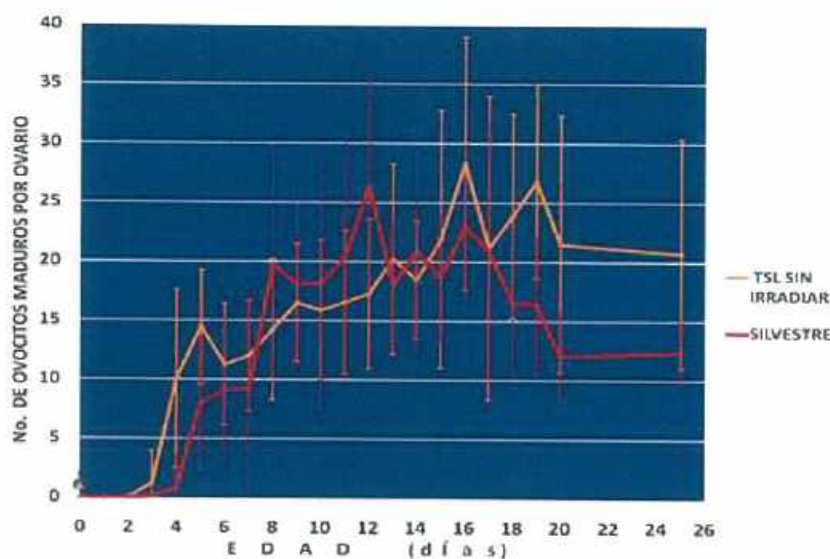


Figura 12. Número de ovocitos maduros por ovario de *C. capitata* (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad n= 30 ovarios.

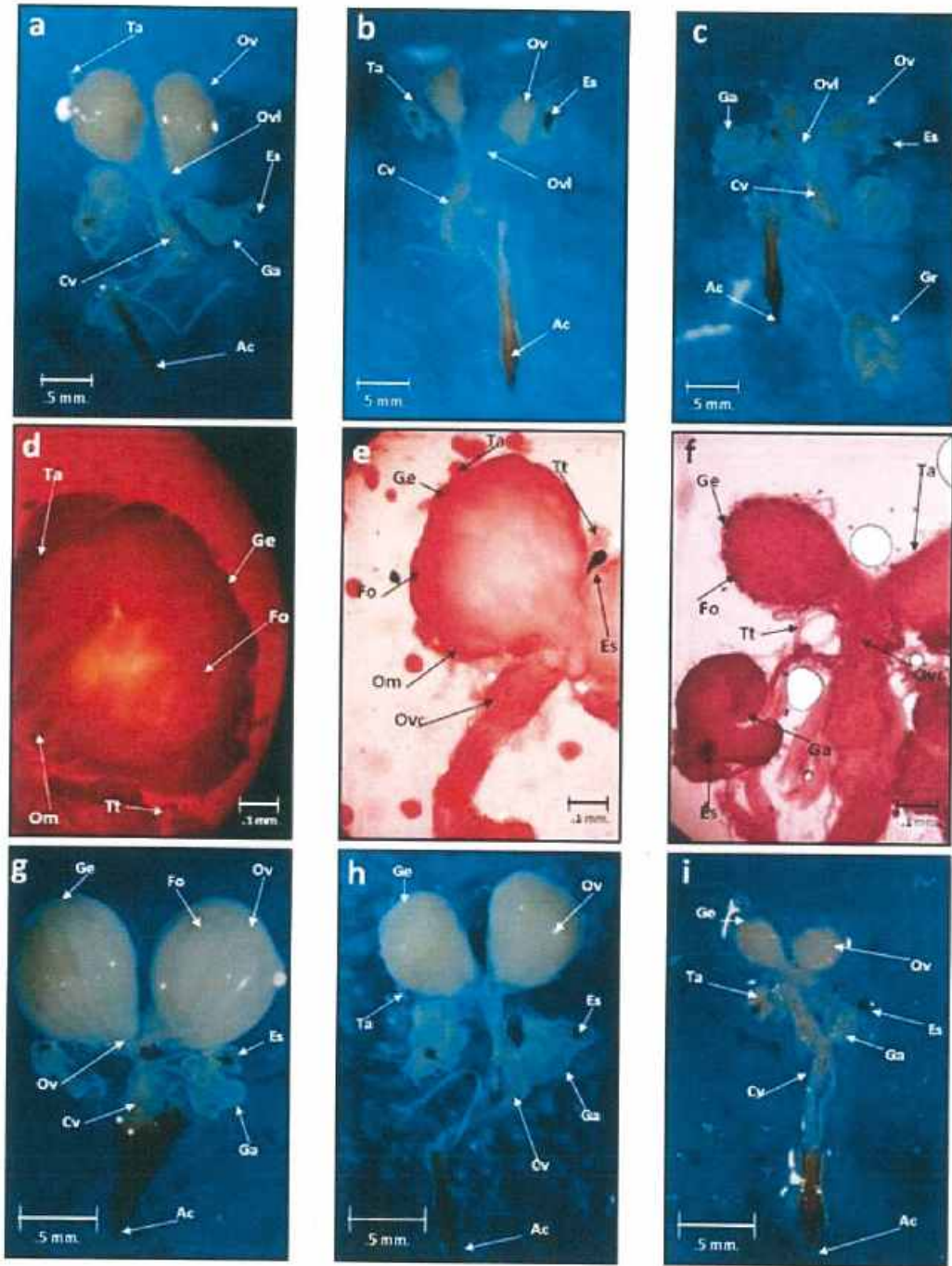


Figura 13. a) TSL sin irradiar 3 días; b) Silvestre 3 días; c) TSL 100 Gy, 3 días; d) TSL sin irradiar 3 días, teñida; e) Silvestre 3 días, teñida; f) TSL 125 Gy, 3 días teñida; g) TSL sin irradiar 4 días; h) Silvestre 4 días; i) TSL 145 Gy, 4 días: Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fo= Folículo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glándula rectal, Om= Ovocito maduro, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral, Ta= Tejido adiposo, Tt= Tubo traqueal.

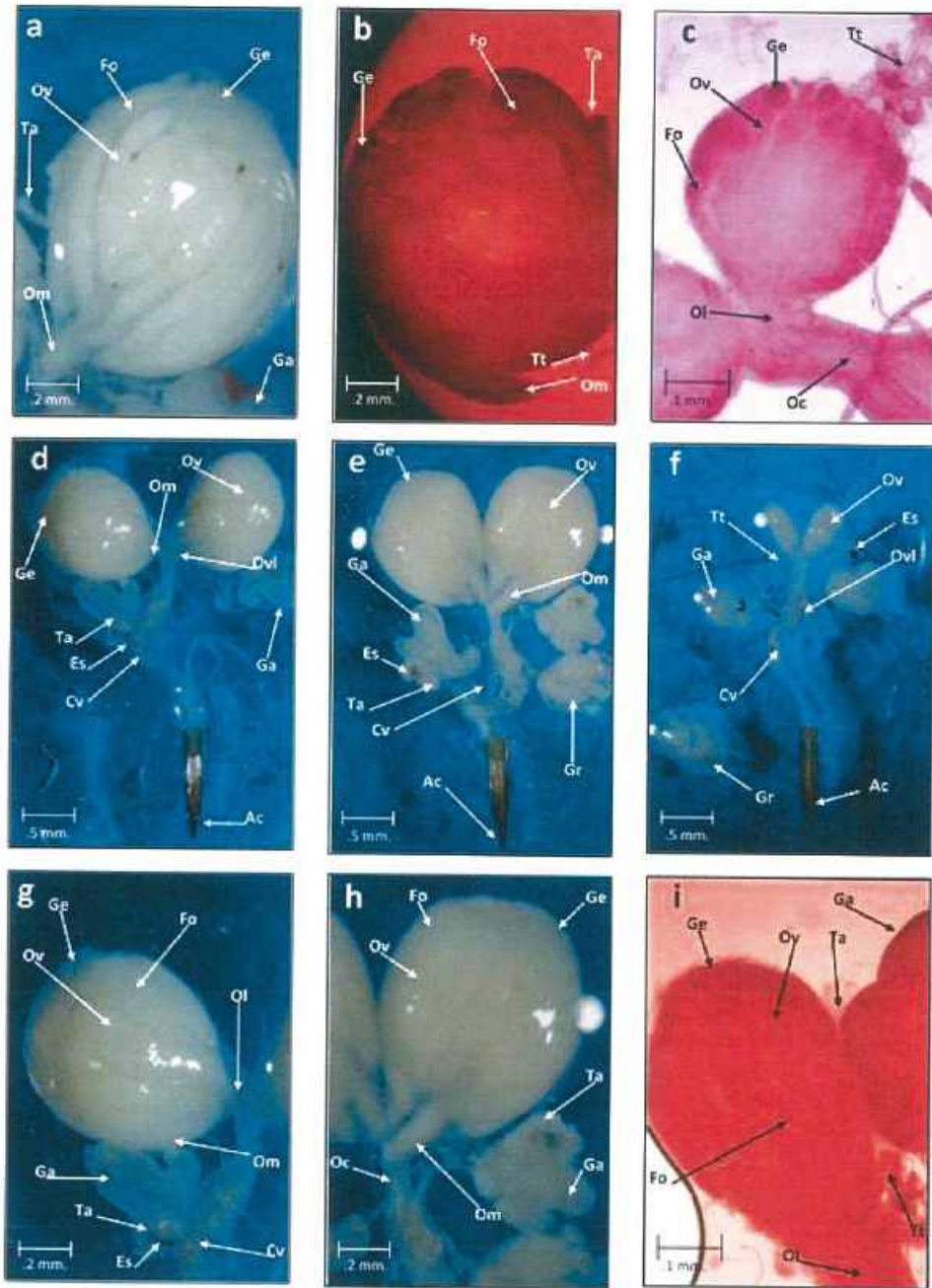


Figura 14. a) TSL sin irradiar 4 días; b) Silvestre 4 días, teñida; c) TSL 100 Gy 4 días, teñida; d) TSL sin irradiar 5-7 días; e) Silvestre 5-7 días; f) TSL 125 Gy, 5-7 días; g) TSL sin irradiar 5-7 días aumentado; h) Silvestre 5-7 días, aumentado; i) TSL 145 Gy, 5-7 días, teñida: Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fo= Folículo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glándula rectal, Om= Ovócito maduro, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral, Ta= Tejido adiposo, Tt= Tubo traqueal.

En las cepas TSL irradiadas para estos días los ovarios aún pueden crecer ligeramente de largo y ancho llegando alcanzar al día 7 tallas entre 0.502 X 0.270 mm y 0.518 X 0.276 mm sin diferencias morfométricas importantes entre estos grupos. En los ovarios de estos grupos se observa tejido adiposo y ramificaciones traqueales muy fibrosas sobre los esbozos de estos órganos. Al teñir estas estructuras con aceto-orceina se pueden observar menor cantidad de células en los germarios que se tiñen débilmente y aúnes posible detectar folículos ováricos de formas redondas que poco a poco se van desintegrando dejando espacios intercelulares y los que quedan se tiñen cada vez con menos intensidad que en días anteriores. Sin embargo establecer diferencias histológicas claras entre este grupo y entre los días anteriores del grupo de irradiados sigue siendo riesgoso.

Días 8 a 20. (Figs. 9,10,11 (a-c), 15 (a-f); Cuadros 1,2,3). Este rango de edades se caracteriza por una estabilidad en los parámetros morfométricos, histológicos y fisiológicos en todos los grupos. En estos días los ovarios de TSL sin irradiar y silvestres se pueden mantener en los rangos de 1.201 ± 0.204 a 1.353 ± 0.079 mm de longitud y de 1.047 ± 0.016 a 1.149 ± 0.100 mm de ancho sin diferencias importantes entre los dos grupos. La fluctuación entre los dos grupos y entre los del mismo grupo se debe seguramente a interfaces de oviposición y pausas, aunque es posible encontrar algunos ejemplares con tallas hasta de 1.750 X 1.450 mm, con oviductos laterales atrofiados (muy delgados) seguramente la razón del gran tamaño en estos órganos al tener limitantes para la oviposición. En general, los ovarios tienen formas ovoideas un poco achatadas en la región apical, aunque en algunos casos tienen forma redondeada o globosa y la membrana que lo cubre es ahora más fina y traslucida. Las ovariolas tienen formas muy alargadas visibles a simple vista o con mínimos aumentos en el estereoscopio, poseen folículos ováricos en diferentes etapas de desarrollo y los folículos basales con numerosos ovocitos maduros de color blanco opaco listos para ser ovipositados que inclusive se pueden observar descendiendo por lo oviductos laterales. Las espermatecas se pueden observar con tejido adiposo a su alrededor, y las glándulas accesorias grandes llenas de secreciones y traslucidas. Con estas características podemos considerar que estas hembras están en una etapa de madurez sexual avanzada, pues los ovarios se encuentran en plena producción de huevos, y aunque aún existe variación entre las mismas edades, las medias en la carga de huevos que se pueden encontraren este rango para la cepa TSL irradiadas fluctúa entre 14.2 ± 5.9 y 28.3 ± 10.6 ovocitos maduros por ovario y para el caso de las silvestres entre 12 ± 3.6 y 26.3 ± 8.9 por ovario ambas alcanzando los máximos registros entre los días 12 y 19 (Cuadro 3). Por otro lado es posible encontrar ovarios con cifras record en el total de ovocitos maduros con 57 y 60 en TSL sin irradiar en el día 15 y de 48 en el día 17 para las silvestres. Los tres grupos de irradiadas se estabilizan en su crecimiento y los ovarios se mantienen a lo largo de estos días en tallas que oscilan entre 0.482 a 0.526 mm de longitud y 0.258a 0.325mmdeanchosin diferencias estadísticas significativas morfométricas entre estos grupos (Cuadro 1y 2).

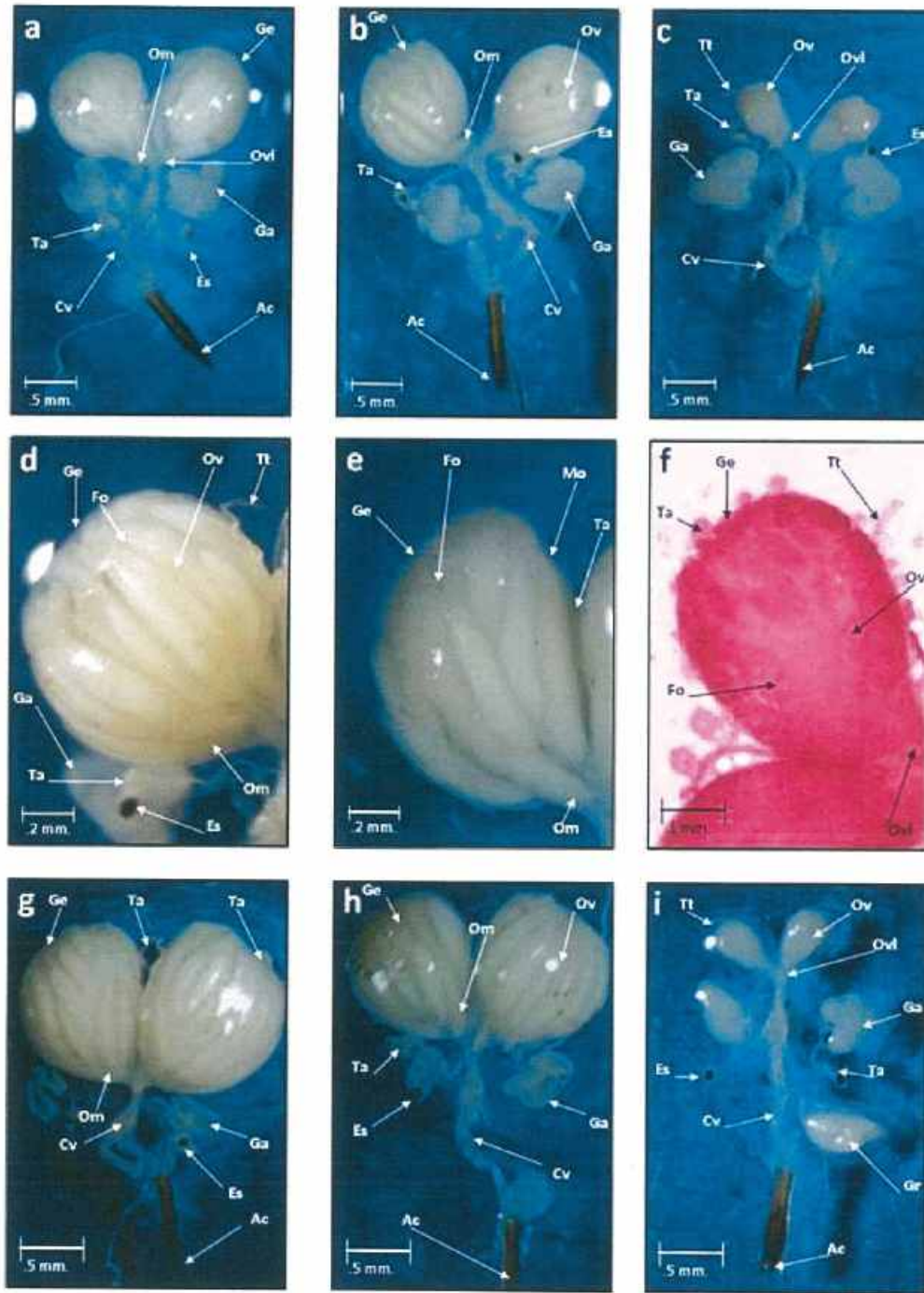


Figura 15. a) TSL sin irradiar 8-20 días; b) Silvestre 8-20 días, teñida; c) TSL 100 Gy, 8-20 días; d) TSL sin irradiar 8-20 días, aumentado; e) Silvestre 8-20 días, aumentado; f) TSL 125 Gy, 8-20 días, teñida; g) TSL sin irradiar 25 días; h) Silvestre 25 días; i) TSL 145 Gy, 25 días: Ac= Acúleos, Cv= Conducto vaginal, Es= Espermatecas, Fo= Folículo ovárico, Ga= Glándula accesoria, Ge= Germario, Gr= Glándula rectal, Mo= Membrana ovárica, Om= Ovocito maduro, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral.

Histológicamente los ovarios intentan crecer y el tejido adiposo se observa en menor cantidad seguramente porque se utiliza la grasa de este tejido como fuente energética en sus esfuerzos por desarrollar ovogénesis, sin embargo, a estas alturas este proceso está totalmente inhibido, la fina membrana que los cubre se observa con aspecto fibroso y están presentes los tubos traqueales ramificados en ambos ovarios que adquieren mayor rigidez que en días anteriores adquiriendo formas irregulares predominando formas alargadas y globosas, tejido adiposo también puede observarse acumulado alrededor de las espermatecas. Por otro lado las glándulas accesorias se observan turgentes por las secreciones producidas.

Cuando se realiza la tinción y montaje con aceto-orceina de estos ovarios en su parte apical, es difícil encontrar germarios y se observan muchos espacios que dejan las células que se desintegran. En pocos casos se pueden encontrar restos de folículos en formación y cuando se encuentran estos son escasos, poco teñidos y de forma redondeada. Con la confirmación de estas características mediante un detenido y escrupuloso estudio histológico, siempre y cuando se logren montajes limpios y completos en estos ovarios, será posible diagnosticarlos como moscas estériles con madurez avanzada que se ubican en estos rangos de edad cronológica. Con todos los elementos antes descritos separar los grupos de no irradiadas (TSL y silvestres) de las irradiadas por el grado avanzado de madurez ovárica alcanzado en este último grupo es relativamente fácil pues en estos últimos la ovogénesis se ha interrumpido completamente en estas edades.

Día 25. (Figs. 9,10,12,15 (g-i), 16 (a-c); Cuadros 1,2,3,). En este rango de edades, en las no irradiadas no se detectan cambios importantes respecto al grupo de edades anteriores (8-20 días), y las tallas en TSL sin irradiar siguen siendo similares. En el caso de las silvestres pueden alcanzar en estas edades sus máximas dimensiones de largo y ancho con 1.341 ± 0.08 mm y 1.140 ± 0.10 , respectivamente, con grandes variaciones entre el mismo grupo seguramente determinado por las interfaces de oviposición y suspensión de la misma, sin embargo, no existe diferencias estadísticas respecto a las TSL sin irradiar.

En cuanto a la producción de ovocitos maduros así como características histológicas generales, son muy semejantes a las edades anteriores y la producción de ovocitos maduros continúa de manera constante en todas las ovarias de ambos grupos con una media de 20.7 ± 9.7 ovocitos maduros por ovaria en TSL sin irradiar y de 12.3 ± 2.7 en las silvestres aunque en el primer grupo se pueden encontrar ovarios con hasta 35 a 39 ovocitos y para el segundo con máximos de 17 a 20, lo que nos indica que continúan aún en una etapa de madurez avanzada y produciendo huevos listos para ser ovipositados.

En los tres grupos de irradiadas, tanto las tallas como las características histológicas del grupo de 8 a 20 días siguen siendo aplicables hasta los 25 días, sin tener diferencias estadísticas entre ellas, resultando en una fácil diferenciación entre las no irradiadas de las mismas edades.

Disección de Espermatecas:-(Fig. 16 d-f). Un procedimiento complementario a las actividades de diagnóstico de esterilidad o fertilidad en las hembras de *C. capitata* y que tiene como objetivo obtener información del contenido del interior de las espermatecas de las hembras estudiadas, es la disección, montaje y estudio de las espermatecas. Esto es aplicable cuando es necesario saber si una hembra fue o no copulada o más específicamente si después de un apareamiento exitoso recibió transferencia de espermatozoides.

El procedimiento consiste en separar de la cavidad abdominal ambas espermatecas, las cuales pueden localizarse inmediatamente por debajo de los ovarios y muy próximas a las glándulas accesorias. Esta actividad debe realizarse de manera muy cuidadosa para evitar rupturas y deshidratación de estas estructuras antes de su montaje, para ello debemos ayudarnos del microscopio estereoscópico y de pinzas de punta extrafina (no. 5) y colocarlas en seguida en un portaobjetos con una gota de agua destilada. Una vez que se tiene el par de espermatecas en la posición deseada, libre de agua y de otros tejidos, se les coloca una gota del colorante aceto-orceína que debe actuar de 3-4 minutos.

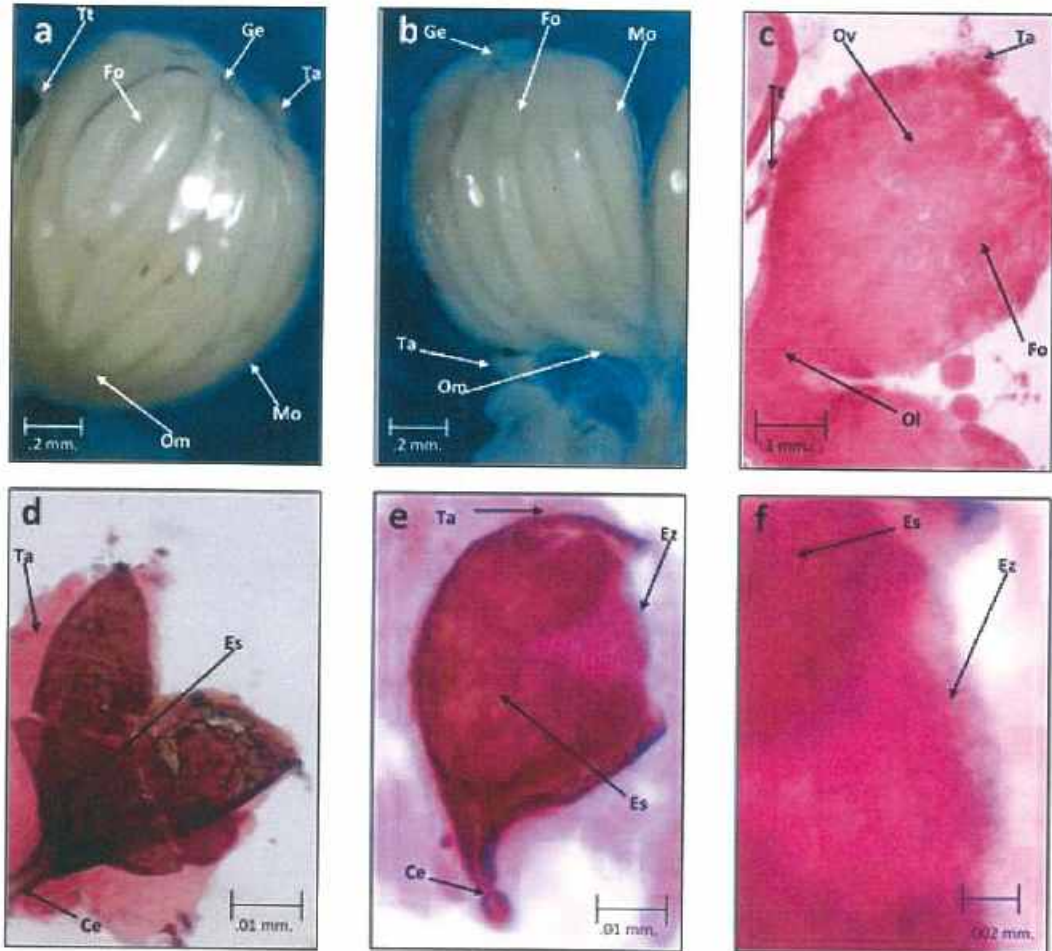


Figura 16. a) TSL sin irradiar 25 días, aumentado; b) Silvestre 25 días, aumentado; c) TSL 100 Gy 25 días, teñida; d) Espermateca hembra silvestre 4 días de edad, sin esperma; e) Espermateca hembra silvestre 10 días de edad, con esperma; f) Espermateca hembra silvestre 10 días de edad; Aumentado: Ce= Conducto espermatecal, Es= Espermateca, Ez= Espermatozoides, Fo= Folículo ovárico, Ge= Germario, Mo= Membrana ovárica, Om= Ovocito maduro, Ov= Ovario, Ovl= Oviducto lateral, Ta= Tejido adiposo, Tt= Tubos traqueales.

El siguiente paso consiste en colocar el cubreobjetos sobre las estructuras y presionar de forma firme para hacer un aplastado y romper las espermatecas para exponer su contenido. Cuando existe presencia de espermatozoides al ser observados al microscopio compuesto con oculares de 45 y 100X, estos se observan de aspecto filiforme y enredado similar a como se aprecia en la base de los testículos de machos maduros. En caso contrario únicamente se observara fluido glandular o células epiteliales sin presencia de espermatozoides. Con esta técnica se puede establecer si existe o no presencia de espermatozoides, sin llegarse a determinar si es esperma de un macho estéril o fértil.

3.2.4. Sistema reproductor en los machos de *C. capitata* (Wied.)

Producir y suministrar a la hembra suficientes espermatozoides para que ésta a su vez fertilice los óvulos que produce es la principal función del sistema reproductor masculino de la mosca del Mediterráneo. Debe aclararse que la terminología general utilizada para describir el sistema del sexo masculino reproductivo se basa en las obras de Matzuda (1976) y McAlpine (1981), mientras que en particular para las estructuras internas nos basamos en Hanna (1938) y Guillen (1983). El sistema reproductivo de *C. capitata* es similar a la de otros tefritidos (Martínez y Hernández-Ortiz 1997). Para cumplir su función el sistema genital está estructurado de la siguiente manera: un par de testículos, dos vasos deferentes, un ducto eyaculatorio, vesículas seminales varios pares de glándulas accesorias, una bomba espermática (apodema eyaculatorio) y el edeago.

Testículos:- (Figs. 17 y 18). Son de origen mesodérmico y en plena madurez sexual son de forma ovoide la membrana o cubierta que lo protege es una simple capa epitelial y está cubierta de una capa de tejido conectivo formando una cápsula que encierra a todas las células involucradas en la espermatogénesis. En moscas muy jóvenes de 0 a 4 días tienen un color amarillo pálido pero a medida que avanzan en edad adquieren un amarillo más intenso y brillante. En un macho maduro sexualmente, el testículo se puede dividir en zonas o regiones que contienen las diferentes células que participan en la espermatogénesis. En la parte apical de cada testículo está la zona del germario o crecimiento donde se localizan las células espermatogoniales así como los espermatoцитos primarios y secundarios. Es en esta zona donde la técnica de la tinción con aceto-orceína hace que en testículos de machos sin irradiar y maduros sexualmente las células se tiñan más intensamente de rojo carmesí que el resto de células debido a la reacción positiva del colorante con el material cromático del núcleo. La siguiente zona es la de espermátidas que están en sacos o vejigas membranosas con diferentes estados de desarrollo en el proceso sincronizado para ser esperma. Estas agrupaciones de células presentan usualmente un patrón característico de tinción de formas triangulares y/o ovoideas. En la región intermedia basal se encuentra la zona de paquetes de esperma, formada por grupos de esperma de forma filamentosa, la última zona en la parte basal de los testículos lo ocupa lo que algunos autores llaman la vesícula seminal, para otros simplemente zona basal de los testículos. En esta zona se acumula en machos maduros gran cantidad de espermatozoides libres una vez que han madurado y se sueltan de los paquetes de esperma, y al igual que la zona de paquetes, tienen forma filamentosa y enredada, y distinguir la cabeza de la cauda es difícil.

La espermatogénesis observada en los testículos de *C. capitata* es similar a las descritas en otros dípteros (Martínez *et al.* 1995, Martínez y Hernández-Ortiz 1997, Williamson, 1989 y Anwaret *al.* 1971), donde normalmente las células espermatogoniales primarias que ocupan la región apical de los testículos se convierten en secundarias mismas que después de sucesivas divisiones mitóticas producen espermatocitos primarios los cuales se dividen meióticamente para producir espermatocitos secundarios, que más adelante se transforman en espermátidas. Al continuar la espermatogénesis, las espermátidas dan lugar a los manojos o paquetes de esperma fuertemente unidos al principio que al ir madurando se van aflojando y finalmente se rompe la pared del saco que los contienen y el esperma se va desprendiendo para alojarse de manera libre en la base del testículo y en algunos casos en los vasos deferentes listos para ser transferidos a las hembras.

Vasos deferentes:- (Figs. 17,18). En el extremo basal de cada testículo y conectados a ellos están los vasos deferentes, estos conductos se extienden hasta desembocar al conducto eyaculador en su primera sección el cual a su vez se comunica con el apodema eyaculatorio.

Apodema eyaculatorio:-(Fig. 17). También llamado bomba espermática por algunos autores tiene forma de pera un tanto redondeada y con una base estrecha, que se compone de dos estructuras muy esclerotizadas de naturaleza cuticular. Este órgano en forma de saco se cree que origina una presión mediante contracciones musculares que empuja el fluido seminal conteniendo espermatozoides maduros a la parte terminal del conducto eyaculador.

Conducto eyaculador:-(Fig.17). Este largo conducto se compone de tres secciones, el primero es el más anterior y amplio que es donde concluyen los dos vasos deferentes y en la parte apical desembocan los conductos de las glándulas accesorias y probablemente los conductos de órganos complementarios de almacenaje de esperma libre similares a las estructuras reportadas como vesículas seminales, y ampliamente documentados en los trabajos sobre anatomía del sistema reproductivo de seis especies de *Anastrepha* (Martínez y Hernández-Ortiz 1997). En el extremo posterior de esta sección del conducto eyaculador se conecta con el apodema eyaculatorio, la sección intermedia de este conducto que es más corta que la primera continua a través de la base del apodema eyaculatorio o bomba espermática para unirse a la última sección o posterior que se inicia más allá de la bomba de esperma y es ligeramente más delgada que las anteriores, finalmente esta sección se comunica con el edeago.

Glándulas accesorias:-(Fig. 17). Se presentan por pares, son pequeñas estructuras en forma de tubos alargados de apariencia traslúcida y sus conductos se conectan a la primera sección del conducto eyaculatorio para cooperar con sus secreciones a la formación del fluido seminal y mantenimiento de los espermatozoides.

Edeago:-(Fig. 17). La estructura final del sistema reproductor masculino lo forma el edeago, este órgano está unido en su parte distal a la última sección del conducto eyaculador y consiste en un fino tubo esclerotizado que junto con otras estructuras de

la terminalia del macho forman la mayor parte del órgano intromitente, adaptado anatómicamente y fisiológicamente para la copula y transferencia de espermatozoides a las hembras.

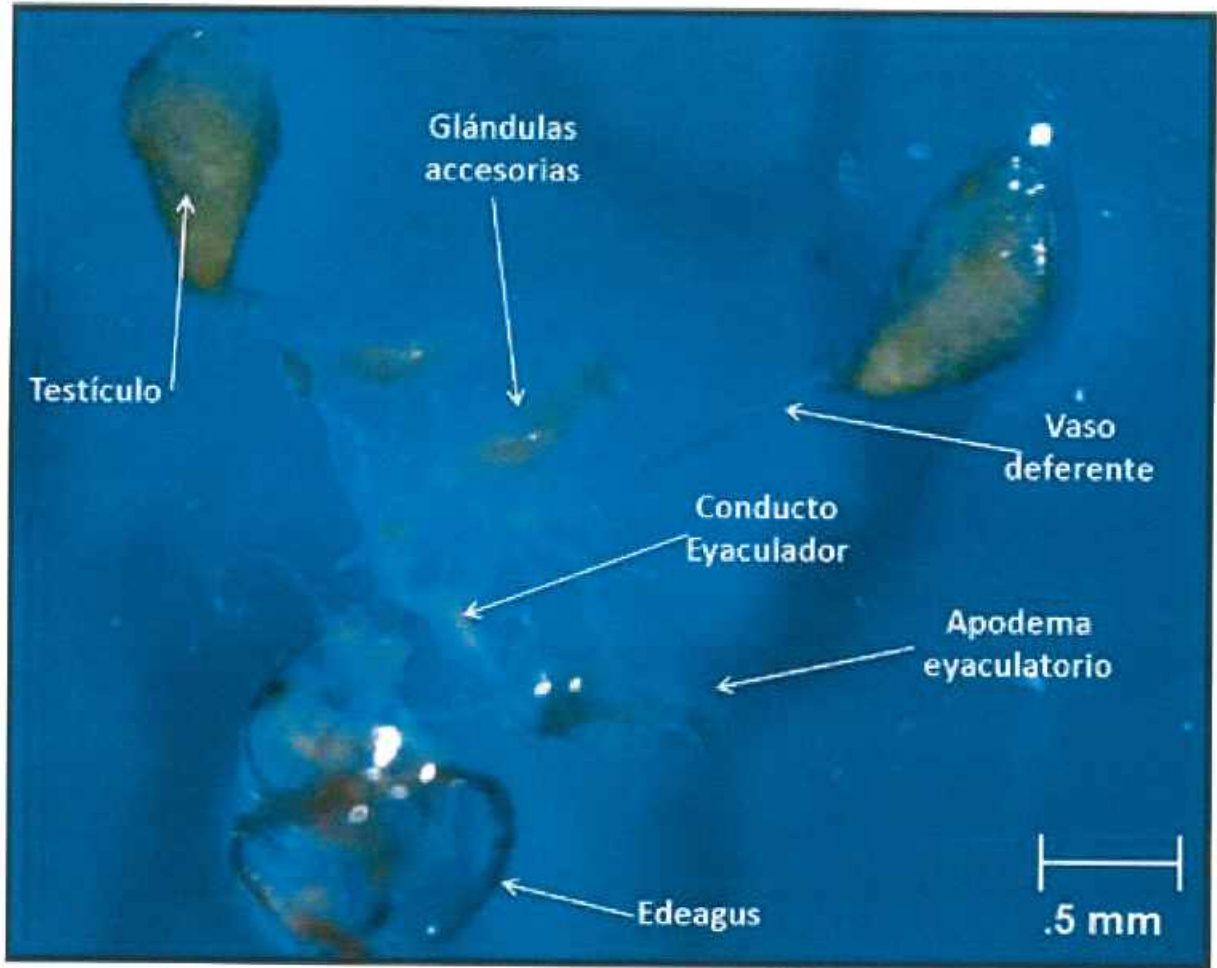


Figura 17. Sistema reproductor de un macho silvestre de mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wied.) de 9 días de edad.

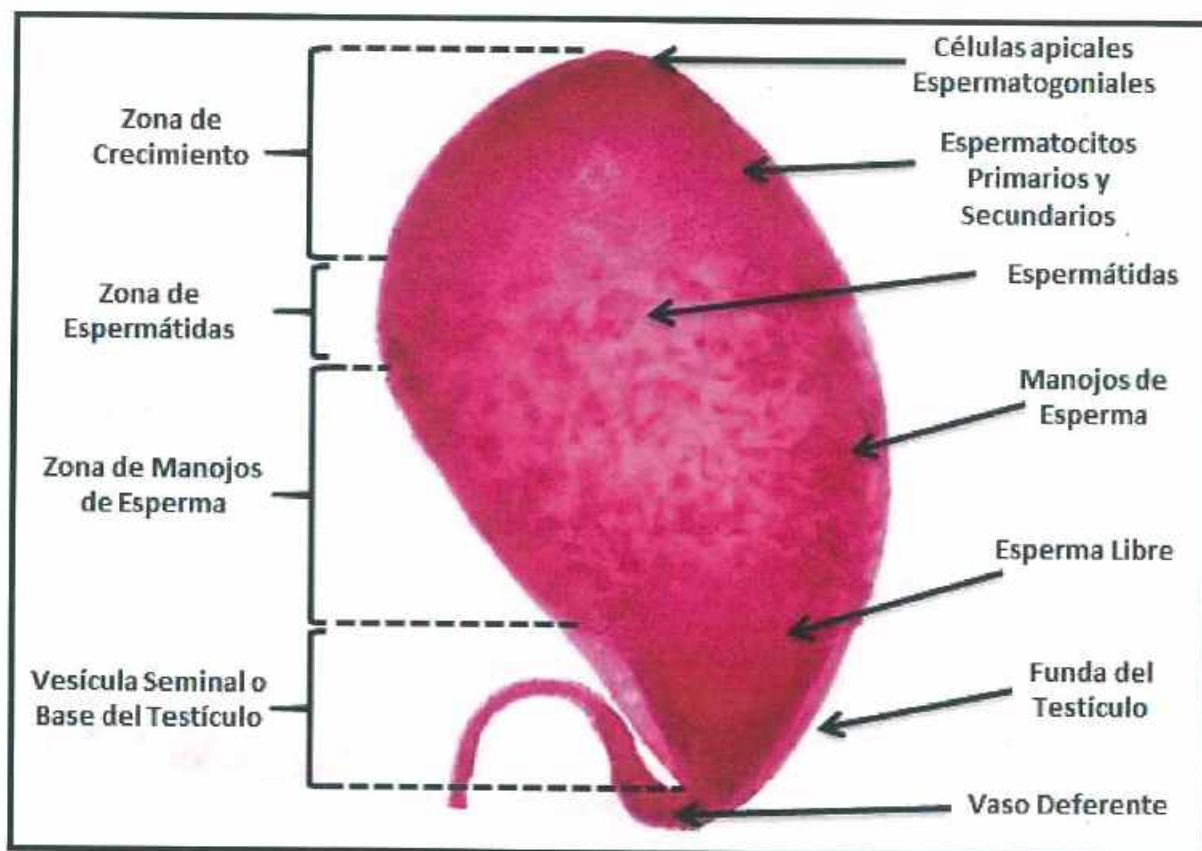


Figura 18. Testículo de un macho silvestre de mosca del Mediterráneo *C. capitata* de 10 días de edad, señalando las células de las diferentes etapas del desarrollo normal de la espermatogénesis.

3.2.5. Procedimiento de disección de machos

El tórax y abdomen del macho cuya cabeza se determinó sin marca, y en el último paso se transfirió en un frasco con solución salina debe ser retirado de este. Con el apoyo del microscopio estereoscópico con magnificaciones de 10x ó 30x, el abdomen debe ser colocado sobre un portaobjetos en posición dorsal con los últimos segmentos abdominales apuntando hacia el observador y todo el órgano inmerso en agua destilada para facilitar la disección y evitar deshidratación de las estructuras durante la disección. Enseguida, y con la ayuda de pinzas entomológicas de punta extrafina (no.5), se inicia la disección separando los segmentos abdominales y dorsales para exponer las estructuras internas y localizar en los extremos inferiores laterales de los últimos segmentos, los testículos, que son de forma ovoidea y tonalidades que van de amarillo pálido a amarillo intenso. Una vez localizados y separado del resto de tejidos se les coloca 1 ó 2 gotas del colorante aceto-orceina el cual deberá actuar de 3 a 4 minutos para teñir las células implicadas en la espermatogénesis. Finalmente, debe colocarse el cubreobjetos para su observación al microscopio compuesto utilizando el lente objetivo 10x para ubicar los testículos y 40x y 100x para su estudio cito-histológico.

Testículos que presentan espermatogénesis definida, debe diagnosticarse fértil. Testículos que presentan espermatogénesis indefinida, el identificador debe corroborar la ausencia de marcaje en la cabeza y si no hay presencia de marcaje, entonces la determinación final se hace considerando los criterios técnicos del siguiente capítulo.

3.2.6. Maduración de testículos en machos, silvestres y TSL sin irradiar comparados con los irradiadas a 100, 125 y 145 Gy

Días 0 (Emergencia). (Figs. 19(a-c), 20, 21; Cuadros 4, 5). En los machos recién emergidos de todos los grupos, ya se ha iniciado la espermatogénesis y es posible observar en la región apical la incipiente formación de la zona germinativa con las células espermatogoniales y espermatoцитos primarios y secundarios en desarrollo y bien definidos ocupando aproximadamente entre un 10 a 15 % de la longitud del testículo. Inmediatamente después de la zona de crecimiento, se pueden observar, sin ser abundantes, los grupos de espermátidas dispuestos tanto en la parte central como en las laterales. En la zona de manojos de esperma estos pueden observarse en pequeñas cantidades fuertemente empaquetados y solo algunos cuantos se pueden encontrar más flojos que el resto, pues están liberando pequeñas cantidades de esperma libre a la vesícula seminal o base del testículo que pueden ubicarse muy cerca a la conexión del vaso deferente. Estas características son similares en todos los grupos, y aunque en los testículos de irradiados se pueden encontrar algunos ejemplares con una cantidad ligeramente mayor de esperma libre, no es posible establecer diferencias claras con las características de los testículos de TSL sin irradiar y silvestres.

Por otro lado, la forma que presentan los testículos de todos los grupos a esta edad en su mayoría es redondeada o globosa con color amarillo pálido y la cubierta o funda protectora muy delgada y frágil al contacto con las finas pinzas de disección. Aunque en esta edad se pueden encontrar testículos con menores tallas, en general los registros morfométricos de los testículos tampoco nos indican diferencias entre los grupos de no irradiados e irradiados, sin embargo se pueden encontrar diferencias entre las tallas de TSL sin irradiar y las silvestres ya que el primer grupo presenta una media de 0.574 ± 0.058 mm de largo por 0.351 ± 0.042 mm de ancho, ligeramente mayor de la media de los testículos de los silvestres que miden 0.466 ± 0.042 X 0.313 ± 0.038 mm.

Días 1-2. (Figs. 19(d-i), 20, 21; Cuadros 4, 5). En estos días todos los testículos de los diferentes grupos aumentan de talla, sin embargo, las mayores dimensiones pueden ser observados en el día 2 en los testículos de TSL sin irradiar con 0.635 ± 0.049 mm de largo por 0.326 ± 0.036 mm de ancho, seguidas de las moscas silvestres con 0.466 ± 0.042 por 0.313 ± 0.038 mm. El resto de los grupos se mantiene sin significancia estadística oscilando las tallas medias entre 0.582 y 0.563 mm de longitud por 0.276 y 0.305 mm de ancho (Cuadros 4 y 5).

Aun cuando hay diferencias morfométricas entre los no irradiados con el resto de los grupos las características histológicas que se observan en general al llegar a estas edades no nos permiten establecer diferencias claras entre los diferentes grupos. Se siguen presentado diferencias mínimas respecto a la edad anterior destacando tan solo

un ligero aumento en la zona de crecimiento que llega en el caso de TSL sin irradiar hasta un 16-20 % de la longitud total de los testículos y de un 15-18% en el resto de los grupos.

La parte basal del testículo, o vesícula seminal, también experimenta un ligero aumento llegando aproximadamente a un 5-10% en TSL sin irradiar aportados por la formación de más paquetes de espermatozoides. Esto indica un adelanto en la madurez sexual respecto al resto de los tratamientos donde se puede observar como máximo hasta un 5% la agrupación de esperma libre y menor número de manojos de esperma.

Días 3-4. (Figs.20,21,22(a-f); Cuadros 4,5). En estos días los testículos de todos los grupos continúan aumentando de tallas y adquiriendo formas más alargadas sin importantes diferencias, de todos los grupos únicamente los silvestres registran una talla un poco menor ya que pueden alcanzar una media al cuarto día de $0.570 \pm 0.037 \times 0.296 \pm 0.032$ mm, el resto de los grupos oscila entre 0.667 ± 0.029 y 0.683 ± 0.041 mm de longitud por 0.277 ± 0.035 y 0.323 ± 0.023 mm de ancho. Aunque en estos días ya se pueden empezar a distinguir por un lado la continuidad de la espermatogénesis en los testículos de los machos no irradiados (TSL sin irradiar y silvestres) y el inicio del daño por la irradiación en los diferentes grupos de irradiados, no es posible determinar con claridad y seguridad diferencias importantes que nos permitieran a esta edad diferenciar ambos grupos. En el día 4 los testículos de al menos un 40% de los ejemplares de la cepa TSL sin irradiar pueden presentar características de mayor avance en la espermatogénesis pues la zona germinativa o de crecimiento alcanzan hasta un 25% de la longitud total del testículo. Se puede detectar un aumento en los manojos de esperma los cuales liberan mayores cantidades de esperma libre en la base del testículo que llega a ocupar hasta un 20% de la longitud de este; en el resto de los grupos se presentan características similares a los del día dos. En el día 4, el grupo de machos silvestres los testículos de un 25% de estos pueden presentar características similares al grupo anterior. En tanto que en el grupo de irradiados únicamente en un 20% del total de especímenes se pueden detectar los primeros indicios del daño de la irradiación pero difícilmente diferenciables entre los no irradiados, daño representado por un aumento en el espacio intercelular de la zona de crecimiento, disminución de espermátidas en algunos casos ausentes y una regular cantidad de manojos de esperma liberando esperma libre en la base del testículo la cual alcanza hasta 20% de la longitud de estos testículos, el resto de ejemplares se pueden encontrar con características similares al día 2.

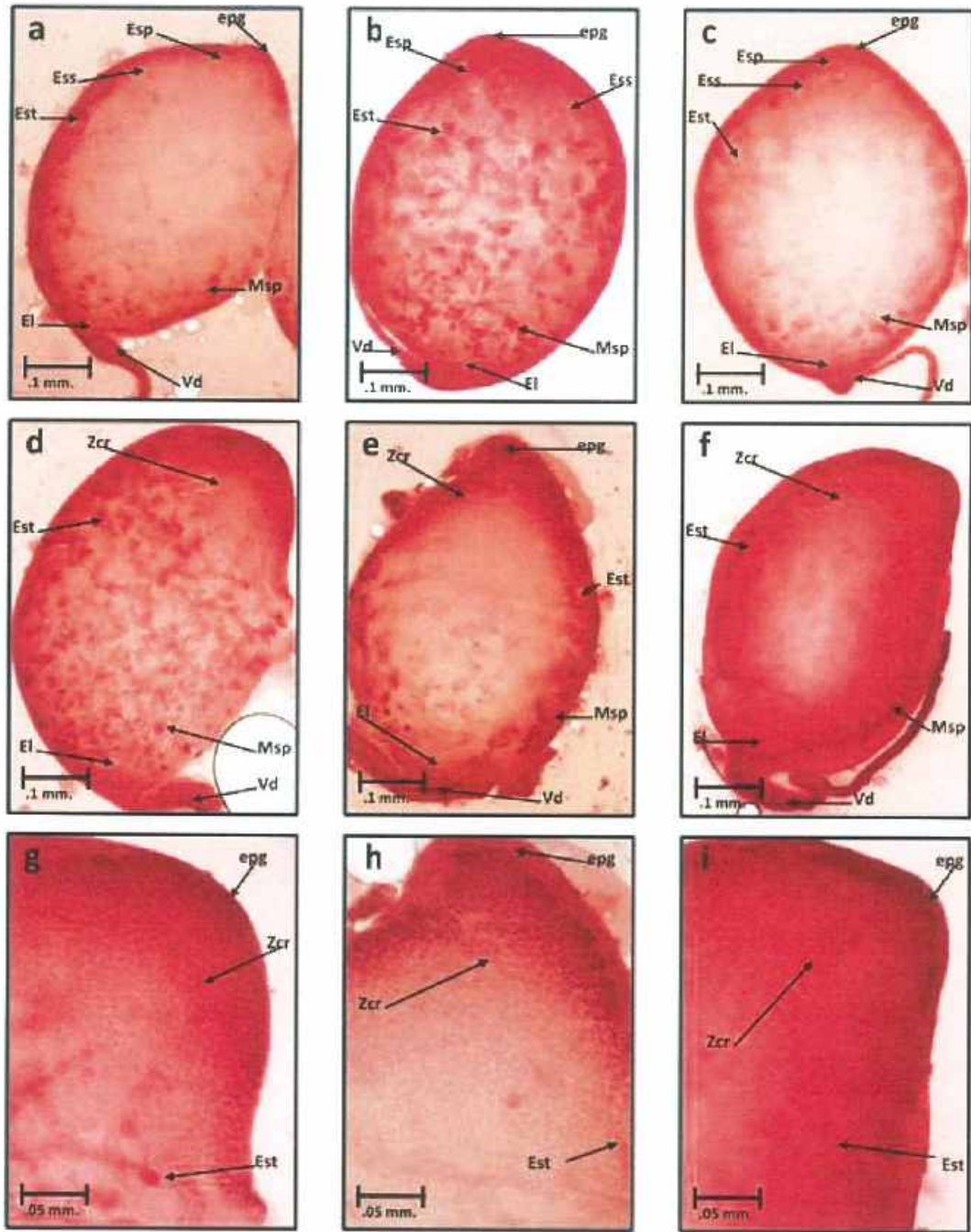


Figura 19. Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparados con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 0 días; b) Silvestre 0 días; c) TSL 100 Gy, 0 días) TSL sin irradiar 1-2 días; e) Silvestre 1-2 días; f) TSL 125 Gy, 1-2 días; g) TSL sin irradiar 1-2 días, región apical aumentada; h) Silvestre 1-2 días, región apical aumentada; i) TSL 125 Gy, 1-2 días, región apical aumentada: El= Esperma libre, Epg= Espermatogonias, Esp= Espermatocitos primarios, Ess= Espermatocitos secundarios, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Zcr= Zona de crecimiento, Est= Espermátidas.

Cuadro 4. Longitud de testículos de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 machos por día.

EDAD (DÍAS)	Longitud de testículos (mm)				
	TSL SIN IRRADIAR	SILVESTRE	TSL 100 Gy	TSL 125 Gy	TSL 145 Gy
0	0.574 \pm 0.058 a	0.466 \pm 0.042 b	0.562 \pm 0.057 ab	0.551 \pm 0.044 ab	0.551 \pm 0.037 ab
1	0.576 \pm 0.030 a	0.539 \pm 0.028 b	0.560 \pm 0.038 ab	0.565 \pm 0.027 ab	0.555 \pm 0.049 ab
2	0.635 \pm 0.049 a	0.563 \pm 0.043 b	0.567 \pm 0.036 b	0.578 \pm 0.029 b	0.582 \pm 0.027 b
3	0.657 \pm 0.036 b	0.570 \pm 0.042 c	0.685 \pm 0.027 a	0.681 \pm 0.030 ab	0.667 \pm 0.042 ab
4	0.667 \pm 0.029 a	0.587 \pm 0.037 b	0.677 \pm 0.052 a	0.681 \pm 0.049 a	0.683 \pm 0.041 a
5	0.665 \pm 0.036 a	0.569 \pm 0.056 b	0.693 \pm 0.028 a	0.687 \pm 0.023 a	0.683 \pm 0.043 a
6	0.691 \pm 0.043 a	0.607 \pm 0.052 b	0.591 \pm 0.040 bc	0.566 \pm 0.067 c	0.575 \pm 0.044 bc
7	0.685 \pm 0.049 a	0.655 \pm 0.061 a	0.576 \pm 0.051 b	0.572 \pm 0.031 b	0.573 \pm 0.030 b
8	0.684 \pm 0.033 a	0.636 \pm 0.045 b	0.585 \pm 0.060 c	0.575 \pm 0.030 c	0.568 \pm 0.072 c
9	0.689 \pm 0.041 a	0.649 \pm 0.038 b	0.555 \pm 0.019 c	0.517 \pm 0.036 d	0.523 \pm 0.042 d
10	0.695 \pm 0.029 a	0.629 \pm 0.033 b	0.525 \pm 0.056 c	0.543 \pm 0.034 c	0.551 \pm 0.033 c
11	0.677 \pm 0.023 a	0.637 \pm 0.053 b	0.525 \pm 0.048 c	0.532 \pm 0.045 c	0.518 \pm 0.035 c
12	0.671 \pm 0.047 a	0.633 \pm 0.046 b	0.524 \pm 0.051 cd	0.532 \pm 0.039 c	0.495 \pm 0.043 d
13	0.677 \pm 0.051 a	0.621 \pm 0.059 b	0.515 \pm 0.035 c	0.473 \pm 0.042 d	0.509 \pm 0.057 cd
14	0.689 \pm 0.035 a	0.631 \pm 0.043 b	0.511 \pm 0.025 c	0.486 \pm 0.054 cd	0.479 \pm 0.024 d
15	0.689 \pm 0.072 a	0.643 \pm 0.031 b	0.505 \pm 0.054 c	0.489 \pm 0.043 cd	0.465 \pm 0.029 d
16	0.690 \pm 0.060 a	0.636 \pm 0.039 b	0.474 \pm 0.044 c	0.459 \pm 0.038 c	0.457 \pm 0.042 c
17	0.695 \pm 0.050 a	0.665 \pm 0.028 b	0.469 \pm 0.031 c	0.456 \pm 0.018 c	0.461 \pm 0.048 c
18	0.702 \pm 0.054 a	0.647 \pm 0.075 b	0.397 \pm 0.028 d	0.391 \pm 0.031 d	0.440 \pm 0.068 c
19	0.697 \pm 0.045 a	0.651 \pm 0.058 b	0.403 \pm 0.054 c	0.402 \pm 0.059 c	0.416 \pm 0.042 c
20	0.699 \pm 0.043 a	0.664 \pm 0.041 a	0.406 \pm 0.063 b	0.393 \pm 0.064 b	0.395 \pm 0.036 b
25	0.695 \pm 0.060 a	0.643 \pm 0.043 b	0.395 \pm 0.051 c	0.385 \pm 0.047 c	0.383 \pm 0.038 c

Para cada variable, seguida de la misma letra, en la misma fila significa que no son estadísticamente diferentes (Prueba de Fisher, $P < 0.05$).

Cuadro 5. Ancho de los testículos de los tratamientos, TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy (Media \pm DE). En cada tratamiento n= 15 machos por día.

EDAD (DÍAS)	Ancho de testículos (mm)				
	TSL SIN IRRADIAR	SILVESTRE	TSL 100 Gy	TSL 125 Gy	TSL 145 Gy
0	0.351 \pm 0.042 a	0.313 \pm 0.038 b	0.333 \pm 0.030 ab	0.315 \pm 0.029 b	0.339 \pm 0.040 ab
1	0.345 \pm 0.037 a	0.296 \pm 0.030 b	0.293 \pm 0.033 b	0.295 \pm 0.029 b	0.276 \pm 0.036 b
2	0.326 \pm 0.036 a	0.305 \pm 0.038 a	0.282 \pm 0.022 b	0.277 \pm 0.027 b	0.276 \pm 0.022 b
3	0.326 \pm 0.026 a	0.309 \pm 0.039 ab	0.292 \pm 0.031 bc	0.275 \pm 0.019 c	0.276 \pm 0.034 c
4	0.323 \pm 0.023 a	0.296 \pm 0.032 b	0.289 \pm 0.033 b	0.289 \pm 0.029 b	0.277 \pm 0.035 b
5	0.316 \pm 0.037 a	0.303 \pm 0.043 ab	0.284 \pm 0.036 b	0.294 \pm 0.030 ab	0.284 \pm 0.047 b
6	0.315 \pm 0.035 a	0.295 \pm 0.034 a	0.236 \pm 0.020 b	0.228 \pm 0.029 b	0.231 \pm 0.026 b
7	0.305 \pm 0.036 a	0.295 \pm 0.037 a	0.234 \pm 0.035 b	0.218 \pm 0.020 b	0.223 \pm 0.021 b
8	0.295 \pm 0.031 a	0.295 \pm 0.033 a	0.233 \pm 0.039 b	0.223 \pm 0.025 b	0.229 \pm 0.032 b
9	0.305 \pm 0.031 a	0.289 \pm 0.030 a	0.205 \pm 0.019 b	0.215 \pm 0.033 b	0.199 \pm 0.025 b
10	0.295 \pm 0.030 a	0.285 \pm 0.033 a	0.203 \pm 0.035 b	0.196 \pm 0.029 b	0.209 \pm 0.038 b
11	0.295 \pm 0.031 a	0.286 \pm 0.031 a	0.211 \pm 0.043 b	0.198 \pm 0.029 b	0.197 \pm 0.025 b
12	0.279 \pm 0.036 a	0.279 \pm 0.023 a	0.185 \pm 0.024 b	0.186 \pm 0.019 b	0.193 \pm 0.032 b
13	0.280 \pm 0.033 a	0.284 \pm 0.022 a	0.193 \pm 0.031 b	0.185 \pm 0.023 b	0.185 \pm 0.024 b
14	0.287 \pm 0.028 a	0.291 \pm 0.031 a	0.186 \pm 0.031 b	0.187 \pm 0.033 b	0.185 \pm 0.024 b
15	0.286 \pm 0.034 a	0.275 \pm 0.028 a	0.185 \pm 0.027 b	0.175 \pm 0.033 b	0.175 \pm 0.027 b
16	0.290 \pm 0.040 a	0.270 \pm 0.027 a	0.183 \pm 0.032 b	0.175 \pm 0.019 b	0.165 \pm 0.030 b
17	0.285 \pm 0.032 a	0.276 \pm 0.029 a	0.173 \pm 0.032 b	0.165 \pm 0.027 b	0.174 \pm 0.034 b
18	0.277 \pm 0.030 a	0.275 \pm 0.032 a	0.175 \pm 0.025 b	0.165 \pm 0.031 b	0.162 \pm 0.026 b
19	0.278 \pm 0.030 a	0.265 \pm 0.043 a	0.164 \pm 0.028 b	0.163 \pm 0.028 b	0.151 \pm 0.025 b
20	0.278 \pm 0.028 a	0.273 \pm 0.023 a	0.165 \pm 0.023 b	0.145 \pm 0.021 c	0.145 \pm 0.021 c
25	0.269 \pm 0.029 a	0.265 \pm 0.024 a	0.141 \pm 0.026 b	0.135 \pm 0.026 b	0.142 \pm 0.024 b

Para cada variable, seguida de la misma letra, en la misma fila significa que no son estadísticamente diferentes (Prueba de Fisher, $P < 0.05$).

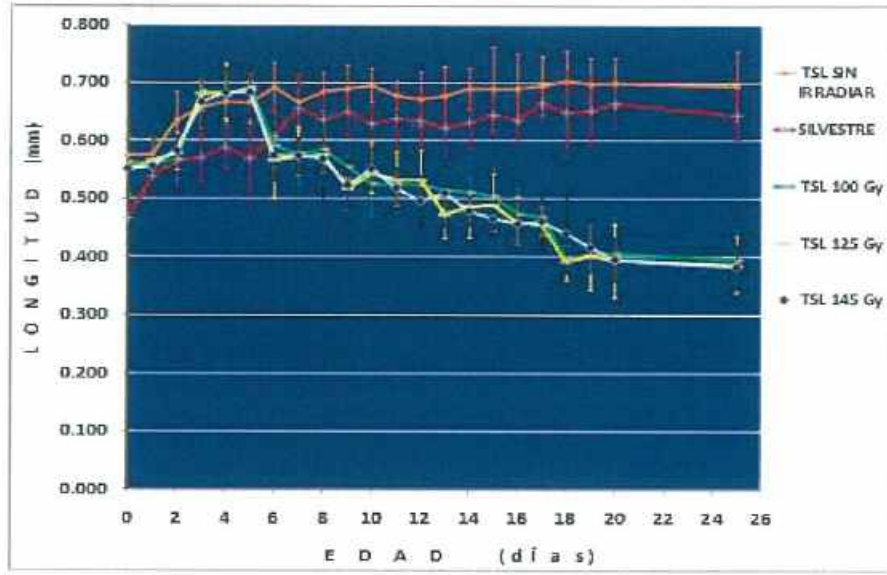


Figura 20. Longitud de testículos de *C. capitata* (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad n=15.

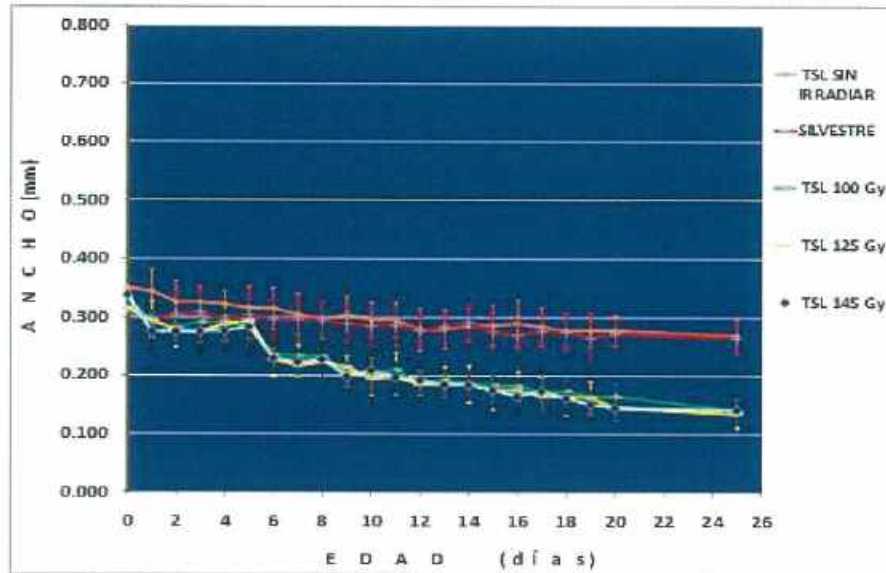


Figura 21. Ancho de testículos de *C. capitata* (Wied.) de los tratamientos TSL sin irradiar, silvestres y TSL irradiados a 100, 125 y 145 Gy desde la emergencia (edad 0) hasta 25 días de edad. Las barras verticales representan el error estándar. En cada edad n= 15.

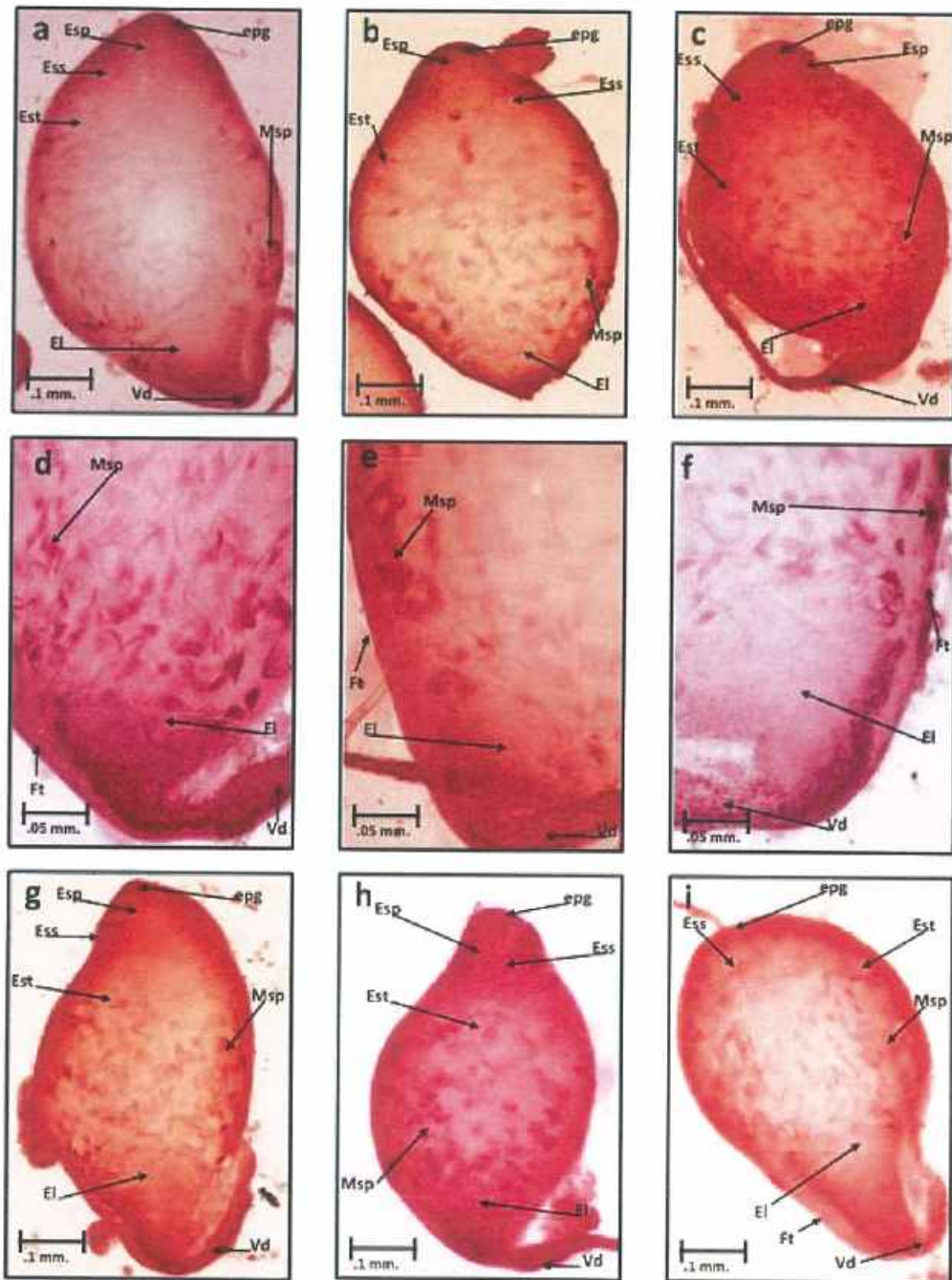


Figura 22. Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparadas con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 3-4 días; b) Silvestre 3-4 días; c) TSL 145 Gy. 3-4 días; d) TSL sin irradiar 3-4 días región basal aumentada; e) Silvestre 3-4 días región basal aumentada; f) TSL 145 Gy. 3-4 días, región basal aumentada; g) TSL sin irradiar 5 días; h) Silvestre 5 días; i) TSL 100 Gy. 5 días; El= Esperma libre, Epg= Espermatogonias, Esp= Espermatocitos primarios, Ess= Espermatozoides secundarios, Ft= Funda del testículo, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Vs= Vesícula seminal o base del Testículo.

Días 5.(Figs.20,21,22(g-i),23 (a-c); Cuadros 4,5). A partir de este día suceden cambios importantes tanto en el grupo de machos no irradiados como en los diferentes grupos de irradiados, que en su mayoría adquieren formas ovoideas. En TSL sin irradiar, los testículos aún siguen teniendo tallas mayores que los silvestres existiendo una diferencia estadística (Cuadros 4 y 5) entre ambos, sin embargo, estos últimos no tiene la diferencia con el grupo de irradiados que para este día presentan las tallas más altas con un promedio de todos los grupos de 0.688 ± 0.031 mm de longitud por 0.287 ± 0.033 mm de ancho, pero a partir de este día los irradiados tienen un drástico descenso en sus dimensiones.

En cuanto al desarrollo de la espermatogénesis en el grupo de los no irradiados las diferentes zonas implicadas en este proceso se van definiendo y es posible identificarlas fácilmente tanto en los silvestres como en TSL no irradiados. La zona de crecimiento llega a alcanzar en ambos grupos entre un 25 a 30% de la longitud total de los testículos donde las diferentes células de esta zona se tiñen intensamente y mantienen una distribución uniforme sin grandes espacios intercelulares con un crecimiento homogéneo ligeramente más acentuado en TSL sin irradiar pues aún mantiene una ventaja en su desarrollo respecto a los silvestres. La zona de espermátidas también presente y bien delimitada en la zona de transición entre zona germinativa y los manojos de esperma. Este grupo de células se encuentran con sus quistes bien definidos, en la zona de paquetes de esperma. Estos ya son abundantes y muchos de ellos se ven flojos pues se encuentran liberando esperma libre que se acumula en la base de los testículos. Este esperma libre de aspecto filiforme y enredado llega a alcanzar hasta una cuarta parte de la longitud de los testículos.

En los diferentes grupos de irradiados el daño histológico es evidente y se puede establecer una clara diferencia entre los no irradiados, este daño se observa en forma de reducción indiscutible de la cantidad de células espermatogoniales y las que quedan se tiñen muy débilmente. Por otro lado la irradiación causa picnosis nuclear en espermátocitos y espermátidas situación que causa necrosis celular y es posible observar grandes espacios intercelulares. Los grupos de espermátidas comparados con el grupo de no irradiadas de la misma edad son muy escasas y lo que fue la zona germinativa existe una desorganización donde se pueden encontrar hasta paquetes de esperma y algunos espermatozoides libres. En la zona de paquetes de esperma estos también empiezan a disminuir, señal de que han aumentado la liberación de esperma libre a la vesícula seminal, la cual se incrementa considerablemente llegando a tener entre 35 y 40% del tamaño total de los testículos en los diferentes grupos que es casi el doble de lo que se puede observar en edades de 3-4 días en estos grupos.

Días 6-10. (Figs.20,21,23(d-i),24(a-c); Cuadros 4,5). En esta etapa de desarrollo los testículos de TSL sin irradiar se mantienen en tallas que oscilan entre 0.665 ± 0.036 y 0.695 ± 0.029 mm de longitud por 0.295 ± 0.030 y 0.315 ± 0.033 mm de ancho siempre por arriba de las tallas de los testículos de los silvestres que como máximo pueden llegar a tener en el día 7, 0.655 ± 0.061 X 0.313 ± 0.038 mm. Además de la diferencia en el tamaño, en estos días los testículos de TSL sin irradiar pueden presentar al menos hasta el día 8 un ligero pero notorio avance en la espermatogénesis respecto a los silvestres caracterizado por un aumento en la zona germinativa que llega a ocupar un poco más del 30% de la longitud de los testículos y un porcentaje similar ocupado por esperma

libre en la región basal, estos parámetros son ligeramente menor en los testículos de silvestres hasta el día 8, sin embargo, después de este día las diferencias son cada vez menos entre ambos grupos hasta llegar al día 10 con mínimas diferencias histológicas, en tanto que morfológicamente siguen manteniendo formas ovoideas. Otra característica detectable en estas edades en ambos grupos de no irradiados es el inicio de una ligera separación de la funda de los testículos a nivel de la vesícula seminal, la cual se mantiene aproximadamente entre un 25 y 30 %.

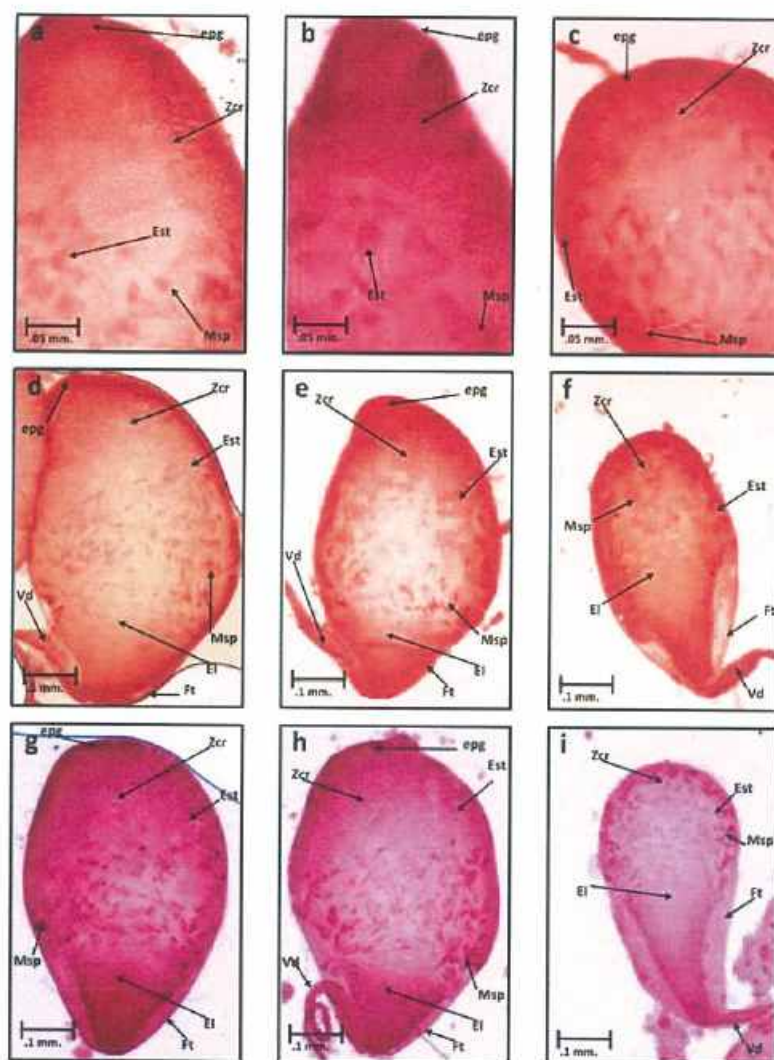


Figura 23. Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparados con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 5 días, región apical aumentada; b) Silvestre 5 días, región apical aumentada; c) TSL 100 Gy, 5 días, región apical aumentada; d) TSL sin irradiar 6 días; e) Silvestre 6 días; f) TSL 125 Gy, 6 días; g) TSL sin irradiar 8 días; h) Silvestre 8 días; i) TSL 145 Gy, 8 días: El= Esperma libre, Epg= Espermatogonias, Ft= Funda del testículo, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Zcr= Zona de crecimiento, Est= Espermátidas.

En cuanto a los diferentes tratamientos de irradiados en este período empezando por las tallas, hay una evidente disminución en el tamaño de todos los grupos con pocas diferencias estadísticas entre ellos mismos a lo largo de estos días, con una evidente diferencia estadística respecto al grupo de no irradiadas.

En estos días los testículos irradiados a diferentes dosis empiezan a adquirir formas alargadas ocasionado seguramente por las células que van desapareciendo por la necrosis ocasionada por la irradiación y son reabsorbidas ocasionando la atrofia de estos órganos, que pueden llegar a tener para el día 10 una talla promedio de 0.539 ± 0.041 de longitud por 0.202 ± 0.034 mm de ancho.

En la región apical el daño por la irradiación es ya muy marcado, las células espermatozonales desaparecen casi por completo y si aún se localizan algunas están muy pobremente teñidas. La radiación sigue causando intensa picnosis y destrucción celular en espermatocitos y espermátidas que también han desaparecido o solo quedan unas cuantas en quistes muy flojos. Todo lo anterior deja grandes espacios intercelulares, espacios que ocasionalmente se pueden observar ocupados por restos de manojos de esperma incluso en algunos casos por esperma libre que emigra hasta la región apical de estos testículos. En la zona de paquetes de esperma estos se encuentran en forma escasa hasta el día 8, en los días subsecuentes estos desaparecen pues ya se han aflojado y liberado todo el esperma libre posible que se deposita en la base del testículo o vesícula seminal que se va llenando conforme avanza la edad de estos machos, alcanzando hasta un 45 a 50 % de la longitud de los testículos en el día 6, de 50 a 55 % en el día 7, 55-65 % en el día 8, 65 a 75 % en el día 9 y hasta un 80 % fue observado en el día 10, aunque en estos grupos en el tratamiento de TSL irradiado a 145 Gy es posible observar una liberación de esperma ligeramente más tardía.

Por otro lado en el grupo de irradiados se puede detectar la separación de la funda testicular teniendo esta un relación directa con la cantidad por el esperma libre liberado y en consecuencia esta separación es mayor que en el grupo de no irradiados de las mismas edades.

Días 11-15. (Figs. 20,21,24 (d-i); Cuadros 4,5). En este periodo el grupo de no irradiados presenta una estabilidad tanto en sus tallas como en el desarrollo de la espermatogénesis que se refleja en una producción constante de esperma aunque al igual que en días anteriores las tallas de los testículos de TSL sin irradiar se pueden observar por encima de los silvestres con tallas que fluctúan entre 0.671 ± 0.047 y 0.689 ± 0.072 mm de longitud por 0.279 ± 0.036 y 0.295 ± 0.031 mm de ancho. El grupo de silvestres se mantienen entre 0.621 ± 0.059 y 0.643 ± 0.031 mm de longitud por 0.275 ± 0.028 y 0.291 ± 0.031 mm de ancho. Histológicamente es difícil apreciar diferencias entre ambos grupos y tres regiones bien definidas y delimitadas a lo largo de los testículos son fácilmente distinguibles, cada una ocupando aproximadamente un tercio de la longitud del testículo, la primera en la región apical o zona de crecimiento donde nuevas células espermatozonales se producen generando nuevos espermatocitos primarios y secundarios que se observan con un desarrollo homogéneo, teñidos de manera intensa y uniforme. En el margen inferior de esta zona están las espermátidas en crecimiento sincrónico para ser esperma y demarcados en sus quistes

de forma triangular o dando la impresión de huellas digitales, la siguiente región en la parte media es la de los paquetes o manojos de esperma lo cuales siguen diferenciándose y liberando esperma libre a la vesícula seminal que ocupa el último tercio del testículo.

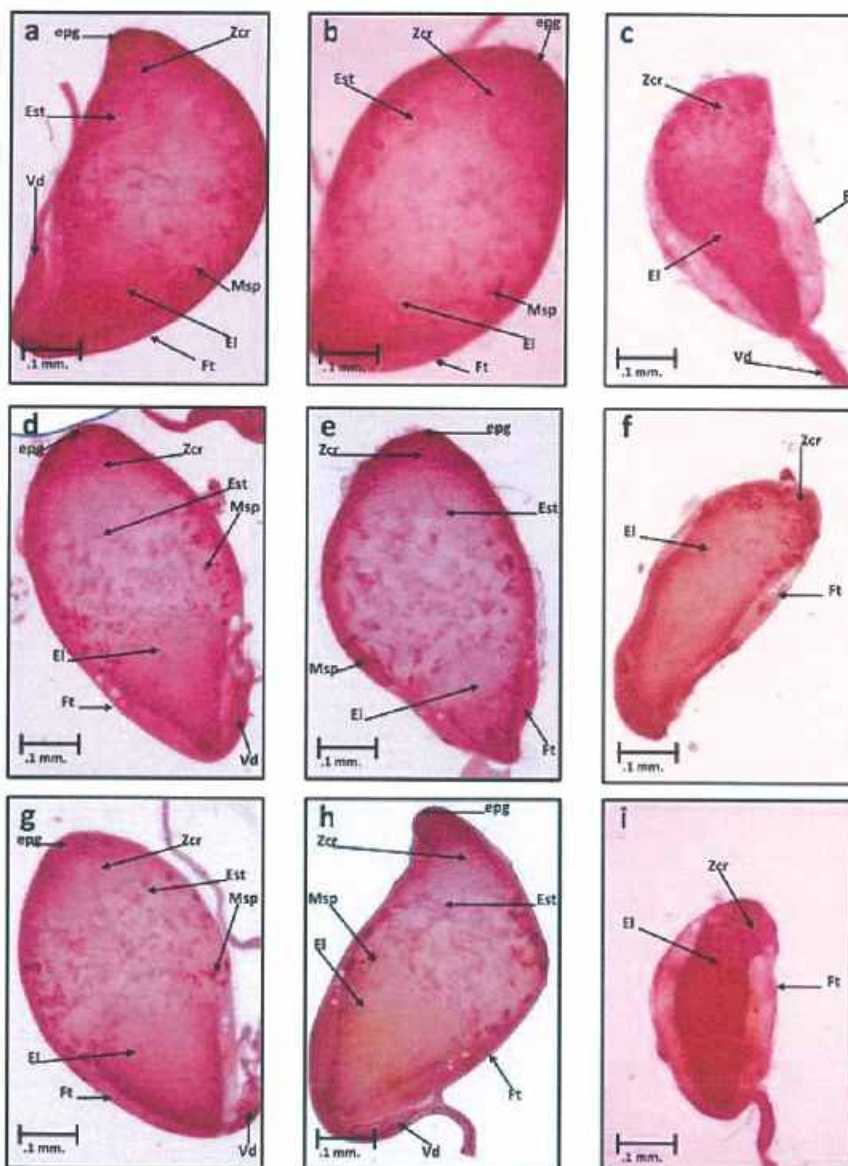


Figura 24. Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparados con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 10 días;b) Silvestre 10 días;c) TSL 100 Gy 10 días;d) TSL sin irradiar 12 días;e) Silvestre 12 días; f) TSL 125 Gy, 12 días;g) TSL sin irradiar 15 días;h) Silvestre 15 días;i) TSL 145 Gy, 15 días;El= Esperma libre, Epg= Espermatogonias, Ft= Funda del testículo, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Zcr= Zona de crecimiento, Est= Espermátidas.

En algunos testículos es posible observar esta última zona ocupando hasta un 40 a 45 % de su longitud probablemente relacionado con la escasa o nula transferencia de espermatozoides a las hembras por ausencias de cópulas.

En el grupo de irradiados es posible observar una evidente y acelerada disminución de sus tallas ocasionado por la continuidad en la muerte y absorción de células producto de la irradiación. Estos testículos en este período acentúan su forma alargada, arrifonada e irregular. Los registros morfométricos de todos los tratamientos fluctúan entre, 0.551 ± 0.033 y 0.465 ± 0.029 mm de longitud por 0.291 ± 0.031 y 0.295 ± 0.031 mm de ancho con pocas o nulas diferencias estadísticas entre sí, pero significativa comparadas con el grupo de no irradiados. Dos regiones bien definidas y delimitadas a lo largo de los testículos pueden ser fácilmente distinguibles al menos hasta los días 11 y 12, la primera en la región apical donde el severo daño histológico se manifiesta ahora con una clara destrucción de la zona de crecimiento, y no es posible detectar células espermatozoides, espermatozoides y espermátidas, los espacios celulares dejados por la desintegración celular son muy amplios, se pueden distinguir zonas necrosadas por el efecto de la pycnosis y ocasionalmente es posible encontrar restos de manojos y espermatozoides libres en la parte más apical de esta área, el resto de la cavidad testicular es ocupado por espermatozoides libres denso anormal siguiendo un patrón de avance con las siguientes características; para los días 11 y 12 el espermatozoides libres almacenado puede alcanzar hasta un 90 a 95 %, sin embargo, a partir de este día el espermatozoides libres puede ocupar la totalidad de la cavidad testicular.

Días 16-20. (Figs. 20,21,25 (a-f); Cuadros 4,5). En el grupo de los no irradiados la producción de espermatozoides continúa en forma constante señal clara de su plena madurez sexual y si estos machos tienen cópulas es posible que afecte con altibajos las lecturas de sus tallas ya que se alternan periodos de transferencia de espermatozoides y acumulación de este en la vesícula seminal.

Los testículos de TSL sin irradiar pueden presentar tallas por encima de los silvestres hasta el día 19 fluctuando entre 0.690 ± 0.060 y 0.702 ± 0.054 mm de longitud por 0.277 ± 0.030 y 0.290 ± 0.040 mm de ancho en tanto que el grupo de silvestres pueden presentar entre 0.636 ± 0.039 y 0.665 ± 0.028 mm de longitud por 0.265 ± 0.043 y 0.276 ± 0.029 mm de ancho. Para el día 20 estos parámetros no presentan diferencias estadísticas.

Como en el periodo anterior en este grupo las diferencias histológicas no son identificables y se siguen observando las tres regiones bien definidas, cada una ocupando alrededor de un tercio de la longitud del testículo, nuevas células espermatozoides se incorporan a la zona de crecimiento para darle continuidad a la espermatogénesis, en la parte media la zona de paquetes de espermatozoides sigue la diferenciación celular y continúa la liberación de espermatozoides libres a la base del testículo que en algunos casos ocupa hasta un 40 a 45 % la cual tiene aspecto filiforme enmarañado.

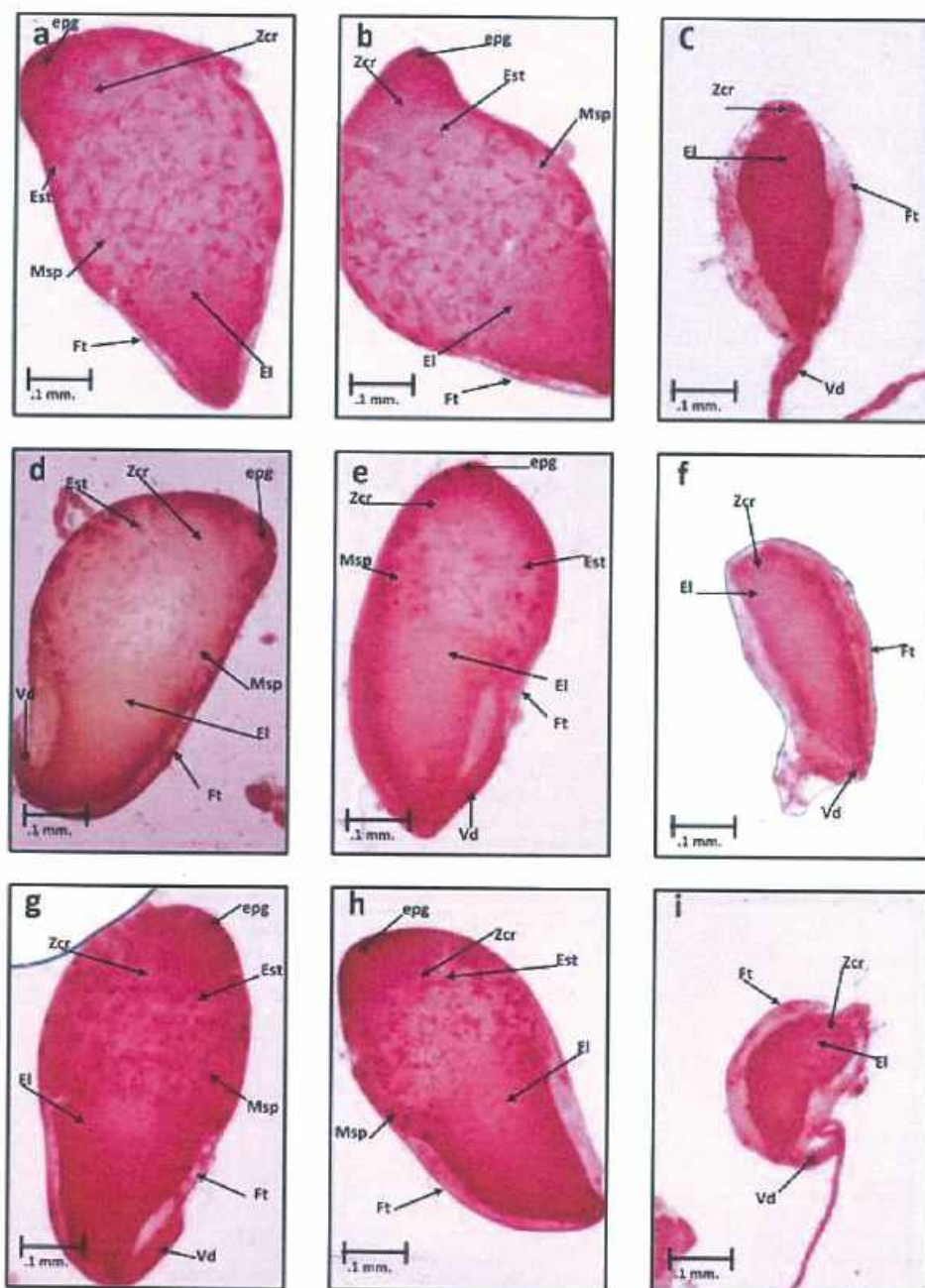


Figura 25. Maduración de testículos en machos de TSL sin irradiar y silvestres comparados con los testículos de machos irradiados de los diferentes tratamientos: a) TSL sin irradiar 17 días; b) Silvestre 17 días; c) TSL 100 Gy, 17 días; d) TSL sin irradiar 20 días; e) Silvestre 20 días; f) TSL 125 Gy, 20 días; g) TSL sin irradiar 25 días; h) Silvestre 25 días; i) TSL 145 Gy, 25 días; El= Esperma libre, Epg= Espermátidas, Ft= Funda del testículo, Msp= Manojos de esperma, Vd= Vaso deferente, Zcr= Zona de crecimiento, Est = Espermátidas.

En el grupo de irradiados siguen reduciendo sus tallas ocasionado por la destrucción celular ya que la radiación inhibe completamente la mitosis y la diferenciación de las células espermatogoniales por lo que no existe la posibilidad de repoblación de células germinales y únicamente las espermátidas que estaban en proceso de diferenciación celular al momento de la irradiación se transforman en espermatozoides densos anormales y que a estas edades están ocupando habitualmente en forma de esperma libre desde el ápice hasta la base de estos testículos. Los registros morfométricos en las diferentes dosis de irradiación fluctúan entre, 0.474 ± 0.044 y 0.391 ± 0.031 mm de longitud por 0.183 ± 0.032 y 0.145 ± 0.021 mm de ancho con muy pocas diferencias estadísticas entre sí, pero sí de importancia significativa si los comparamos con el grupo de no irradiados. Las formas ahora se pueden observar cada vez más alargadas, arriñonadas e irregulares con la funda testicular casi totalmente separada, todas las características anteriores hace que la diferenciación entre irradiadas y no irradiadas en estas edades sea relativamente fácil.

Día 25. (Figs. 20, 21, 25 (g-i); Cuadros 4, 5). En testículos de estas edades en el grupo de no irradiados no es posible encontrar cambios importantes respecto al grupo de edades anteriores (16-20 días), y las tallas en TSL sin irradiar (0.695 ± 0.060 mm de longitud por 0.269 ± 0.029 mm de ancho) presentan diferencias estadísticas respecto a los testículos en los machos silvestres (0.643 ± 0.043 mm de longitud por 0.273 ± 0.023 mm de ancho). Sin embargo, las características histológicas no difieren entre si y como en el grupo de edades anteriores, las tres regiones están perfectamente claras y definidas divididas en tres partes generalmente iguales, ocasionalmente la zona basal llega a ser un poco mayor que las otras dos probablemente asociada con la capacidad de transferencia de esperma de los diferentes individuos. La región apical se continúa tiñendointensamente debido a la reacción positiva del colorante aceto-orceina, con el material cromático de los núcleos de las células de la zona de crecimiento la cual se observa bien delimitada y con todas sus células en división de manera homogénea para convertirse en espermátidas es sus típicos quistes o bolsitas, en la zona de manojos estos se observan abundantes, algunos compactos y otros aflojándose para continuar soltando esperma libre maduro a la base del testículo listo para ser transferido a las hembras durante la cópula.

En el grupo de irradiados se puede seguir observando la destrucción celular con la consecuente reducción en las tallas de los testículos de las diferentes dosis de irradiación, y se pueden encontrar los siguientes registros morfométricos, TSL 100 Gy; 0.395 ± 0.051 mm de longitud por 0.141 ± 0.026 mm de ancho; TSL 125 Gy; 0.385 ± 0.047 mm de longitud por 0.135 ± 0.026 mm de ancho; TSL 145 Gy; 0.383 ± 0.038 mm de longitud por 0.142 ± 0.024 mm de ancho, con pocas diferencias estadísticas entre ellas, pero si los comparamos nuevamente con el grupo de no irradiados la diferencia es evidente. En estos testículos, en lo que antes fue la zona de crecimiento, la desorganización celular es total pueden verse escasos restos de manojos muy flojos, células picnóticas y grupos de cromatina también escasos, espacios intercelulares muy amplios causados por células que murieron y se desintegraron, manojos de esperma compactos están ausentes y toda la cavidad testicular es ocupada ahora por el esperma denso anormal. Estos testículos adquieren formas muy delgadas, arriñonada, y deformes, la funda o membrana testicular muy separada y en algunos casos ya se ha

desintegrado. La diferencia con el grupo de los no irradiados es a la luz de estas características totalmente incuestionable.

Inmediatamente después de concluir con la identificación de los ejemplares ingresados durante el día, se procesan todos los datos en el informe diario (Anexo 5 y 5a) y se traslada éste al Departamento de Informática para ingresarlos a la base de datos y generar el reporte diario de detecciones.

4. ASPECTOS RELEVANTES

En condiciones normales la maduración sexual en las hembras silvestres y TSL sin irradiar de *C. capitata* implica un notable crecimiento de los ovarios tanto en longitud y ancho así como en el número de ovocitos que maduran a lo largo de su desarrollo. Estas variaciones permiten establecer importantes diferencias morfológicas, morfométricas e histológicas entre éstas y los ovarios de hembras irradiadas. Sin embargo, debido a que el procedimiento de radiación se da en estado de pupa de las moscas a menos dos días antes de su emergencia y la ovogénesis se inicia una vez que la emergencia de los adultos se da, no es posible establecer diferencias en los primeros días de desarrollo ya que los ovarios tanto de moscas no irradiadas como de irradiadas presentan un mínimo de desarrollo sin diferencias entre los grupos. No es sino hasta los 2 días de edad en el caso de la cepa TSL sin irradiar y entre 3 y 4 en las silvestres, tiempo en que inician su crecimiento ovárico, que estas diferencias son evidentes para discriminarlos de manera clara con el grupo de irradiadas.

Al momento de la emergencia las moscas de la fruta son sexualmente inmaduras y el proceso de maduración ovárica depende de múltiples factores, entre ellos la temperatura, fotoperiodo, tipo de dieta, señales químicas y disponibilidad de parejas (machos) (Flecher 1989, Wheeler 1996, Papaj 2000, Aluja et al. 2001, Pereira et al. 2006). Los adultos de géneros de *Rhagoletis*, *Ceratitis*, *Anastrepha* y *Dacus*, no pueden mantener una alta fecundidad sin la ingestión de agua y nutrientes como carbohidratos, aminoácidos, vitamina B y sales, ya que estas sustancias son fundamentales para el desarrollo ovárico (Bateman, 1972; Prokopy y Roitberg, 1984). Las cepas de laboratorio usualmente presentan periodos de madurez más cortos en relación con cepas silvestres de la misma especie, esto debido a que las hembras ya presentan folículos previtelogénicos desde la emergencia como es el caso de *C. capitata* (Williamson, 1989); *Rhagoletispomonella* (Walsh) tiene un período de preoviposición de 9-10 días (Dean, 1935; Webster y Stoffolano, 1978); en cepas de laboratorio, *C. capitata* presentó un corto período de 3-4 días (Hanna, 1938), el período de maduración ovárica en especies de *Anastrepha*, también es variable así en *A. ludens* es alrededor de los 9 días de edad (Dikenset al. 1982); en *A. serpentina*, la maduración de los ovarios se llevo a cabo en un periodo de 14 días después de la emergencia (Martínez, et al. 1995); en *A. fraterculus* se reporta una plena madurez sexual en hembras de alrededor de 8 días de edad (Bartolucciet al. 2008); y en *A. suspensa*, las hembras alcanzan su madurez gonádica a los 11 días (Nation 1972), pero su cepa de laboratorio lo completa 5 días antes (Mazomenos et al. 1977). Recientemente utilizando también una cepa de laboratorio de *A. suspensa* (Kendraet al. 2006) reportaron que los ovarios de estas hembras maduraron entre 7 y 9 días de edad después de la emergencia. En *C. capitata* después de

7 días las diferencias observadas entre moscas TSL sin irradiar y silvestres son prácticamente imperceptibles.

Por otro lado la presencia de ovocitos maduros es tomada como una característica definitiva de la madurez sexual en las hembras (Nation 1972, Aluja *et al.* 2001). La presencia constante de ovocitos maduros listos para ser ovipositados en la mayoría de las ovariolas en los ovarios de las hembras de *C. capitata* de TSL sin irradiar después de los 2 días de edad y en el caso de las silvestres después de 3 o 4 nos indican que han iniciado su madurez sexual, alcanzando una estabilidad en producción de ovocitos maduros entre los 7 y 8 días en ambos grupos. Por lo anterior una aplicación práctica en los laboratorios de identificación para fines de diagnóstico será la siguiente categorización. Hembras inmaduras sexualmente de 0 a 2 días en cepa TSL sin irradiar y en las silvestres de 0 a 3 días y algunos casos hasta los 4 días. Hembras con madurez sexual temprana o inicial de 3 a 7 y hasta 8 días en cepa TSL y en el caso de silvestres de 4 a 5 días y hasta los 7 u 8 días. Y de madurez sexual plena o avanzada en hembras de más de 7 u 8 días en ambos casos. Para la determinación final del diagnóstico se deberán tener en consideración los aspectos técnicos abordados en el capítulo anterior por cada grupo de edades.

En el grupo de hembras irradiadas, después de los 7 días de edad, el daño por la irradiación es claro y evidente ya que se observa una desintegración total del germario dejando amplios espacios intercelulares, y los folículos ováricos que hacen intentos de desarrollarse desaparecen por causa de la inhibición mitótica y muerte de las células implicadas en la ovogénesis, dando como resultado una atrofia muy severa que impide el total desarrollo de las ovariolas, afectando sus funciones bioquímicas, fisiológicas y morfológicas de los ovarios de manera irreversible. Está claro también que existe el riesgo, aunque poco probable, de identificar erróneamente las hembras estériles jóvenes no marcadas como hembras fértiles inmaduras. Existe escasa probabilidad porque las moscas estériles son liberadas en el campo una vez iniciada su maduración sexual cuando el daño por la irradiación ya es notable además se tiene registros donde el porcentaje de hembras en la cepa TSL es muy bajo (relación macho-hembras de 99:1) y aún es más bajo el porcentaje de hembras estériles que se captura. (En el Centro de Operaciones de Campo Comitán, del Programa Moscamed, México se registró de enero 2009 a abril 2010 un total de 456650 moscas machos estériles, y 282 hembras marcadas con el colorante fluorescente, representando el 0.061 % del total de moscas capturadas). Si se diera el caso de la fortuita captura de una hembra estéril que se dictamine en primera instancia sin marca, el estudio de las gónadas debe reflejar el daño de la irradiación. En el caso anterior un elemento técnico adicional para el diagnóstico lo constituye la microdissección, montaje y tinción de las espermatecas para determinar la presencia o ausencia de espermatozoides en su interior, si es positiva entonces es casi seguro de que se trate de una hembra estéril cuya madurez sexual le permitió seleccionar y copular con un macho para recibir y almacenar su esperma.

En los machos la maduración sexual en condiciones normales implica el desarrollo de la espermatogénesis en los testículos que inicia con la diferenciación celular de las espermatogonias y espermatoцитos primarios y secundarios en la zona de crecimiento o germario, formación de espermátidas y manojos de esperma y finalmente la liberación de espermatozoides en cantidad y calidad suficientes a la vesícula seminal o base del

testículos para ser transferidos a las hembras durante la copula. Según referencias de Drew (1969), Nation (1972), Webster y Stoffolano (1978), y Dikens et al. (1982), los machos de diversos tefritidos maduran sexualmente antes que las hembras, la diferencia entre el tiempo de maduración gonádica entre ambos sexos, podría estar relacionada con los requerimientos dietéticos de cada sexo. A diferencia de las hembras en los machos la espermatogénesis ya se ha iniciado al momento de la emergencia desde los primeros días de edad se pueden detectar pequeñas cantidades de esperma libre en la base del testículo, cantidad que se incrementa con la edad de los machos en las diferentes tratamientos.

De acuerdo a las características de desarrollo en la espermatogénesis y para fines de diagnóstico en los laboratorios de identificación la siguiente categorización en los ejemplares sin irradiar puede ser de aplicación práctica: en machos jóvenes con características de hasta 3 a 4 días de edad en cepa TSL sin irradiar se pueden clasificar con una madurez sexual temprana o inicial, en los machos silvestres este rango se puede extender hasta 5 a 6 días, después de estos días en ambos grupos se pueden clasificar como machos con una madurez sexual plena o avanzada.

Entre el cuarto y quinto día de edad las diferencias histológicas entre testículos del grupo de machos no irradiados (silvestres y TSL no irradiados) y los irradiados a diferentes dosis (100, 125 y 145 Gy) son indiscutibles y un diagnóstico de diferenciación entre estos grupos es confiable. Ya que mientras el primer grupo continúa con el proceso normal de espermatogénesis hasta los 25 días de edad, en los irradiados se presenta una evidente inhibición mitótica, muerte y desintegración celular que causa gradualmente una desorganización de las células implicadas en la espermatogénesis. Con lo anterior se elimina la posibilidad de que se generen nuevas células espermatogonias, y únicamente las células espermátidas que estaban en proceso de diferenciación cuando se realizó la irradiación alcanzan a transformarse en esperma denso anormal el cual se va acumulando gradualmente con la edad en la base del testículo hasta ocupar la cavidad testicular casi por completo en los últimos días de su vida y en consecuencia los testículos de los machos irradiados pierden o se alteran irreversiblemente sus funciones bioquímicas, fisiológicas y morfológicas. La naturaleza exacta de la mutación o introducción de aberraciones cromosómicas en los espermatozoides, responsables de la muerte del cigoto (von Borstel and Rekemeyer 1959, La Chance and Riemann 1964, La Chance 1967), queda fuera del alcance de nuestros estudios, sin embargo, es generalmente aceptado que la principal causa de las mutaciones letales que resultan en la esterilización de los insectos, es la ruptura de los cromosomas ocasionada por la radiación o por compuestos químicos (Liedo, et al. 2009, Hendrichs 200). Los insectos que se esterilizan fácilmente, como los dípteros, tienen un solo centrómero en cada cromosoma y la pérdida de la ruptura de las partes de los cromosomas al momento de la división celular ocasiona un desbalance genético que es la causa más común de las mutaciones letales inducidas por la radiación (Bushland 1971).

Es posible diferenciar correctamente las moscas sin irradiar cepa TSL y silvestres, de las moscas cepa TSL irradiadas a diferentes dosis que son capturadas por los sistemas de trapeo en el área donde estos ejemplares son liberados y presentan deficiencia en la marca fluorescente. Sin embargo, si las moscas estériles son liberadas una vez que han iniciado el proceso de maduración sexual y con edades homogéneas el rango de error esperado será nulo, siempre y cuando los ejemplares capturados estén en buen estado,

por lo mismo es deseable que las técnicas de liberación y de captura se ajusten a estas necesidades en la medida de lo posible.

5. CASOS ESPECIALES DE CAPTURA EN ÁREA LIBRE Y BAJA PREVALENCIA

Eventualmente pueden presentarse casos diferentes a los patrones antes descritos los cuales deben ser analizados y tratados de manera especial utilizando el criterio y la experiencia de los expertos en el área. A continuación se mencionan los siguientes casos:

a) Cuando en las laminillas las moscas que se capturan no tienen cabeza, el laboratorista debe informar al jefe inmediato de esta situación para que observe el cuerpo en el microscopio epi-fluorescente a fin de detectar colorante de marcaje, si el resultado es negativo el ejemplar deberá enviarse a disección y estudio cito-histológico.

b) Cuando en las laminillas sólo se encuentran cabezas de las moscas, éstas se colocan en hojas de papel filtro cuadrulado o cartoncillo y se observan en el microscopio epi-fluorescente. El laboratorista debe informar al jefe inmediato de estos casos para que aplique el criterio técnico relacionado con la presencia ó ausencia de colorante por marcaje o contaminación para determinar si es fértil ó estéril.

c) En las laminillas que solo presenten alas y que a criterio técnico se considera imposible determinar si es fértil o estéril, el jefe de laboratorio deberá informar al jefe de centro a fin de implementar las acciones que procedan de acuerdo a los protocolos oficiales.

d) Ovarios o testículos con grado avanzado de descomposición. Dependiendo del grado de descomposición del ejemplar, el técnico responsable después de agotar todos los recursos técnicos señalados en el presente manual, podrá decidir que el diagnóstico es improcedente ante la imposibilidad de realizar el estudio cito-histológico. En el caso de testículo y/o ovarios de estas características con menor daño, el rango de edad proporcionado en el diagnóstico puede extenderse por 6 o más días.

6. INFORME DE RESULTADOS

La emisión del resultado de un diagnóstico de fertilidad de los adultos de mosca del Mediterráneo, se debe detallar en el (Anexo 6). Además, documentar mediante fotografías digitales las siguientes estructuras, siempre y cuando se cuente con el equipo necesario:

Para el caso de los machos:

Testículo derecho e izquierdo completos
Zona apical y basal de ambos testículos

Para el caso de las hembras:

Ovario derecho e izquierdo completos
Ovocitos maduros de ambos ovarios
Ambas espermatecas

El resultado del diagnóstico de una hembra fértil debe incluir:

Ovocitos maduros: Anotar aquí el número que presente cada ovario (derecho e izquierdo).
 Presencia de esperma en las espermatecas: En este apartado debe anotarse si en ambas, una o ninguna hay presencia de esperma.

Madurez sexual: Puede ser maduro o inmaduro.

Edad: Anotar aquí la edad en rangos de 3 días, (1 – 3, 4 – 6, 7 – 9, 10 – 12, 13 – 15 y mayor a 15 días)

Diagnóstico: El diagnóstico debe ser un resumen del resultado obtenido, por ejemplo: Hembra fértil copulada de 7 – 9 días de edad aproximada. Sexualmente madura con 22 ovocitos maduros en ovario izquierdo y 19 en ovario derecho y presencia de esperma en una espermateca.

Imposibilidad de emitir el diagnóstico por ovarios con avanzado grado de descomposición e imposibilidad de realizar estudio cito-histológico.

El resultado del diagnóstico de un macho fértil debe incluir:

Espermatogénesis: En base a lo observado en los testículos del macho bajo estudio, se debe definir en este campo si la espermatogénesis es bien o parcialmente definida.

Esperma libre en vesícula seminal: Determinar si es abundante o escaso.

Madurez sexual: Puede ser maduro o inmaduro.

Edad: Anotar aquí la edad en rangos de 3 días, (1 – 3, 4 – 6, 7 – 9, 10 – 12, 13 – 15 y mayor a 15 días)

Diagnóstico: El diagnóstico debe ser un resumen del resultado obtenido, por ejemplo: Macho fértil de 1 - 3 días de edad aproximada. Sexualmente inmaduro con espermatogénesis bien definida y escaso esperma libre en vesícula seminal.

Imposibilidad de emitir el diagnóstico por testículos con avanzado grado de descomposición e imposibilidad de realizar estudio cito-histológico.

La captura de los resultados se registrará de la siguiente manera para el caso de Chiapas México.

Ejemplares fértiles. La captura de los resultados en la base de datos se hará posterior a la oficialización del evento. En este caso, únicamente se entregarán los diagnósticos del laboratorio y los restos del insecto que fue motivo del diagnóstico se entregarán en un frasco entomológico con alcohol al 70%, debidamente cerrado, protegido y rotulado con los siguientes datos: código regional de la trampa, ruta, código de revisor, lugar y Centro / sub Centro de Operaciones de Campo.

7. MATERIALES Y EQUIPO

Todos los laboratorios de identificación deben tener, además de las instalaciones apropiadas y de contar con las condiciones adecuadas para el confort, lo siguiente: seguridad e higiene indispensables para las actividades que se desempeñan, los materiales y equipos necesarios en calidad y en cantidad para cumplir de manera eficaz y eficiente con los objetivos del área. En el (Anexo 4), se presenta un listado de estos materiales y equipos.

8. FUNCIONES Y RESPONSABILIDADES DEL PERSONAL TÉCNICO DEL LABORATORIO

8.1. Jefe del Laboratorio de Identificación:

- a. Coordinar y supervisar actividades técnicas y laborales del personal asignado al laboratorio.
- b. Solicitar oportunamente y darle seguimiento a solicitudes de materiales y equipos necesarios para el buen funcionamiento del laboratorio.
- c. Verificar día a día el cumplimiento de los procedimientos del manual autorizado para el laboratorio.
- d. Supervisar que las funciones y responsabilidades del personal técnico del laboratorio se ejecuten de manera apropiada a fin de alcanzar diagnósticos confiables.
- e. Tramitar y darle seguimiento al plan anual de mantenimiento preventivo de los microscopios y equipos de fluorescencia y de servicio correctivo de estos equipos cuando sea necesario.
- f. Corregir de manera inmediata los errores u omisiones que se susciten en la aplicación correcta del manual de procedimientos del laboratorio, y llevar un registro detallado de estos errores, así como de la eficiencia de su personal.
- g. Realizar los estudios cito-histológicos de los ejemplares de *C. capitata* Wied. que sean diagnosticados sin marcaje, de acuerdo al manual de procedimientos. En ausencia del jefe de laboratorio un técnico autorizado deberá realizar esta actividad.
- h. Entregar de manera oportuna la información de capturas fértiles al departamento de Informática, para elaborar el informe de detección o brote, así como los informes diarios y semanales de la actividad, y/o cualquier otro informe que le sea solicitado en su área.

8.2. Técnico Laboratorista:

- a. Recibir el material de trapeo cuando le sea asignada esta actividad.
- b. Aplicar de manera correcta los métodos y procedimientos establecidos en el manual de esta área.
- c. Extraer y ordenar las moscas de las laminillas de los diferentes tipos de trampa y utilizar las hojas cuadrículadas (Anexo 1 y 1b) para esta actividad.
- d. Hacer las observaciones de marcaje aplicando los criterios establecidos en el manual.

- e. Utilizar de manera cuidadosa y con responsabilidad los equipos y materiales que se utilizan en el laboratorio de identificación.
- f. Entregar de manera oportuna la información de moscas procesada del informe diario de laboratorio (Anexo No. 5 y 5a), y/o cualquier otro informe que le sea solicitado en su área.
- g. Para los casos particulares, un técnico autorizado podrá realizar la disección de ejemplares sin marcaje.

9. ACTIVIDADES COLATERALES A LA ACTIVIDAD DE LOS LABORATORIOS

9.1.1. Control de Calidad interno de la actividad

Aplicar el protocolo desarrollado específico, mismo que aplicará el grupo asignado.

9.1.2. Entrenamiento y capacitación

Cursos de actualización periódicos a todo el personal de laboratorio.

9.1.3. Exámenes de la vista

Visita anual del personal de laboratorio al oftalmólogo.

9.1.4. Programa de estímulos

Aplica según resultados de control de calidad.

9.1.5. Renovación de equipo de microscopia con tecnología de punta, cómputo y mobiliario.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

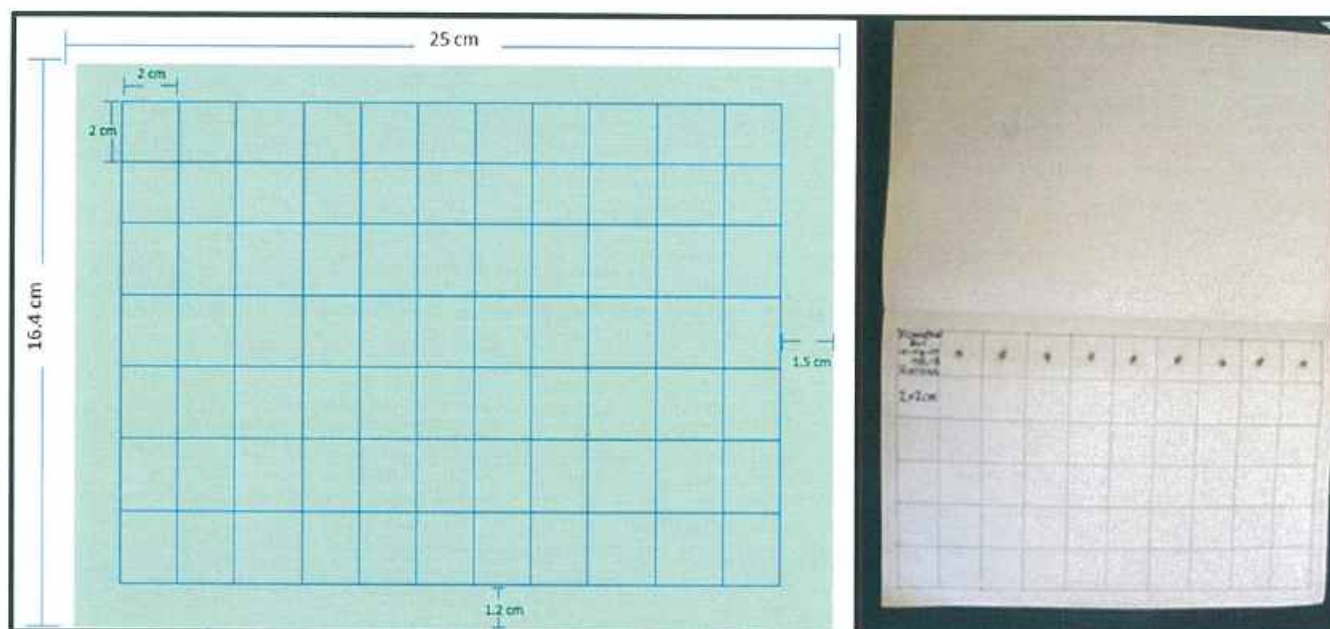
- Aluja, M. 1994. Bionomics and management of *Anastrepha*. *Annual Review of Entomology* 39:155-178.
- Anwar, M., D. L. Chambers, K. Ohinata and R. M. Kobayashi. 1971. Radiation sterilization of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae); Comparison of spermatogenesis in flies treated as pupae or adults. *Annals of the Entomological Society of America* 64:627-633.
- Bartolucci A., M. T. Vera, V. Yusef, and A. Oviedo. 2008. Morphological Characterization of the Reproductive System of Irradiated *Anastrepha fraterculus*. In: *Fruit Flies of Economic importance: From Basic to Applied Knowledge Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic importance*. 10-15 September 2006, Salvador, Brazil.

- Edited by: Regina Sugayama, Roberto Antonio Zucchi, Sergio Ovruski [org.]- Salvador: SBPC:2008: 45-52.
- Bateman, M. A. 1972. The ecology of fruit flies. *Annual Review of Entomology* 17:493-518.
- Borstel, R. C. von, and M. L. Rekemeyer. 1959. Radiation-induced and genetically contrived dominant lethality in *Habrobracon* in *Drosophila*. *Genetics* 44: 1053-74.
- Bushland, R. C. 1971. Sterility principle for insect control. Historical development & recent innovations. In *Sterility Principle for Insect Control or Eradication*. IAEA, STI/PUB/265 (IAEA-SM-138/47) 3-14.
- Caceres C., J.P. Cayol, W. Enkerlin, G. Franz, J. J. Hendrichs and A. S. Robinson. 2004. Comparison of Mediterranean fruit fly (*C. capitata*) (Tephritidae) bisexual and genetic sexing strains: development, evaluation and economics, pp. 367-381 In: B. N. Barnes (Ed.), *Proceedings Symposium: 6th International Symposium on Fruit Fly of Economic Importance*, 6-10 M 2002, Stellenbosch. South Africa. Iste Scientific Publications, Irene, South Africa.
- Dean, R. W. 1935. Anatomy and postpupal development of the female reproductive system in the apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella* Walsh. *New York State Agricultural Experimental Station Technical Bulletin* 229:1-31.
- Dickens, J. C., E. Solís and W. G. Hart. 1982. Sexual development and mating behavior of the Mexican fruit fly, *Anastrephaludens* (Loew). *Southwestern Entomologist*. 7(1): 9-15.
- Drew, R. A. I. 1969. Morphology of the reproductive system of *Strumetatrioni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae) with a method of distinguishing sexually mature adults males. *Journal of the Australian Entomological Society* 8:21-32.
- Enkerlin, W., L. López, and H. Celedonio. 1996. Increased accuracy in discriminating between captured wild unmarked and released dye-marked adults in fruit fly (Diptera: Tephritidae) sterile released programs. *Journal of Economic Entomology*. 89(4): 946-949.
- Fletcher, B. S. 1989. Temperature-development rate relationships of the immature stages and adults of tephritid fruit flies, pp.283-289. In A. S. Robinson and G. Hooper (Eds.), *Fruit Flies-Their Biology, Natural Enemies and Control*, Vol 3A. Elsevier, Amsterdam.
- Franz, G. 2005. Genetic Sexing strains in Mediterranean fruit fly, an example for other species amenable to large scale rearing for the sterile insect technique, pp 427-452, In: V. A. Dyck, J. Hendrichs and A. S. Robinson (Eds.) *Sterile Insect Technique. Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. Springer, Netherlands.
- Guillén, A. J. C. 1983. Manual para la diferenciación de moscas del mediterráneo *C. capitata* (Wied.) silvestres (fértiles) de moscas irradiadas (estériles). Programa Mosca del Mediterráneo. SARH-DGSV. México. 102 pp.
- Hanna, A. D. 1938. Studies on the Mediterranean fruit fly: *C. capitata* (Wied.) I. The structure and operation of the reproductive organs. *Bulletin de la Société Foreadler De Entomologie* 22:39-52.
- Hendrichs, J. 2000. Use of the sterile insect technique against key insects pests. *Sustainable Development International* 2.75-79.
- Hendrichs, J., G. Franz, & P. Rendon. 1995. Increased effectiveness & applicability of the sterile insect technique through male-only release for control of Mediterranean fruit flies during fruiting seasons. *Journal of Applied Entomology*. 119:371-377.
- Kendra, P. E., W. S. Montgomery, N. D. Epsky, and R. R. Heath. 2006. Assessment of female reproductive status in *Anastrephasuspensa* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 86:749-755.
- LaChance, L. E. 1967. The induction of dominant lethal mutations in insects by ionizing radiation and chemicals as related to the sterile male technique of insect control, p. 617-50.

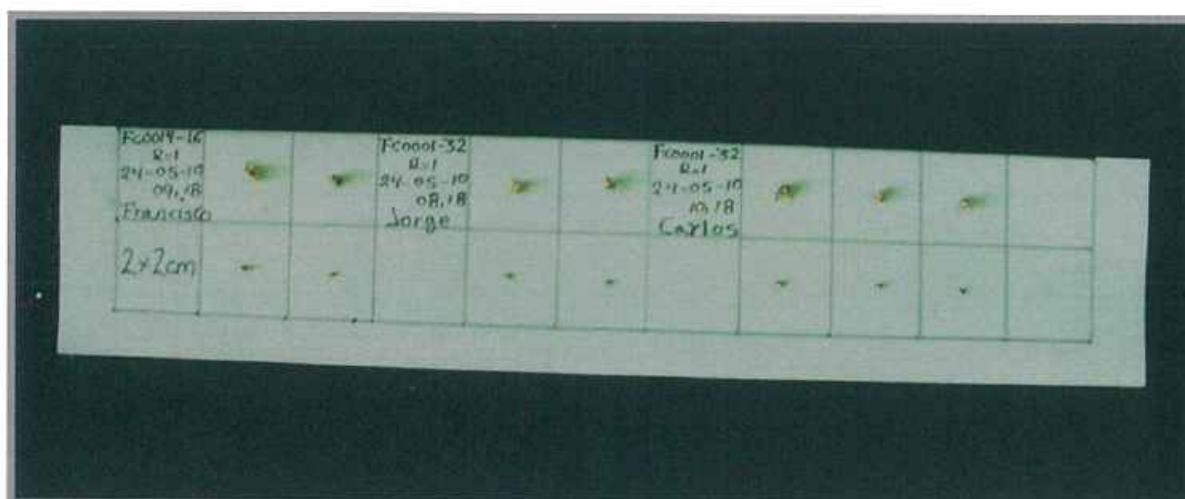
- In J. W. Wright and R. Pal (Ed.) Genetics of insects Vectors of Disease. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- LaChance, L. E., and J. G. Riemann. 1964. Cytogenetic investigation on radiation and chemically induced dominant lethal mutations in oocytes and sperm of the screw-worm fly. *Mutation Research*. 1: 318-33.
- Liedo, P., W. R. Enkerlin y J. Hendrichs. 2010. Fundamentos de la Técnica del Insecto Estéril. Pp. 243-256. En P. Montoya, J. Toledo y E. Hernández (Eds), *Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo*. México, D.F.
- Martinez, I., V. Hernández-Ortiz and L. R. Luna. 1995. Desarrollo sexual en *Anastrepha serpentina* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Acta Zoologica Mexicana* 88:89-105.
- Martinez, I., V. Hernández-Ortiz. 1997. Anatomy of the reproductive system in six *Anastrepha* species and comments regarding their terminology in Tephritidae (Diptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 99: 272-743.
- Matzuda, R. 1976. Morphology and evolution of the insect abdomen. Pergamon, Press. pp. 335-363.
- Mazomenos, B., J. L. Nation, W. J. Coleman, K. C. Dennis and R. Sponda. 1977. Reproduction in Caribbean fruit flies: comparisons between a laboratory strain and a wild strain. *Florida Entomologist* 60: 139-144.
- McAlpine J. F. 1981. Morphology and terminology- adults, pp 9-63. In McAlpine J. F., B. V. Peterson, G. E. Shewell, H. J. Teskey, J. R. Vockeroth and D. M. Wood, eds. *Manual of Nearctic Diptera*. Research Branch Agriculture Canada. Monograph 27.
- Munguira, M. L., Salom, F. y Muñoz, M. 1983. Estudio morfológico del aparato reproductor femenino de *C. capitata* Wied. (Dipt.: Trypetidae) *Bol. Serv. Plagas*, 9: 31-44.
- Nation, J. L. 1972. Courtship behavior and evidence for a sex attractant in the male Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. *Annals of the Entomological Society of America* 65(6): 1364-1367.
- Norrbom, A. L. and K. C. Kim. 1988. Revision of the *schausi* Group of *Anastrepha* Schiner (Diptera, Tephritidae), with a Discussion of the Terminology of the female terminalia in the Tephritoidea. *Annals of the Entomological Society of America* 81(2):164-173.
- Papaj, D. R. 2000. Ovarian dynamics and host use. *Annual Review of Entomology* 45:423-448.
- Pereira, R., P. E. A. Teal, J. Sivinski, and B. D. Dueben. 2006. Influence of male presence on sexual maturation in female Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior* 19:31-43.
- Prokopy, R. J. and B. D. Roitberg. 1984. Foraging behavior of the true fruit flies. *American Scientist* 72: 41-49.
- Webster, R. P. and J. G. Sstoffolano. 1978. The influence of diet on the maturation of the reproductive system of the Apple Maggot, *Rhagoletis pomonella*. *Annals of the Entomological Society of America* 71(6): 844-849.
- Wheeler, D. 1966. The role of nourishment in oogenesis. *Annual Review of Entomology* 41:407-431.
- Williamson, D. L. 1989. Oogenesis and spermatogenesis, pp 141-151. In Robinson A. S. and Hooper, G., *Fruit flies. Their biology, natural enemies and control* Vol. 3 A.

11. ANEXOS

ANEXO 1
HOJA CUADRICULADA DE CARTONCILLO VERDE PARA EL ORDENAMIENTO DE MOSCAS



a) Para moscas completas.



**b) Para cuerpo y cabezas separados de moscas con
deficiencia de marca fluorescente.**

ANEXO 2 PREPARACIÓN DE SOLUCION SALINA

Para elaborar 500 cc de solución se necesitan:

Materiales

6 gr de Cloruro de Sodio.

30 ml de alcohol isopropílico al 99%

464 ml de agua destilada

Beaker (vaso de precipitado) de 500 ml

Pipeta de vidrio graduada (puede usarse como agitador)

Báscula de cocina

Se disuelve los 6 gramos de sal en los 464 ml de agua, después agregar los 30 ml de alcohol en condiciones ambientales del laboratorio.

ANEXO 3 PREPARACIÓN DE ACETO-ORCEÍNA

Para elaborar 100 cc del colorante se necesitan:

Materiales

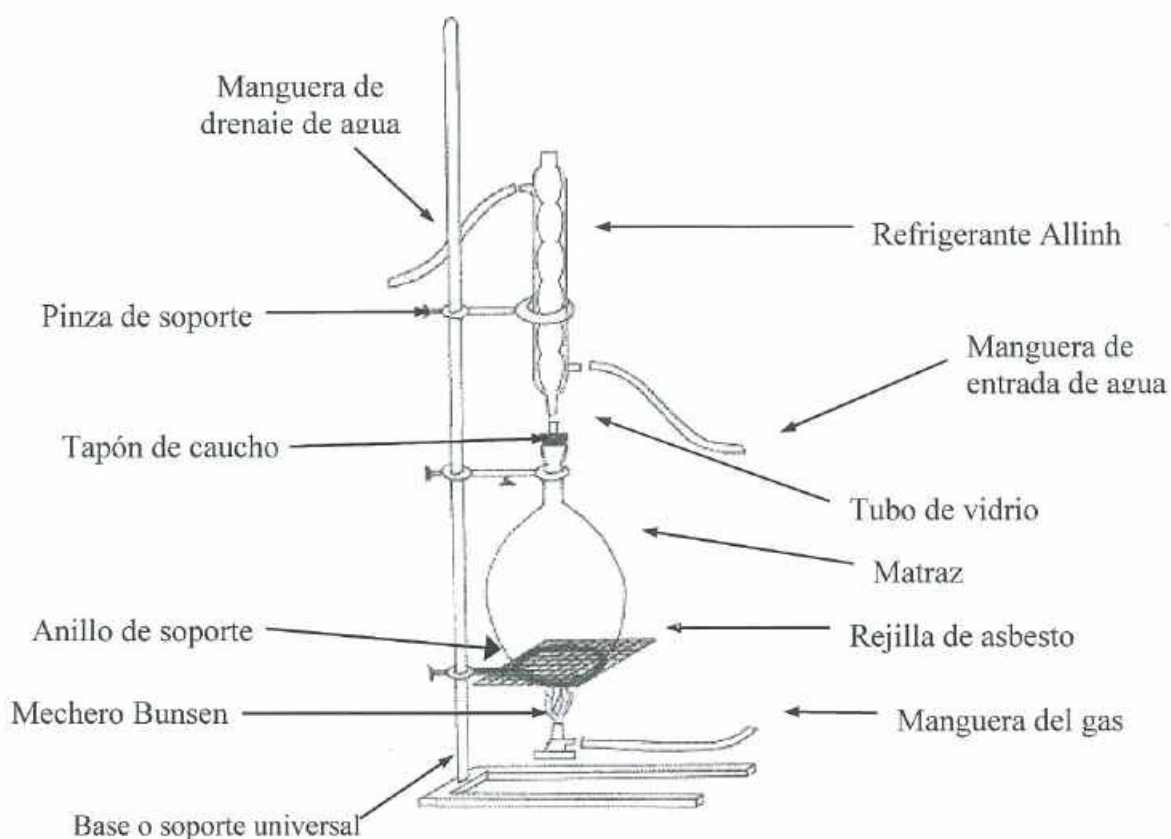
2 gr de orceína

45 ml de ácido acético glacial

53 ml de agua destilada

Papel filtro

El detalle del equipo para preparación de aceto-orceína se describe en el esquema siguiente:



Equipo de preparación de aceto-orceína

Se debe de montar el equipo, colocando en el soporte el refrigerante sujetándolo con una pinza, en forma vertical, luego se conectan al refrigerante las mangueras que conducirán el agua; la primera manguera será colocada en el anexo inferior del refrigerante y ésta irá unida

a una fuente de agua, en el anexo superior estará la otra manguera que será la de drenaje. La parte inferior del refrigerante irá unida a un tubo de vidrio y éste por medio de un tapón de caucho al matraz o balón que contiene la solución.

Agregar en el matraz los 2 gramos de orceína, luego vaciar el ácido acético, después el agua destilada, estos productos deben mezclarse agitando el matraz por un minuto.

Para homogeneizar la mezcla se debe poner a ebullición por tres horas, luego esta solución se deja enfriar a temperatura ambiente procediendo después a una filtración y guardarla en un lugar oscuro y fresco en frascos color ámbar.

Nota. Actualmente existen algunos proveedores que ya ofrecen la aceto-orceína preparada en diversas presentaciones (250, 500 y 1000 ml). Para el caso de México se puede adquirir en los Laboratorios Químicos HYCEL de México, S.A. de C.V. Catálogo No. 850.

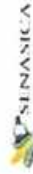
ANEXO 4
MATERIALES, EQUIPO Y SUSTANCIAS A UTILIZAR EN EL LABORATORIO

Materiales	Equipos
Cajas de madera (17 cm ancho, 32 cm largo, 65 cm alto) con divisiones de 3.5 cm entre ellas.	Microscopio estereoscópico equipado con cámara fotográfica digital
Lapiceros tinta azul o negro	Microscopio compuesto equipado con cámara fotográfica digital
Palillos de madera doble punta	Microscopio con sistema de epifluorescencia equipado con conjunto de filtros completo para onda larga y corta y cámara fotográfica digital.
Aguja de disección entomológica de acero inoxidable	Lámpara de luz UV Black Ray modelo B-100 AP
Pinzas de disección de acero inoxidable de punta extrafina No. 5 (De preferencia marca Sigma)	Lámpara lupa con brazo flexible con base y luz led con magnificación de 5 X
Pipetas pasteur de 5 ml	Porta objetos micrométrico con graduación de 1mm/0.01 mm
Pliego de cartulina verde/papel periódico	Cristalería
Regla graduada de 30 cm	Cubre objetos de 22 x 22 mm
Sustancias	Frasco entomológico de vidrio transparente con tapón de rosca boca ancha de 25 ml
Aceite de inmersión para uso en equipos de microscopía	Porta objetos plano de 26 x 76 mm
Aceite mineral	Porta objetos de 26 x 76 mm con una cavidad
Aceto - orceína	Vasos de precipitado de vidrio de 500 - 1000 ml
Alcohol metílico e isopropílico	Caja petri de vidrio de 100 x 20 mm
Bálsamo de Canadá y/o Entellan	Frasco con gotero color ámbar de 20 ml
Esmalte de uñas transparente	
Xilol	Probeta graduada de 100 ml
Equipo de preparación de aceto orceína	

ANEXO 5. REPORTE DE CAMPO



SAGARPA / SENASICA



SARFec-09

Reporte de Campo

Centro de Operaciones Palenque

Revisor: AAAI

Ruta: 1

Semana: 41 14

Aguilar Alcaro Armando

Fecha de Ordenación: _____
Ordenador: _____

Código	Ho.	Trampa	Material	Bloque	Cuadrón	Lat.	Long.	Lugar	II	Instal.	Resolución	Comun. de Carpas de Trampa	Camb. de Atrayente	Lup	Pos	Itcg	Not.	HL	HL	HE	HE	Dest.	
MPA30	1	Fase-IV	P		003308017.194640-92.053650			Cafetal del Fajido Abán Sacum	Café														
MPA31	2	Jackson	C		003308117.198000-92.049580			Cafetal de la Rancharía Valentín	Café														
MPA33	3	Fase-IV	P		003308117.201000-92.046300			Cafetal de la Rancharía Valentín	Café														
MPA34	4	Jackson	C		003307117.203880-92.046070			Cafetal de la Rancharía Valentín	Café														
MPA37	5	Fase-IV	P		003307117.208367-92.042733			Cafetal de la Rancharía Valentín	Café														
MPA14264	6	Jackson	C		003307217.210560-92.040180			Cafetal de la Rancharía Valentín	Café														
MPA14265	7	Fase-IV	P		003306217.213830-92.034740			Cafetal de la Rancharía Cacoteel	Café														
MPA14266	8	Jackson	C		003306317.213390-92.030120			Cafetal de la Rancharía Cacoteel	Café														
TOTAL																							



United States
Department of
Agriculture

ANEXO 5A. INFORME DIARIO DE LABORATORIO



COMISION MOSCAMED
CENTRO DE OPERACIONES RETALHULEU
INFORME DIARIO DEL LABORATORIO DE IDENTIFICACION DE ADULTOS

Revisor: **5, Serapio Santos Ramirez**

Ruta : **1**

Semana: **9, del 26/02/2006 al 04/03/2006**

Fecha de Revisión:

Laboratorista:

No. Informe: _____

Codigo	Circ	Coord	Trp	Biq	Lugar	Hosp	SC	Mant	ESTERILES			MOSCAMED			MOSCA POR COLOR			FERTIL			TOTAL																								
									M	H	H	Nar	Rosa	Amar	Azul	M	H	Cop	N Cop	Est.	Fert.	Apoyo																							
3267	1	3.6 6020 13 16 654 00	3		Aldoa Buja	1																																							
1091	2	3.6 6019 79 16 658 90	3		Aldoa Buja	1																																							
1092	3	3.6 6019 69 16 662 84	3		Aldoa Buja	1																																							
1093	4	3.6 6019 93 16 664 64	3		Aldoa Buja	1																																							
1094	5	3.6 6022 55 16 667 15	3		Aldoa Buja	1																																							
3268	6	3.6 6021 65 16 671 23	3		Cajero Santa Rita Buja	1																																							
1097	7	3.6 6016 40 16 674 07	3		Aldoa Maria Cequia	1																																							
1096	8	3.6 6010 30 16 673 26	3	M1b	Aldoa Maria Cequia	1																																							
2364	9	3.6 6007 87 16 674 04	3	M1b	Aldoa Maria Cequia	1																																							
3269	10	3.6 6005 89 16 673 70	1	M1b	Aldoa Maria Cequia	1																																							
2366	11	3.6 6006 12 16 669 65	3	M1b	Casero 20 de Noviembre	1																																							
1098	12	3.6 6006 92 16 668 69	3	M1b	Casero 20 de Noviembre	1																																							
Total Traampa																							12																						

1 - Revisión Quincenal 2 - Depue Mecánico 3 - Apoyo 4 - Revisor Enfermo (Fertado) 5 - Llamada Extravala 6 - Pupón cerrado 7 - No hay paso 8 - No hay permiso

Martes, 07 de Marzo de 2006

Totales:

Página 1 de 1

**ANEXO 6.
FORMATO DE DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO**

DIAGNÓSTICO ESPECÍMENES SIN MARCA	
Fecha / Semana:	Centro: Subcentro:
Código regional:	No. y tipo de trampa: Ruta:
Lugar:	Mpio.: Revisor:
MOSCAS SIN MARCA PARA ESTUDIO	
Total:	Machos: Hembras:
Ordenador:	Fecha de ordenación/identificación:
RESULTADO DE LABORATORIO DE IDENTIFICACIÓN	
MACHOS	
Espermatogénesis definida:	Bien <input type="checkbox"/> Parcialmente <input type="checkbox"/> Ovocitos maduros. Total: Ov. Der.: Ov. Izq.:
Esperma libre en vesícula seminal:	Abundante <input type="checkbox"/> Escaso <input type="checkbox"/> Hembra copulada: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
Madurez sexual:	Maduro <input type="checkbox"/> Inmaduro <input type="checkbox"/> Madurez sexual: Maduro <input type="checkbox"/> Inmaduro <input type="checkbox"/>
Edad en días: (1-3) <input type="checkbox"/> (4-6) <input type="checkbox"/> (7-9) <input type="checkbox"/> (10-12) <input type="checkbox"/> (13-15) <input type="checkbox"/> (> 15) <input type="checkbox"/>	Edad en días: (1-3) <input type="checkbox"/> (4-6) <input type="checkbox"/> (7-9) <input type="checkbox"/> (10-12) <input type="checkbox"/> (13-15) <input type="checkbox"/> (> 15) <input type="checkbox"/>
Diagnóstico:	Diagnóstico:
Casos especiales:	