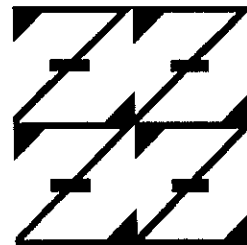


23
2 ej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD
DE ESTUDIOS
SUPERIORES
ZARAGOZA



*Estudio Ultraestructural de Ácaros
Spinturnicidae (Acarida: Mesostigmata)
Parásitos de Murciélagos*

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO
PRESENTA:
REYNA LARA MARTÍNEZ

DIRECTOR: M. EN C. JUAN B. MORALES-MALACARA
Co-TUTOR: DR. LUIS FELIPE JIMÉNEZ GARCÍA

MÉXICO, D.F., JUNIO DE 1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

263613



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria



A Silvia por su amor,
por su impulso a la superación,
por los ánimos que me dio
y por ser una gran madre.

A Juan
por apoyo moral,
y por que espero
esto lo impulse a terminar.

A Juanita, Marce y Elizabeth,
por su cariño y
por ser mi familia.

A mis amigos,
a los que tuve
y aún más a los que cuento.

A Dios por permitirme continuar.



A Juan por el diseño y la impresión del trabajo.

A la DGAPA, ya que el presente estudio fue apoyado por el proyecto (PAPIIT) IN215796, titulado "Sistemática y Estructura de las Comunidades de Artrópodos Epizoicos de Murciélagos de zonas Áridas de México".



Fe de Erratas



Al realizar el planteamiento de este trabajo sólo se contempló la estandarización de la técnica de Microscopía Electrónica y el análisis ultraestructural de los ácaros Spinturnicidae, pero se llegó a la conclusión que también era importante un análisis de la morfología externa de la familia, por lo que,

el título dice:

“Estudio Ultraestructural de Ácaros Spinturnicidae (Acarida: Mesostigmata) parásitos de Murciélagos”,

y debe decir:

“Estudio Morfológico y Ultraestructural de Ácaros Spinturnicidae (Acarida: Mesostigmata) parásitos de Murciélagos”.



FALTAN PAGINAS

De la: **1**

A la: **6**

Resumen



El presente estudio se enfocó al análisis morfológico externo e interno de los ácaros hematófagos de la familia Spinturnicidae, parásitos de murciélagos. Además se logró estandarizar la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión para el procesamiento de espinturnícidos; asimismo se realizó el análisis ultraestructural de las células epidérmicas de la cutícula y las células digestivas del ventrículo.

Dentro del estudio morfológico de los ácaros Spinturnicidae se logró reunir toda la información bibliográfica existente, además de incluir nuevos elementos estructurales derivados de trabajos realizados con material de la Colección de Ácaros de Murciélagos del Laboratorio de Acarología, de la Facultad de Ciencias de la UNAM, con lo cual se logró analizar comparativamente todas las estructuras idiosomales de estos ácaros, dando como resultado un tratado anatómico de los espinturnícidos.

En cuanto al estudio ultraestructural de las células epidérmicas se observó que están constituidas por citoplasma escaso. El núcleo de ésta célula ocupa gran parte de la superficie celular, presenta cromatina periférica y conglomerados de heterocromatina unida a la parte externa del nucléolo, el resto del núcleo está ocupado por el nucleoplasma, que presenta numerosos gránulos de naturaleza ribonucleoproteica, la cual se comprobó al realizar una tinción preferencial con EDTA. Dentro del citoplasma podemos observar organelos como retículo endoplásmico rugoso y algunas mitocondrias.

De las células digestivas del ventrículo podemos mencionar que presentan un núcleo alargado grande, además de contener una gran cantidad de mitocondrias, y microvellosidades en el ápice de la misma, dirigidas hacia el lumen del ventrículo en el cual se observaron eritrocitos del huésped y bacterias en grandes cantidades.

Introducción y Antecedentes



Los ácaros constituyen, junto con los insectos, el grupo de animales con la más alta diversidad zoológica y mayores especializaciones en sus hábitos de vida. Los complejos ciclos vitales, las relaciones parásito-huésped, así como su importancia en la vinculación de determinados procesos parasitarios e infecciosos, los han convertido en el objetivo de numerosos estudios.

Barnes (1985) menciona que para esas fechas se habían descrito alrededor de 25 000 especies, pero algunos acarólogos creen que este número no es más que una fracción del total y que la mayoría de las especies de ácaros se extinguirán debido a la desaparición de los bosques de lluvia y otros hábitats, antes de que hayan sido clasificados por el hombre.

Estos pequeños invertebrados pueden encontrarse en una gran diversidad de ambientes y condiciones ecológicas. Existen ácaros de vida libre que pueden ser terrestres o acuáticos; especialmente los primeros muestran una gran diversidad de adaptaciones a un amplio

campo de ambientes ecológicos y son principalmente numerosos en sitios donde los detritos orgánicos son abundantes. Este grupo de artrópodos también puede ser encontrado viviendo con otros animales que le provee una fuente de alimento o transporte que aprovecha para su dispersión. Esta forma de vida puede llevarlo a convertirse en depredador de sus huéspedes o de sus huevos. Las secreciones de las glándulas dermales o la descamación de la piel del huésped son utilizadas por muchas especies como alimento, lo cual conduce a una situación intermedia entre comensalismo y parasitismo (Doreste, 1984). Los ácaros parásitos pueden tener como hospederos a mamíferos, reptiles, aves y muchos otros vertebrados y algunos invertebrados (Krantz, 1978); éstos afectan la salud del hombre y de los animales de cuatro formas: 1) causando dermatitis y otros daños tisulares; 2) por la pérdida de sangre u otros fluidos tisulares; 3) por la transferencia de agentes patógenos, ya sea como vectores o como huéspedes intermediarios; 4) causan fuertes reacciones alérgicas en el hombre, mascotas y ganado. Comúnmente se piensa que los ácaros son parásitos

externos, pero algunas especies infestan el oído interno y medio, las vías respiratorias y pulmones, los conductos nasales y los tejidos linfáticos (Harwood & James, 1987).

Entre los vertebrados parasitados por ácaros se encuentran los murciélagos. El orden Chiroptera representa el segundo orden más amplio entre los mamíferos, así como el segundo con más alta diversidad de ectoparásitos; este orden contiene casi 900 especies reconocidas, y distribuidas por todo el mundo con excepción de las regiones más frías (los polos). En el caso particular de México, existen 134 especies (Arita, 1993), que representan aproximadamente el 16% del total de la fauna quiropterológica del planeta. Existe una gran cantidad de especies descritas de ácaros ectoparásitos asociados a murciélagos en un número mayor a las 1000 especies a nivel mundial, sin embargo, esta diversidad representa un fragmento de lo que en realidad existe (Morales-Malacara, 1996). Sobre los murciélagos podemos encontrar ácaros pertenecientes a 18 familias, entre las que más destacan por su diversidad se encuentran: Macronyssidae, Trombiculidae, Myobiidae, Chirodiscidae y Spinturnicidae.

Este trabajo está enfocado a los espinturnícidos. Los ácaros de la familia Spinturnicidae son morfológica-

mente derivados de la Superfamilia Dermanyssoidea. Rudnick (1960) propone la especificidad de varios géneros de Spinturnicidae sobre ciertas familias de murciélagos, y sugiere que es resultado de la coevolución del ácaro con la filogenia de su huésped. A través del tiempo las asociaciones espinturnícido-huésped han sido utilizadas por diversos autores para apoyar la filogenia de los murciélagos. La mayoría de sus estructuras están adaptadas al ectoparasitismo en murciélagos. Generalmente se localizan en el patagio (membrana alar) y uropatagio (membrana entre las patas; Radovsky, 1985).

En México, son pocos los trabajos que se han realizado sobre el conocimiento de la diversidad de ácaros parásitos de murciélagos ya que los registros que se tienen son escasos.

Por otra parte, la investigación biológica ha visto incrementadas extraordinariamente sus posibilidades con el empleo del microscopio electrónico de barrido y de transmisión. El microscopio electrónico de barrido es uno de los instrumentos más versátiles para la examinación y análisis de características microestructurales de objetos sólidos. Es prioritariamente usado para el estudio de superficies o estructuras superficiales de especímenes

gruesos y proporciona imágenes tridimensionales como resultado directo de la gran profundidad del campo, así como por el efecto del contraste obtenido por los electrones secundarios y retrodispersados. En el caso de los ácaros, el microscopio electrónico de barrido se ha utilizado para el estudio e interpretación de estructuras superficiales como texturas y características morfológicas tales como: sedas, poros de las sedas, ornamentaciones de la cutícula y placas corporales, etc., lo cual apoya el trabajo taxonómico; algunos de los estudios realizados en ácaros parasitiformes con esta técnica, se han llevado a cabo en garrapatas (*Metastigmata*) (Clifford, *et al*, 1978; Teel, 1985; Cruz & Estrada-Peña, 1992, 1995), y en el caso particular de los Spinturnicidae (*Mesostigmata*) se han concretado a describir la ultraestructura externa de algunas regiones del gnatosoma y de ornamentaciones de placas y cutícula, y características de quetotaxia del órgano tarsal, pero casi exclusivamente de spinturnícidos parásitos de murciélagos del viejo mundo (Deunff, 1982a y b).

Con el microscopio electrónico de transmisión se abren nuevos horizontes, pudiendo establecer un nexo entre la morfología y la bioquímica. Las nuevas estructuras, con sus componentes moleculares que se han descubierto con la ayuda del microscopio electrónico de

transmisión, abriendo nuevos campos de interpretación, tanto de la célula en sí como de la organización de los tejidos de plantas y animales, y han variado radicalmente muchas de nuestras ideas acerca del modo en que se han constituido las células y de cómo funcionan. La citología se ha visto revolucionada en tal manera, que su estudio profundo cae dentro del moderno campo de la biología molecular. El conocimiento de la ultraestructura celular y de la química estructural de sus complejos biológicos son dos pilares sobre los que se asienta actualmente la función celular. Los cambios realizados en estos pilares son los responsables de los fenómenos vitales, embriológicos y genéticos, que se dan cita en una maravillosa unidad, por ser distintas manifestaciones de una misma energía viviente (Bozzola & Russell, 1992; Gvinstone, 1981; González, 1968; Mercer & Birbeck, 1974; Wolfe, 1977).

El estudio ultraestructural de diversos organismos, a través de técnicas de microscopía electrónica de transmisión ha resultado ser de gran utilidad en el análisis de la morfología interna de una gran variedad de formas de vida, tanto unicelulares como pluricelulares; en el caso de los artrópodos y en particular de los ácaros, éste tipo de estudios ultraestructurales también ha apoyado el trabajo taxonómico, reconociéndose patrones morfodiagnósticos, asimismo, se ha generado información de su fisiología, ontogenia e incluso de su genética.

Tabla 1: Estudios ultraestructurales en la subclase Acari.

AUTOR	AÑO	ESTRUCTURA ANALIZADA	ESPECIE	ORDEN
Douglas	1943	Integumento, base capitular, pedipalpo, hipostoma, quelíceros, faringe, esófago, conductos y glándulas salivales (intestino anterior); estómago, ciegos alimenticios y tubo rectal (intestino medio); saco rectal, túbulos de Malpigio, canal anal y ano (S. Digestivo). Cerebro y nervios periféricos (S. nervioso). Corazón, aorta dorsal, cavidad periganglionica, cavidad periesofageal y sangre (S. Circulatorio). Testículos, vasos deferentes, glándulas accesorias complejas y conducto eyaculador (machos); ovario, oviductos, receptáculo seminal, vagina, glándulas genitales accesorias y órgano de Gene's (hembras) (S. Reprodutor). Troncos traqueales y espirales (S. Respiratorio). Músculos del capitulum. viscerales, músc. de las patas y del cuerpo (S. muscular). Ojos, poros y sedas, áreas porosas, órgano de Haller (Organos sensoriales).	<i>Dermacentor andersoni</i>	Metastigmata
Hughes	1950	Quelíceros, pedipalpos, glándulas salivales, faringe, esófago, estómago, ciegos, colon, post-colon, túbulos de Malpigio	<i>Tyroglyphus farinae</i>	Astigmata

Rhode & Oemick	1967	Quelíceros, enditos pedipalpaes, labro, glándulas pseudo-salivales, estómago, ciegos, colon, recto, atrio anal (S. Digestivo); bolsa copulatriz, receptáculo seminal, ovarios, oviductos, útero, vagina y abertura genital (hembras); vasos deferentes, saco espermático, ductos eyaculatorios y pene (machos) (S.Reproductivo).	<i>Caloglyphus mucophagus</i>	Astigmata
Kuo & Nesbitt	1970	Faringe, esófago, estómago con dos ciegos laterales, colon, recto, túbulos de Malpigio, glándulas salivales (S. Digestivo); Masa gangliónica: ganglio supraesofageal, ganglio subesofageal (S. Nervioso). Ductos deferentes, saco espermático, glándulas accesorias, ductos eyaculadores, abertura genital (machos), bolsa copulatriz, receptáculo seminal, ovarios, oviductos, vagina, vulva y glándulas accesorias (hembras) (S. Reproductivo); Músculos del gnatosoma y del cuerpo (dorsales, ventrolaterales, dorsoventrales, dorsolaterales); músc. del poro excretor, de los genitales, las coxas y segmentos de las patas (S. Muscular).	<i>Caloglyphus mycophagus</i>	Astigmata

Brody, McGrath & Wharton	1972	Cavidad prebucal (gnatosoma); faringe muscular y pared delgada del esófago (pared cuticular del intestino anterior); e intestino posterior con una porción gruesa y una delgada.	<i>Dermatophagoides farinae</i>	Astigmata
Coons	1978	Cavidad prebucal (gnatosoma); faringe muscular y pared delgada del esófago (pared cuticular del intestino anterior); dos ciegos y bulbos (intestino medio); e intestino posterior con una porción gruesa y una delgada.	<i>Macrocheles muscaedomesticae</i>	Mesostigmata
Mothes & Seitz	1981	Faringe, esófago, intestino medio, intestino posterior, ano.	<i>Tetranychus urticae</i>	Prostigmata
Baker & Krantz	1985	Faringe, esófago, ventrículo, ciegos pareados, túbulos de Malpigio y recto (S. Digestivo); ovario, oviductos, glándulas accesorias, receptáculo seminal, bolsa copulatriz, vasos deferentes, saco espermático, ductos eyaculatorios, pene (S. Reproductivo).	<i>Rhizoglyphus robini</i>	Astigmata

En cuanto a antecedentes, existen muy pocos estudios sobre ultraestructura interna de ácaros. Los pocos realizados se enfocan principalmente al sistema digestivo y en algunos casos al reproductivo; en la tabla I se resumen algunos trabajos sobre el tema.

Además el estudio ultraestructural de tejidos en

este grupo de artrópodos parásitos es muy escaso, por lo que es un campo de estudio prácticamente virgen, que por un lado nos ayudaría a comprender la composición anatomofisiológica de éstos animales de la cual se conoce muy poco, y por otro lado este tipo de estudios son utilizados como una herramienta más para el apoyo del trabajo sistemático.

Objetivos



1. Realizar un análisis de morfología comparada de algunos géneros de ácaros de la familia Spinturnicidae.
2. Estandarización de la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión para el estudio de la morfología interna de ácaros Spinturnicidae.
3. Llevar a cabo el análisis ultraestructural de las células cuticulares y digestivas del género *Periglischrus*.



Metodología



La metodología seguida para la elaboración de este trabajo se dividió en tres etapas: colecta de organismos, procesamiento del material y análisis de las imágenes obtenidas; además se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica para recopilar los antecedentes morfológicos de la familia.

COLECTA DE ORGANISMOS:

Se realizaron tres colectas de murciélagos en Río Salado, Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Para su captura se utilizaron redes ornitológicas de nylon de 4 X 6 m, las cuales se colocaron a la orilla del río (donde los murciélagos llegaban a tomar agua), y en la entrada de una oquedad. Los murciélagos se determinaron "in situ" y se les asignó un número consecutivo de catálogo. Posteriormente se espulgaron bajo un microscopio estereoscópico para obtener sus ectoparásitos; una vez revisados la mayoría fueron liberados, mientras que otros (1 ejemplar por especie) se sacrificaron para su traslado al laboratorio. De los ácaros obtenidos se seleccionaron

exclusivamente a los espinturnícidos, mientras que los parásitos pertenecientes a otras familias se colocaron en tubos viales con alcohol al 70% para su preservación (Guerrero & Morales-Malacara, 1996).

PROCESAMIENTO DEL MATERIAL:

De los espinturnícidos obtenidos algunos ejemplares fueron procesados para Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) y los otros se dejaron para su revisión taxonómica. Los ejemplares destinados a MET, se fijaron en una mezcla de dos soluciones: glutaraldehído al 12.5% y paraformaldehído al 4%, durante 24-48 hrs con el fin de proteger las estructuras celulares, preservar la morfología y la composición química de las células, y para conseguir una imagen más completa del tejido. Los ejemplares destinados a Taxonomía fueron fijados en alcohol etílico al 70%.

Microscopía Electrónica de Transmisión. Los espinturnícidos fijados se enjuagaron con solución amar-

tiguadora de fosfatos (tres veces por 5 min c/u). Posteriormente se realizó una post-fijación con tetraóxido de osmio (OsO_4) al 1% durante 24 hrs; este compuesto dispone de cuatro átomos de oxígeno muy reactivos, que se depositan más o menos selectivamente sobre los lípidos a los que confiere un gran contraste y una buena estabilidad. El objeto de someter al tejido a la acción sucesiva de dos compuestos químicos incompatibles y que están en soluciones separadas es la de proteger más constituyentes celulares y de distinto carácter químico. Algunos ejemplares no fueron sometidos a la segunda fijación con el fin de realizar contrastes preferenciales, para estructuras específicas.

Una vez transcurrido este tiempo, la muestra se sometió a deshidratación en alcohol etílico a diferentes concentraciones (30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 96%), durante 15 min cada una, y tres cambios con alcohol absoluto durante 7 min cada uno. La deshidratación se realizó por dos motivos: en primer lugar porque es necesario extraer completamente el agua de los tejidos para que pueda penetrar el medio de inclusión el cual es insoluble en agua; y en segundo lugar, para que los cortes obtenidos pudieran ser introducidos en el "alto vacío" del microscopio electrónico.

Antes de proceder a la infiltración del medio de inclusión fue preciso eliminar en su totalidad el alcohol absoluto que contuviera el tejido después de la deshidratación, por lo que se reemplazó con un líquido o solvente intermediario, empleándose el óxido de propileno durante 10 min. en tres repeticiones.

Después de este paso se llevó a cabo la preinclusión, que consistió en introducir la muestra en una mezcla de óxido de propileno y resina Epon en proporciones: 3:1 por 24 hrs, 2:1 por 48 hrs, y transcurrido este tiempo se dejó evaporar el óxido de propileno durante 4 hrs. Posteriormente el tejido fué embebido en resina Epon (polímero de tipo Epoxi que tiene puentes transversales y por consiguiente es insoluble en todos los solventes) que se dejó polimerizar durante 24 hrs a 60°C.

Ya que se tuvieron los bloques con el material incluido se procedió a quitar el inclusor sobrante con la ayuda de una hoja de afeitar y de un microscopio binocular de suficiente aumento como para obtener una pirámide truncada cuadrangular. Como parte del equipo se utilizó un Ultramicrotomo Sorvall MT1 provisto de cuchillas de vidrio, con solapas al lado para que se formara un pequeño pocito, que fue llenado con agua. Posteriormente se procedió a ajustarlos en el ultramicrotomo.

Generalmente el bloque es el que se desliza, y al caer sobre el filo de la cuchilla se produce el corte, éste es recogido inmediatamente por el agua del pocito donde queda flotando; el siguiente corte se pega al anterior formando una cinta o tira de cortes. Es necesario mencionar que se realizaron dos tipos de cortes: semifinos y ultrafinos. Los cortes semifinos (aprox. $0.5\mu\text{m}$), se montaron en portaobjetos, se tiñeron con azul de toluidina y se observaron en un microscopio óptico de campo claro, y nos sirvieron para observar la histología del ácaro y la calidad de preservación y procesamiento; mientras que los cortes ultrafinos (entre 60 y 90 nm), fueron recogidos con rejillas de cobre (láminas perforadas de malla finísima) con membranas de soporte, para posteriormente observarlos en el microscopio electrónico de transmisión y analizar la ultraestructura de la muestra.

La membrana de soporte es una lámina muy fina de una sustancia llamada formvar (nombre comercial de un compuesto plástico de polivinil formol). Se prepara con una solución al 0.2% en dioxano y en ella se introduce un "portaobjetos" que se deja secar inmediatamente en posición vertical procurando que se escurra la solución sobrante. Cuando el portaobjetos está completamente seco se le aplica una navaja a fin de cortar la película formada en todo su contorno. Luego se introduce

con cuidado el portaobjetos en un crisol lleno de agua destilada, haciendo que forme un ángulo de pocos grados con la superficie del agua, procurando que la película se despegue y quede flotando. Enseguida se disponen con todo cuidado algunas rejillas sobre esta membrana y se recoge todo el conjunto (membrana y rejillas) con un trozo de parafilm o papel filtro que se introduce ligeramente en el agua por un extremo de la película de formar (Bozzola & Russell, 1992).

Una vez que se realizaron varios cortes semifinos y se lograron observar estructuras del sistema digestivo o cuticulares, se procedió a reducir el tamaño de la pirámide truncada para poder realizar los cortes ultrafinos por lo que se tuvo que seleccionar la zona de mejor preservación y posteriormente realizar los cortes ultrafinos.

Al tener las rejillas con los cortes se procedió al contraste del tejido, utilizando acetato de uranilo alcohólico (20 min, cubierto con una cámara oscura, para evitar precipitación por la luz) y citrato de plomo (10 min), sales de metales pesados de alto peso atómico. Una vez realizado el contraste, las muestras fueron observadas con un Microscopio Electrónico de Transmisión modelo EM10 C/CR Zeiss West Germany. Posteriormente se

tomaron fotografías de las muestras con mejor resolución, tanto de microscopía óptica como de transmisión, para así poder describir y analizar los tejidos observados (Bozzola & Russell, 1992; Gvinstone, 1981; González, 1968; Mercer & Birbeck, 1974; Wolfe, 1977).

Como se mencionó al principio de la descripción de la técnica para MET, algunos ejemplares no se sometieron a la postfijación con OsO_4 , para poder realizar contraste preferencial para ribonucleoproteínas con EDTA, siendo la única etapa del procesamiento omitida.

Es necesario mencionar que el trabajo de laboratorio se inició utilizando material ya procesado, es decir, ácaros embebidos en resina perteneciente a la Colección del Laboratorio de Acarología de la Facultad de Ciencias de la U.N.A.M., procesados con diferente técnica, las cuales se mencionan en el apartado de "Estandarización de la Técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión para Ácaros Spinturnicidae".

Taxonomía. Los espiurnicidos preservados en alcohol, primero fueron aclarados con Lactofenol, posteriormente se enjuagaron con Hoyer diluido y finalmente se montaron en portaobjetos con líquido de Hoyer. Estas preparaciones fueron etiquetadas con sus datos respectivos, para posteriormente ser determinadas con la ayuda de claves de identificación.

Los resultados y su discusión se dan en conjunto, iniciando con la descripción taxonómica de la familia Spinturnicidae y los géneros americanos (*Spinturnix*, *Cameronieta* y *Periglischrus*) de los cuales se utilizó material para este trabajo; posteriormente se da el análisis morfológico externo, donde se incluyen micrografías de microscopía electrónica de barrido, así como microfotografías de preparaciones permanentes montadas con líquido de hoyer. Las micrografías de MEB fueron proporcionadas por Corona-Tinoco (tomadas para su tesis de maestría), y las microfotografías de preparaciones permanentes se tomaron de Morales-Malacara & López-W (1998). A continuación se describe la estandarización de la técnica de MET con la que se procesó el material. Después se da la información de la morfología interna, la cual se ilustrará con microfotografías y micrografías de material procesado para MET, y se finalizará con el análisis ultraestructural de las células epidérmicas de la cutícula, las células digestivas del ventrículo y la caracterización de los gránulos nucleares de *Periglischrus*.

Debido a la escasa información sobre Spinturnicidae en cuanto a morfología interna, se utilizaron referencias de algunas familias de Mesostigmata o grupos cercanos a este Orden, como por ejemplo Metastigmata y en otras ocasiones se vierte información morfológica ultraestructural comparativa de algunos acariformes.

Resultados y discusión



ANÁLISIS MORFOLÓGICO COMPARATIVO DE LA FAMILIA SPINTURNICIDAE

A. GENERALIDADES DE LA FAMILIA

A.1 CLASIFICACIÓN:

Rudnick (1960) recoge en su trabajo de revisión la evolución taxonómica de esta familia desde las primeras descripciones correspondientes a la segunda mitad del siglo XVIII, en las que estos ácaros son considerados insectos por diversos autores (Frisch, Baker, Linneo). Es a finales del siglo XVIII cuando, según Rudnick, estos parásitos son identificados como ácaros por Scopoli y Linneo, siendo a principios del siglo XIX cuando von Heyden clasifica al género *Spinturnix* dentro de la familia Acarides. No obstante, señala este autor, durante todo el siglo XIX estos ácaros son incluidos, fundamentalmente, en el género *Pteroptus* establecido por Dufor, hasta que en 1902 Oudemans los ubica dentro de la familia Parasitidae y subfamilia Spinturnicidae, basada en el género *Spinturnix* von Heyden (1826) y la cual es eleva-

da al grado de familia Spinturnicidae en 1916. A principios del siglo XX, el nombre genérico de *Spinturnix*, dentro de la familia Spinturnicidae está básicamente aceptado. Evans (1992) presenta la clasificación de la familia de la siguiente forma:

Clase Acari

Subclase Parasiformes

Orden Mesostigmata

Superfamilia Dermanyssoidea

Familia Spinturnicidae Oudemans, 1902

Actualmente la familia Spinturnicidae se compone de nueve géneros: *Ancystropus*, Kolenati, 1856, *Cameronieta*, Machado-Allison, 1965, *Eyndhovenia*, Rudnick, 1960, *Meristapis*, Kolenati, 1857, *Paraperiglischrus*, Rudnick, 1960, *Paraspinturnix*, Rudnick, 1960, *Periglischrus*, Kolenati, 1857, *Spinturnix*, von Heyden, 1826, y *Emballonuria*, Uchikawa, Zhang, Connor & Klompen, 1994 (Deunff, 1982a; Radovsky, 1985; Uchikawa et al., 1994).

A.2 DIAGNOSIS:

FAMILIA Spinturnicidae. Acaros de tamaño medio de aprox. 0.4 a 1.7 mm de longitud. Hembras planas a globosas, dependiendo del grado de gordura o gravidez. Una o dos placas dorsales, en algunos casos poco esclerosadas. Un par de estigmas dorsales entre las patas III y IV. Peritremas completamente dorsales o extendidos ventralmente por una corta distancia entre la coxa II y III. El tritosterno varía de subrectangular grande a una placa subcircular pequeña, reducida o ausente. Placa epiginal reducida; un par de sedas genitales. Carece de placa ventral. Placa anal pequeña; abertura subterminal o terminal sobre una pequeña proyección. Opistosoma de la hembra expansible. Patas cortas, fuertes; carúnculos y uñas largas; carúnculos I de hembras algo reducidas. Vivíparos. Parásitos exclusivos de Chiroptera (Rudnick, 1960).

VISTA DORSAL: Una o dos placas dorsales cercanas, sin placas marginales, cubriendo gran parte del podosoma; superficie granular con varios pares de poros, en algún momento presentan sedas diminutas. Un par de estigmas entre la coxa III y IV. Peritremas de cortos a largos, completamente dorsales o extendidos ventralmente por una corta distancia entre la coxa II y III. Integumento

podosomal con varios pares de sedas de cortas a largas rodeando la placa dorsal. Integumento opistosomal con pocas o muchas sedas, generalmente son más numerosas en hembras.

VISTA VENTRAL: Tritosterno variable: placa circular pequeña o placa subrectangular grande, o ausente. Placa esternal grande, superficie lisa o reticulada; generalmente con dos pares de poros, tres pares de sedas esternales en hembras y de 3 a 5 pares de sedas esternogenitales en los machos. Abertura genital de machos en el margen anterior de la placa esternal. Placa epiginal pequeña en hembras; un par de sedas genitales. Un par de placas metasternales reducidas presentando sedas. Placas endopodales reducidas o ausentes. Placa ventral ausente. Placa anal pequeña subterminal o terminal con abertura anal sobre una pequeña proyección; superficie lisa o reticulada; un par de sedas adanales; seda post-anal presente o ausente. Integumento opistosomal expansible con pocas o muchas sedas.

PATAS. Cortas y fuertes con varias filas de sedas de cortas a muy largas. Las patas I algunas veces se ensanchan. Coxas grandes, inmóviles. Uñas y empodios largos, pretarso corto, empodios I en hembras algunas veces reducido.

GNATOSOMA: Tectum corto, cónico o redondo.
Un par de sedas gnatosomales; tres pares de sedas hipostomales generalmente presentes. Quelíceros pareados con dedos dentados fijos y móviles. Quelíceros en machos provistos de espermadáctilos (Rudnick, 1960).

A continuación se incluyen las diagnósis genéricas

de los espinturnícidos americanos:

GÉNERO *Periglischrus* Kolenati, 1857. Dos placas dorsales. Peritrema muy largo, se extiende desde el nivel de la coxa I a la coxa IV, siendo completamente dorsal. Carece de Tritosterno. El abdomen de la hembra se expande lateralmente en forma de abanico.

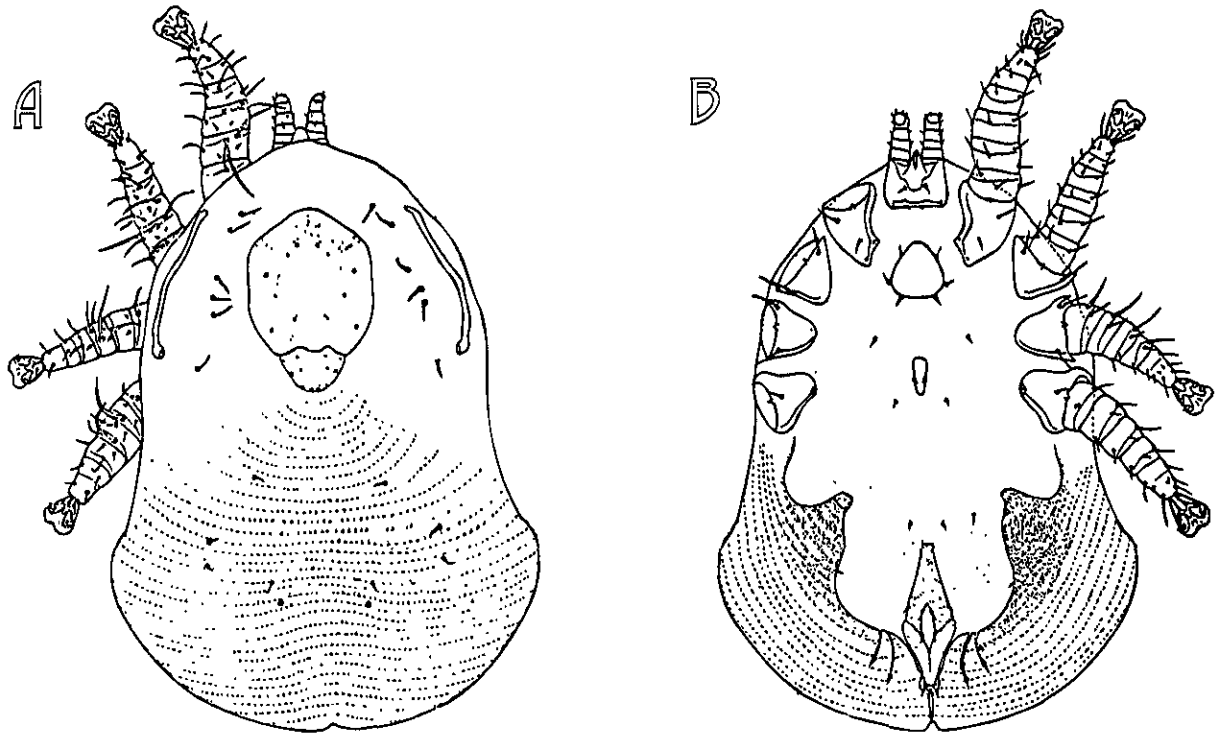


Fig. 4. *Periglischrus delfinadoae* (hembra). A) vista dorsal, b) vista ventral.

Subdivisiones del Idiosoma.

VISTA DORSAL. Dos placas dorsales ocupan gran parte del podosoma, que por lo general están unidas por dos puentes esclerosados. Cinco pares de sedas rodean la placa dorsal anterior al estigma, o proteronotales (Pn1-Pn5). Un par de largas sedas, ligeramente posteriores al estigma o postestigmas (Pst). Varios pares de sedas de cortas a largas sobre el opistosoma.

VISTA VENTRAL. Carece de tritosterno. La placa esternal de la hembra con tres pares de sedas marginales, que pueden ser un grupo fuera de la placa. La placa esternal o genital del macho con cinco pares de sedas. Placa epiginial reducida a una placa angosta o estrecha con un par de pequeñas sedas genitales cercanas al margen posterior de la placa. Opistosoma de la hembra con áreas de gruesa escleración; varias pequeñas sedas opistosomales; opistosoma de la hembra de muy grande y expandido a relativamente plano, ancho, con la apariencia de un abanico. Placa anal pequeña, terminal y estrecha en hembras, con un par de sedas adanales y una seda dorsal post-anal. En machos placa anal larga, ocupando una gran área entre la coxa IV, con varios pares de sedas incluyendo un par de sedas adanales y una pequeñísima seda post-anal dorsoterminal.

PATAS. Empodios largos y uñas en todas

las patas. Sedas dorsales y laterales de cortas a largas; sedas ventrales cortas (Rudnick, 1960) (Fig. 1).

GÉNERO *Cameronieta* Machado-Allison, 1965. Placa dorsal dividida; parte anterior y posterior completamente separadas o cercanas entre sí. Placa con cinco pares de sedas proteronotales (Pn1-Pn5) laterales o dorsales; un par de sedas posteroestigmas (Pst) adyacente a cada estigma. Peritremas largos, completamente dorsales, extendidos desde la intercoxa IV y III hasta el nivel de la coxa I. Camerostoma presente anteriormente sobre el gnatosoma. Opistosoma dorsal con pocas o muchas sedas pequeñas. Tritosterno ausente. Placa esternal más ancha que larga; fusionada o en contacto con la coxa I, con tres pares de sedas usualmente en la superficie media de la placa no en los bordes. Integumento ventral anterolateral con pequeñas espinas. Un par de sedas metasternales posteriores a la placa esternal de la hembra. Placa esternogenital de machos con cinco pares de sedas y dos pares de poros. Placa genital pequeña y elongada de hembras; con un par de sedas de pequeñas a largas sobre o cerca del margen posterior. Integumento ventral, entre placa genital y porción caudal del idiosoma, con varias sedas de pequeñas a moderadamente largas. Placa anal dorsal y subterminal. Patas cortas y robustas,

con sedas ventrales medianas en tamaño y algo pectinadas (Herrin & Tipton, 1975).

GÉNERO *Spinturnix* von Heyden, 1826. Un sólo escudo dorsal. Peritremas cortos, dorsales sobre la coxa III, anterior y doblados hacia el vientre, generalmente llegan a la superficie ventral entre la coxa II y III. Tritosterno pequeño a moderadamente largo, reducido o ausente. Patas I y uñas I de hembras rara vez ensanchadas; carúnculos largos. Seda post-anal presente.

VISTA DORSAL. Una sola placa dorsal grande con varios pares de poros y foveas en la superficie. De tres a cinco (o más) pares de sedas integumentales proteronotales (Pn1-Pn5), generalmente cinco. Peritremas cortos, situados entre la coxa III, extremos anteriores extendidos ventralmente, generalmente llegan a la superficie ventral entre la coxa II y III. Por lo general un par de sedas posteroestigmatales cercanas al estigma. Pocas o muchas sedas opistosomales

VISTA VENTRAL. Tritosterno generalmente pequeño, algunas veces moderadamente largo o totalmente reducido. Placa esternal con tres pares de sedas y dos pares de poros en hembras; tres o cinco pares de sedas y dos pares de poros en la placa esternogenital en

machos. Placa endopodal y metasternal generalmente representadas por pequeños restos. Un par de sedas metasternales cortas generalmente presentes. Placa epiginial pequeña, por lo general delicadamente esclerosada; un par de pequeñas sedas genitales sobre o cerca del ápice posterior. De pocas a muchas sedas cortas sobre el integumento entre la placa epiginial y anal. Placa anal pequeña, ventroterminal; un par de sedas adanales; seda postanal.

PATAS. Patas robustas, largas en comparación al idiosoma. Sedas ventrales mucho más cortas, excepto las sedas lateroventrales que pueden ser mucho más largas. Sedas dorsales de largas a muy largas. Uñas y carúnculos grandes y fuertes (Rudnick, 1960).

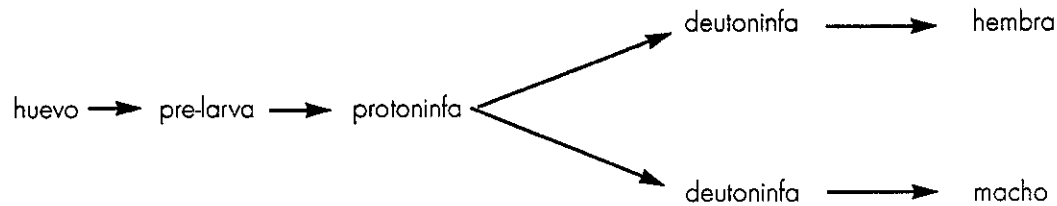
A.3 CICLO DE VIDA:

El desarrollo del ciclo de vida de los Spinturnicidae ha sido sujeto a considerables discusiones en la literatura y las opiniones de Oudemans, 1902, 1904 y 1910, Vitzthum, 1932 y Baer, 1952, entre otros, fue revisada en Rudnick (1960). De acuerdo a estos autores el ciclo de vida comprende cinco estadios distintos: huevo, larva, protoninfa, deutoninfa (macho o hembra) y adulto. Rudnick considera a la "ninfa accesoria"

de Oudemans como la deutoninfa hembra. Evans (1968) comprobó en *Spinturnix myoti* la existencia de dimorfismo para el estadio deutoninfal pero después de numerosas disecciones de hembras preñadas no pudo encontrar una verdadera larva en el ciclo de vida. El único estadio hexápodo ocurre dentro del útero teniendo las caracterís-

ticas de un embrión pre-larval. Así, las patas, quelíceros y pedipalpos se presentan desde estadios tempranos del desarrollo y están ubicados en la superficie ventral del idiosoma. Aunque se muestra la segmentación incipiente de los apéndices, y el material del idiosoma, que está desprovisto de sedas. Las patas carecen de ambulacro.

El desarrollo parece proceder directamente de los huevos a la protoninfa por la ruta de la pre-larva; no existe el estado larval comparable al que ocurre normalmente en el ciclo de desarrollo de Mesostigmata. El ciclo de vida puede ser resumido así:



En el material colectado se encontraron dos hembras peñadas, observándose ácaros en el estadio de huevos, los cuales se observan en la Fig. 2.



Fig. 2. Microfotografía (contraste de fases) en corte transversal de una hembra de *Periglischrus paracaligus* mostrando un huevo ($\times 10$).

B. MORFOLOGÍA EXTERNA

B.1 GNATOSOMA:

El gnatosoma en los ácaros está representado por la región anterior del cuerpo que porta el orificio bucal y las piezas adyacentes: quelíceros, canales salivales, pedipalpos sensoriales (Deunff, 1986), y otras proyecciones (Baker & Wharton, 1952) (Fig. 3 y 4).

Deunff (1986) realizó estudios de cuatro géneros de la familia Spinturnicidae: *Eyndhovenia*, *Paraperiglischrus*, *Periglischrus* y *Spinturnix*, describiendo algunas características morfológicas.

El gnatosoma en los Spinturnicidae es relativamente pequeño y se encuentra entre las coxas del primer par de patas. Sus estructuras muestran considerable especialización para la hematofagia (Evans, 1968). Dorsalmente el gnatosoma es cubierto por un tectum, (Fig. 4E) es una proyección anterior, la cual consta de una placa quitinosa delgada que es dentada y libre al final. Entre y bajo los quelíceros se encuentra la boca, que es ventral al labro y dorsal al hipostoma; es de forma variada según la especie: rectangular en *Spinturnix psi*, cónica en *S. myoti* y *S. mystacinus*. (Deunff, 1986). Esias



Fig. 3. Micrografía de barrido, de la superficie del gnatosoma de *Cameronieta* sp, mostrando los quelíceros y los pedipalpos ($\times 1,000$).

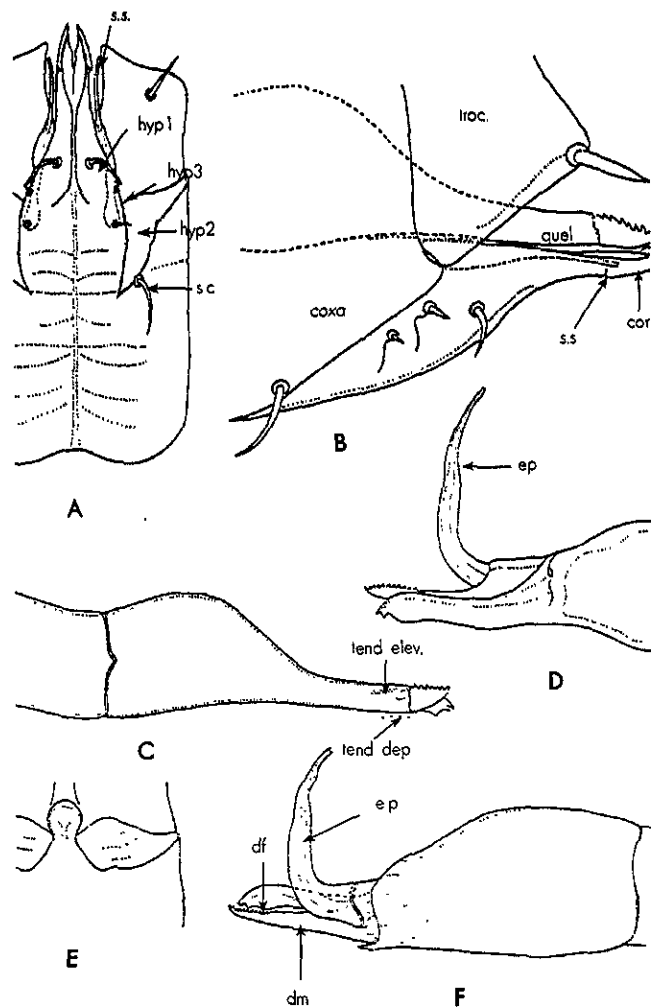


Fig. 4. *Spinturnix myoti* Kol. A) Vista ventral del gnatosoma de una hembra; B) vista lateral del gnatosoma; C) quelíceros de la hembra; D) quelíceros del macho, vista externa; E) tectum de la hembra; F) quelíceros del macho, vista interna (c.s., seda capitular; quel., quelíceros; corn., cornículos; tend. dep., tendon depresor; d.f., dedo fijo; d.m., dedo móvil; hyp 1-3, sedas hipostomales; tend. elev., tendon elevador; s.s., estilo salival; ep., espermadáctilo; troc., trocanter) (Tomado de Deunff, 1986).

estructuras pueden estar muy desarrolladas, pero rara vez son vistas debido a que los pedipalpos y quelíceros las pueden ocultar. Lateralmente la abertura oral puede estar rodeada por los parolabros, que ayuda al cierre de la boca y probablemente a dirigir el alimento dentro la abertura. Los pedipalpos forman la superficie lateroventral del gnatosoma y el hipostoma forma la pared ventromedial del gnatosoma (Baker & Wharton, 1952).

Los quelíceros son dos apéndices protáctiles que generalmente terminan en una que la compuesta de un dedo dorsal fijo y un dedo ventral móvil. La quela esta formada de dos segmentos (tibia y tarso), cada uno porta una pinza en el extremo anterior, su papel esencial es la nutrición. Cada pinza se forma de dos láminas quitinosas delgadas (Evans, 1968).

El dedo móvil (Fig. 4F) de machos de muchos Mesostigmata es modificado como un órgano accesorio copulatorio (espermadáctilo) (Baker & Wharton, 1952). Los espermadáctilos presentan nacimientos en la base de las piezas más exteriores como producto de estos, contrariamente a la estructura descrita por Evans (1968). Otros estudios indican que por cada quelíceros se puede encontrar un espermadáctilo (Fig. 4D), los cuales están

constituídos de una expansión quitinosa externa, delgada, plegada ventralmente en forma de cuerno. La región terminal es triangular y amplia en forma de "trompeta" (Deunff, 1986).

El papel de los espermadáctilos es probablemente el de recoger los espermatozoides del orificio genital situado en un extremo del escudo esternogenital (Deunff, 1982b), para después ser transferidos al orificio copulatorio de la hembra.

Desde el punto de vista taxonómico se han constatado las diferencias genéricas en cuanto al tamaño y la forma de los espermadáctilos: en el género *Spinturnix* es largo y recurvado pero en algunas especies puede ser también corto como se observó en ejemplares de *Spinturnix* sp encontrados sobre *Corynorhinus mexicanus* (Fig. 5; Morales-Malacara & López, W., 1998); en el género *Eyndhovenia* es alargado y sigmoide, en *Paraperiglischrus* es corto y abultado con una curvatura simple hacia atrás (Deunff, 1986); en el caso de *Periglischrus* por lo general es muy alargado y recurvado (Furman, 1966).

Se pueden encontrar órganos sensoriales y sedas en los quelíceros de muchos ácaros. En la base del



Fig. 5. Microfotografía del Espermadáctilo de *Spinturnix* sp, se observa su curvatura y el tamaño corto.

dedo móvil de algunos mesostigmados hay extensiones producidas por la membrana sinartrodial llamadas pulvillus, las cuales son semejantes a un racimo de sedas en algunos casos o una coronilla (Baker & Warthon, 1952).

Los pedipalpos son los apéndices secundarios de los ácaros y son las estructuras más externas del gnatosoma. En los Spinturnicidae se distinguen cinco segmentos libres: trocánter, fémur, genua, tibia y tarso. Al extremo, los pedipalpos portan una estructura sensorial compleja llamada órgano tarsal. También se distingue un bulbo hueco con un orificio obturado por una placa móvil en forma de espátula. Las sedas son de diferentes tipos desde las sensilas muy cortas, hasta sedas finas y largas situadas al extremo de cada pedipalpo. El tamaño, arreglo y forma de las sedas varía según el género. La forma de la placa móvil obturada en el orificio del pedipalpo varía en cada género: en *Paraperiglischrus* es una simple lengüeta de anchura constante; en *Spinturnix* el aspecto es foliáceo en las zonas de inserción, reducidas a un pedúnculo. Cada espátula está siempre situada sobre la cara interna de los pedipalpos (Deunff, 1986).

Encima y atrás del bulbo se distingue una excrecencia que sostiene dos grandes sedas que quizás tienen una función táctil.

La estructura sensorial del pedipalpo es compleja, su papel es sin duda múltiple, participa esencialmente en la búsqueda de los vasos sanguíneos de las membranas alares de los quirópteros huéspedes (tigmotactismo) (Deunff, 1986).

El hipostoma tiene forma de un canal constituido por la fusión de una placa triangular central, con dos placas laterales que poseen dos canales secundarios; uno de ellos sirve de guía para los conductos salivales y el otro de mayor tamaño que el anterior recibe los quelíceros cuando éstos se retraen (Deunff, 1986). Este hipostoma, como señala Evans (1968) en su estudio sobre *Spinturnix myoti*, se origina a partir de la base capitular de la cual está separado por suturas incompletas. El hipostoma está cerrado en su parte superoposterior por una pequeña placa quitinosa triangular denominada labro-epifaringe, formándose así un canal que permite la succión de la sangre; además se distingue una serie de surcos transversales (6 a 8). Dentro del género *Paraperiglischrus* el hipostoma es liso con una sola depresión longitudinal de cada lado; en el género *Periglischrus* no existe ornamentación alguna a ese nivel.

Las glándulas salivarias son los elementos más externos de las piezas peribucales, situadas a cada lado

de los quelíceros. Cada una de ellas está constituida de una placa quitinosa formando una despalmadura que continúa en el borde superior del hipostoma. El extremo anterior de estos canales tienen forma de un tubo de sección circular. En posición funcional estos canales pueden sostener la placa en los canales laterales del hipostoma. Las secreciones salivales son directamente mezcladas con la sangre que será ingerida.

La forma de tomar el alimento aún no se conoce en los Spinturnicidae, pero se cree que las glándulas salivales pueden liberar ya sea sustancias anticoagulantes, enzimas proteolíticas o las dos (Deunff, 1986).

Los apéndices que rodean el orificio bucal forman una estructura muy compacta, especializada en la detección y toma del alimento (Evans, 1968). La reunión de la mayor parte de las piezas (salvo los pedipalpos) permiten constituir un micro entorno, directamente relacionado con la faringe, destinado a la absorción de sangre. La movilidad de las piezas peribucales no es necesaria para la fractura de la piel y de los vasos sanguíneos. La estructura del gnatosoma es por consiguiente perfectamente adaptada al régimen alimenticio de los Spinturnicidae y su parasitismo.

B.2 ESCUDO DORSAL:

El escudo dorsal es la estructura quitinosa que recubre gran parte del idiosoma del macho y las ninfas, en la hembra sólo cubre el prosoma dejando el opistosoma (que

es dilatado) al descubierto. La placa dorsal protege eficazmente el cuerpo de los ácaros Spinturnicidae, pero su principal función es probablemente mantener la rigidez del cuerpo (Fig. 6), además es una zona de inserción de músculos a nivel de las fóveas (depresiones cuti-culares de los escudos).



Fig. 6. Escudo dorsal: A) Microfotografía de *Spinturnix* sp; mostrando las fóveas (flechas); B) Micrografía de barrido de *Cameronieta*, mostrando la división de la placa ($\times 500$).

Las fóveas son diferentes según el género, así encontramos que en *S. myoti* son relativamente pequeñas y generalmente ovaladas. En *Eyndhovenia euryalis*, *Paraperiglischrus rhinolophinus* y *Periglischrus iheringi* son largas y profundas (Deunff, 1982a).

Deunff (1982a) observó orificios o poros situados por pares en las porciones anterior y posterior del escudo. El papel de estos orificios es la osmoregulación o la secreción de feromonas y probablemente son importantes en la taxonomía ya que la presencia de estos poros es constante.

B.3 ESTIGMAS Y PERITREMAS:

Los estigmas están localizados a uno y otro lado del idiosoma, Ventro o dorsolateralmente entre el tercer espacio intercoxal, es decir, entre la coxa III y IV. Estos estigmas representan la abertura hacia el atrio traqueal por donde penetra el aire hacia las tráqueas y traqueolas, lo que constituye el aparato respiratorio (Evans, 1968).

Como una derivación de los estigmas se encuentran los peritremas (Fig. 7), en los Spintunicidae son muy desarrollados y poseen papilas internas; sus extremos son abultados y redondeados; participan en la captación de

aire y son también sensitivos, quizá olfativos, según la humedad ambiental, es decir, son receptores que permiten detectar la tasa de humedad ambiental, y cuando ésta es insuficiente producen el cierre perfecto de los estigmas, controlando así la evaporación traqueal del organismo (Deunff, 1982a), y están situados dorsolateral-

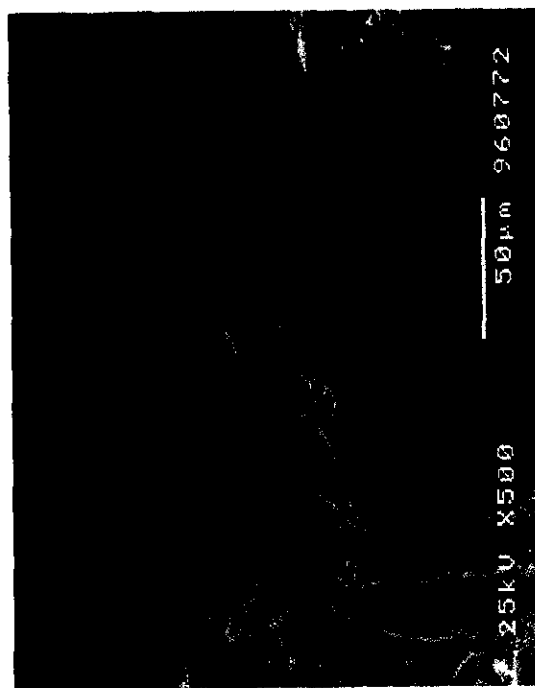


Fig. 7. Micrografía de barrido del estigma y peritrema de *Cameronieta* ($\times 7500$).

mente ocupando gran parte de la longitud dorsal, entre las coxas III, II y I (según el género de que se trate) (Evans, 1968). Ciertas especies (*Spinturnix psi*, *S. emarginatus*) presentan un orificio en el extremo anterior de los peritremas (Deunff, 1982a).

En *Periglischrus iheringi* los peritremas son más largos y las estructuras internas poco visibles. En el género *Paraperiglischrus* los peritremas son cortos, ovals con una hendidura central estrecha. Estos géneros relativamente poco quitinosos son probablemente más sensibles a la desecación.

B.4 CARA VENTRAL:

ESCUDO ESTERNAL. En los machos el escudo esternogenital es poligonal, presenta el orificio genital, que está formado por una placa articulada anteriormente. El relieve del escudo es variable: microperforado en *Eyndhovenia euryalis*, o presenta ornamentaciones esclerificadas como por ejemplo en *Spinturnix myoti*. Las sedas se encuentran sobre el escudo o en el borde del escudo, según las especies (Fig. 8).

En las hembras la placa esternal es piriforme, rectangular o poligonal y con diversas ornamentaciones

dependiendo de los géneros y las especies, liso en *Paraperiglischrus rhinolophinus* y con las ornamentaciones esclerificadas en *Spinturnix myoti*.

ESCUDO GENITAL. Las hembras presentan atrás del escudo esternal una segunda placa que cubre el orificio genital. En *Periglischrus iheringi* es alargado, estrecho, de aspecto foliáceo. Bajo ésta placa se halla un canal ensanchado anteriormente y limitado posteriormente por un borde quitinoso simulando el orificio genital.

En el género *Spinturnix* la placa genital es alargada anteriormente luego se retrae o estrecha rápidamente hacia atrás. Esta placa es en forma de T en *S. myoti*, y más largo anteriormente en *S. mystacinus* y *S. emarginatus*. En *Paraperiglischrus rhinolophinus* es casi triangular y liso (Deunff, 1982a). En el caso del macho presenta placa esternogenital la cual puede presentar de 3 a 5 pares de sedas esternogenitales según el género de que se trate; asimismo esta placa puede no presentar alguna ornamentación, o tener líneas transversales como las observadas en *Cameronieta*, en material del laboratorio de Acarología (Fig. 8b), hasta ornamentaciones tan complejas como las observadas por primera ocasión en *Spinturnix sp.*, parásita de *Corynorhinus mexicanus*, que semeja glifos "mayas" con patrón irregular (Fig. 8a).

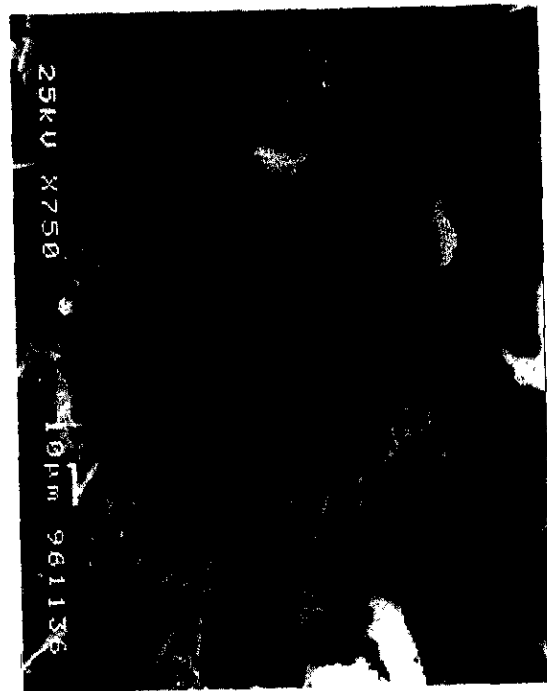
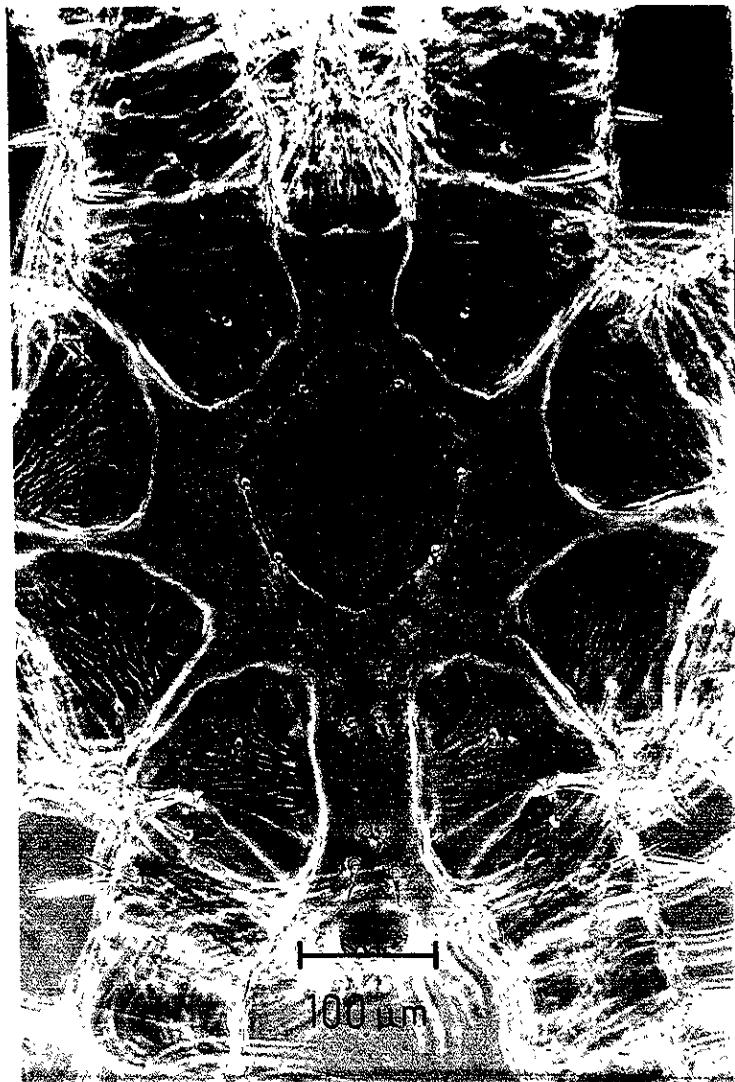


Fig. 8 Micrografía de barrido de la placa esternal
a) Spinturnix sp., mostrando la ornamentación
en forma de glifos; b) Cameronieta, mostrando
las líneas transversales; c) Microfotografía
de la placa anal de Spinturnix sp.



ORIFICIOS DE LAS GLÁNDULAS COXALES. El sistema excretor en los ácaros es muy complejo y mal conocido. En la base de la coxa I se encontró la presencia de orificios, los cuales probablemente representan la desembocadura de las glándulas coxales cuya función sea la osmorregulación del organismo, como por ejemplo en los Argasidae (Metastigmata) (Deunff, 1982a).

PLACAS ANALES. El orificio anal porta anteroventralmente dos sedas a veces situadas sobre una placa (*Spinturnix myoti*, *Periglischrus iheringi*); rodeado de dos láminas quitinosas que están fusionadas en *P. iheringi* (Deunff, 1982a) (Fig. 8c).

AMBULACROS. En *Spinturnix myoti* se han observado dorsal y ventralmente. Dorsalmente se distingue una lámina central y dos láminas laterales recubriendo las uñas. Ventralmente se observa una lámina quitinosa cubriendo parcialmente una formación turgente que le permite al ácaro un desplazamiento relativamente rápido sobre el patagio (Deunff, 1982a).

B.5 ÓRGANO TARSAL:

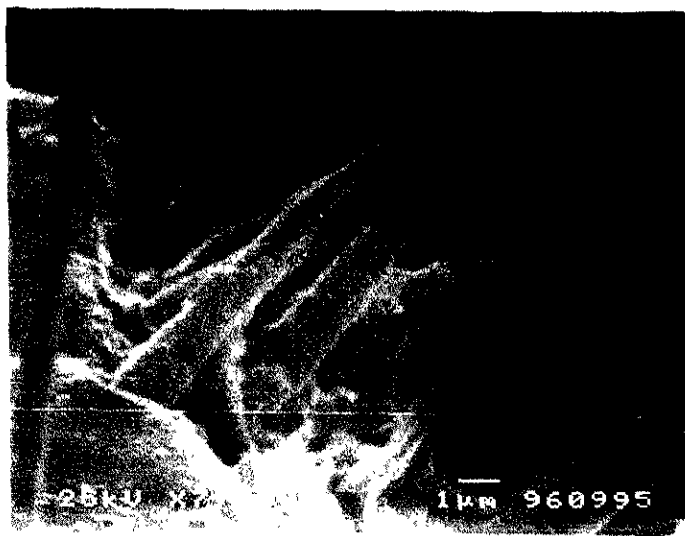
En los Spinturnicidae las patas I están orientadas anteriormente y su función es más sensorial que locomo-

tora; sus movimientos laterales evocan las antenas de los insectos. Existen dos tipos de órgano tarsal: tipo simple, por ejemplo en *Paraperiglischrus* (sedas reducidas y sin cúpula central) y *Periglischrus* (boceto de cápsula central conteniendo dos microsedas); y tipo complejo, como en el caso de *Eyndhovenia* y *Spinturnix* que presentan una cúpula central, conteniendo tres microsedas (Deunff, 1986; Fig. 9b).

El complejo sensorial tarsal está situado en una excrescencia de la región laterodorsal del tarso I (Fig. 9a). Las sedas por lo general en número de nueve son polimorfas y dispuestas en dos series.

Los símbolos utilizados representan únicamente la posición anatómica de las sedas. Actualmente sólo existen algunos estudios de la quetotaxia de la pata I de los Spinturnicidae (Evans, 1968; Deunff, 1982b), donde utilizan las siguientes abreviaciones: d=distal, p=proximal, M=mediana, E=externa, I=interna, m=microseda.

En la serie distal: dE, dM y dI están alineadas. En la serie proximal pE, pM y pI también están alineadas (*Eyndhovenia*), son triangulares (*Spinturnix*). Las microsedas están siempre situadas en el grupo proximal y son nombradas m1, m2, m3.



a)

b)

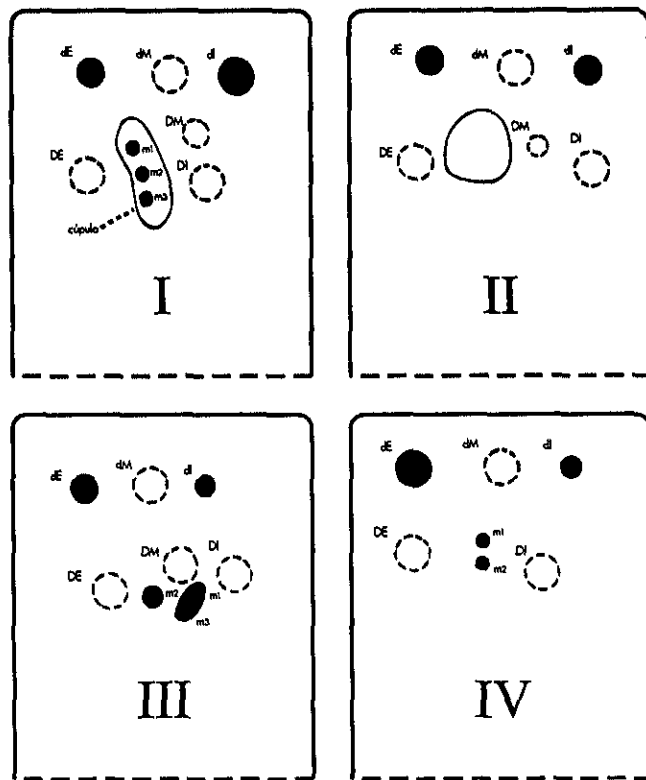


Fig. 9. a) Micrografía de barrido del Órgano Tarsal de *Cameronieta* ($\times 7500$). b) Quetotaxia comparada del órgano tarsal de cuatro géneros de *Spinturnicidae*: I *Spinturnix*, II *Eyndhovenia*, III *Periglischrus*, IV *Paraperiglischrus* (Tomado de Deunff, 1982).



- La seda dE es larga, fina, recurvada y con superficie lisa. Tiene probablemente una función táctil.
- La seda dl es más corta y rectilínea, con un relieve particular.
- Las sedas dM, pE y pl son semejantes, su tamaño es aproximado al de dl. Su relieve es característico, se distinguen en todo el borde finos surcos que incrementan la superficie de la seda, también presenta microperforaciones espaciadas.
- La seda pM es corta y con relieves idénticos a dM, pE y pl.

Sus cuatro últimas sedas presentan secreciones que sostienen las microperforaciones a través de hileras y forman pseudo-filamentos más o menos densos alrededor de las sedas. El papel de las secreciones no se conoce, pero existe la hipótesis de que pueden tener una función de mensajero. Estas secreciones se han observado en machos y hembras y son a nivel de feromona sexual secretadas en periodos de reproducción.

- Las microsedas m1, m2 y m3 están alineadas a

lo largo de la cúpula, estrechas y profundas en *Spinturnix*; dispuestas en triángulo en una cúpula casi circular y poco profunda en *Eyndhovenia* (Deunff, 1982b).

Esta estructura evoca al órgano de Haller de los Ixodidae el cual es considerado como un sistema receptor olfativo esencialmente.

La estructura del complejo tarsal es semejante en miembros del género. Así entre *Spinturnix myoti*, *S. mystacinus* y *S. emarginatus* existen pocas variaciones: en *S. myoti* el borde de la cápsula central presenta un espolón; la luz de la cúpula es alargada, de tamaño constante y las microsedas están alineadas; en *S. emarginatus* la cápsula es ligeramente triangular, las microsedas no están alineadas y no presenta espolón.

En *Paraperiglischrus* y *Periglischrus* las sedas dE y dl son lisas, dM, pE, pl y pM son estriadas y microperforadas. En el género *Paraperiglischrus*, están ausentes dos sedas (pM y una microseda) y no hay cápsula central. En *Periglischrus* las nueve sedas del complejo están presentes y la cápsula contiene sólo dos microsedas (Deunff, 1982b).

C. MORFOLOGÍA INTERNA

C.1 INTEGUMENTO:

El integumento es el revestimiento superficial del cuerpo de todos los animales. Constituye una cubierta que separa y protege al organismo del medio ambiente. Impide la penetración de agentes nocivos en el cuerpo y evita la pérdida de líquidos corporales (Paniagua & Nistal, 1983). En el apartado de Ultraestructura se tratará con más detalle este tema.

GLÁNDULAS DERMALES. Ciertas células de la epidermis tienen funciones específicas. Entre las más conspicuas están aquellas que forman la glándula dermal y su ducto, que abre en la superficie de la cutícula a través de un poro. En garrapatas (Metastigmata), cada glándula consiste de un par de grandes células glandulares y pocas células pequeñas formando ductos glandulares. Las glándulas dermales en garrapatas argásidas son de un tipo y secretan las capas de cemento de la cutícula una hora después de mudar. En garrapatas Ixodidas, donde las capas de cemento están ausentes, los productos de las glándulas (Lees, 1947) parecen tener la misma funcionalidad (Evans, 1992).

Existen tres tipos de glándulas dermales (tipo A,

B y C), cada tipo presenta diferente ciclo de actividad. Las glándulas tipo A en ninfas alcanzan su tamaño máximo y el fin de su engrosamiento. Estas glándulas muestran cambios degenerativos justo antes de la muda. Las pequeñas glándulas dermales tipo B, acumulan citoplasma durante la alimentación pero sufren involución rápida. Los productos de degeneración de las glándulas tipo B también pasan sobre la superficie de la cutícula. Lees (1947) encuentra que un grupo de alrededor de 8 núcleos permanecen cerca de los viejos ductos de las glándulas tipo B. Estos núcleos permanecen agrupados alrededor de un nuevo ducto cuticular que se forma y subsecuentemente comienza a secretar citoplasma. Cada grupo de núcleos juega una parte en la formación de una célula glandular; Lees se refiere a ésta como la glándula tipo C.

Yalvac (1939) y Schulze (1942) consideran que las glándulas dermales en garrapatas (Metastigmata) sirven como órgano sensorial con una función glandular adicional.

Las glándulas dermales o cuticulares también son comunes en los Mesostigmata y han sido descritas en los *Dermanyssina* y *Sejina*; se encuentran en el cuerpo y las patas (Evans, 1992). Es posible que la función que reali-

zan dichas glándulas sea parecida a la descrita para Metastigmata.

C.2 SISTEMA CIRCULATORIO:

El sistema circulatorio en los ácaros es lagunar. El hemocele es la unidad básica del sistema y la hemolinfa es el líquido que circula dentro de los órganos internos y entra en las cavidades de los apéndices. El hemocele carece de forro epitelial así que el tejido de los órganos internos son separados de la hemolinfa por una membrana basal. La hemolinfa no sólo funciona en el transporte de nutrientes, mensajeros químicos como las hormonas, y productos de desecho, sino que también juega un importante papel mecánico como tejido de soporte y transfiriendo energía en forma de presión hidrostática (Evans, 1992)

La hemolinfa es un fluido claro que contiene hemocitos (amoebocitos y leucocitos) que tienen forma de estrella, triangular, rectangular u oval.

En los ácaros se han reconocido cinco clases de hemocitos: prohemocitos, plasmotocitos (amoebocitos), granulocitos, esferulocitos y oenocitos. La información sobre la función de estas células es incompleta. Los pro-

hemocitos tienen núcleos grandes en relación al citoplasma y carecen de cuerpos granulares y vacuolas. Es posible que sirvan como células germinales, particularmente de plasmotocitos.

La circulación en la mayoría de los ácaros pequeños es resultado de la acción muscular del cuerpo y del movimiento de los órganos internos.

En garrapatas (Metastigmata) y algunos ácaros parasitiformes la circulación involucra un corazón dorsal y vasos arteriales. El corazón en garrapatas está situado dorsalmente a la mitad del idiosoma y está rodeado por un septum perforado de tejido conectivo sujetado por procesos terminales de músculos suspensores dorsolaterales y ventrolaterales. El corazón está dividido en dos regiones: la anterior (cono aórtico-miocardial) y la posterior. En los estudios anatómicos realizados en grupos Mesostigmados tales como Dermanyssina y Uropodina no se ha localizado el corazón (Evans, 1992)

C.3 NERVIOS Y SISTEMA NEUROSECRETOR:

La pérdida de segmentación en los ácaros, es vista en cuanto a la forma del sistema nervioso central, que consta de una masa ganglionar circumoesofágica

fusionada con los nervios periféricos extendidos en varias partes del cuerpo. Este singanglio o cerebro es similar al de la mayoría de los taxa y se localiza en la región pro-somática del cuerpo. En garrapatas (*Metastigmata*), las cuales han sido más extensamente estudiadas, el singanglio está rodeado por un seno de hemolinfa periganglionar y sólo los nervios opistosomáticos sobresalen del seno y otros puntos de origen del singanglio. El tejido nervioso está rodeado por una lámina neural (neurilema), que consta de dos zonas, una corteza externa y un neurópilo interno. La lámina neural es provista de soportes mecánicos de tejido, fundamentalmente con resistencia positiva a la presión hidrostática. En algunos *Mesostigmata* e *Ixodida* una capa de células gliales (neuroglia) se sitúan debajo de la lámina neural (Coons et al., 1974; Obenchain, 1974). Los axones contienen vesículas neurosecretoras, presentes en la lámina.

La corteza consiste de perineuronas, comprimidas en una capa delgada de células gliales, y cuerpos de células neurales. Las células gliales perineurales en garrapatas (*Metastigmata*) *Ixodida* contienen depósitos de glicógeno y forman capas continuas rodeadas de cuerpos celulares neurales, mientras que en garrapatas *argásidas* las células gliales y otras extensiones contienen espacios intracelulares o vacuolas y se consideran anólo-

gas al sistema glial-lagunar de los insectos. Los nutrientes solubles pueden almacenarse y pasar a través de las vacuolas o las neuronas. Las neuronas de la región cortical en garrapatas son de tres tipos: neuronas motoras (Tipo I) células neurosecretoras (tipo II) y células olfativas globulares (Tipo III). Las neuronas del tipo I están situadas en grupos simétricos bilateralmente, asimismo son células con núcleos grandes y de volumen citoplásmico relativamente pequeño. Están presentes en todos los ganglios y en la periferia contienen mitocondrias, aparato de Golgi, neurotúbulos, cuerpos en forma de lisosomas y algunas cisternas de retículo endoplásmico (Ivanov, 1979). Las células de tipo II tienen un gran volumen citoplásmico y contienen gránulos neurosecretores. Las células tipo II tienen núcleos que se tiñen intensamente y forman una masa pareada en el primer ganglio pedal. Las neuronas en el singanglio son cuerpos unipolares con periferia periforme, elipsoidal o poliédrica.

El esófago pasa a través del singanglio a lo largo del eje central y se divide en dos regiones. el pre-esofágico (supra-esofágico) y el post-esofágico (sub-esofágico).

Existe un estudio sobre *Spinturnix myoti*, donde observaron que el esófago atraviesa al singanglio a nivel

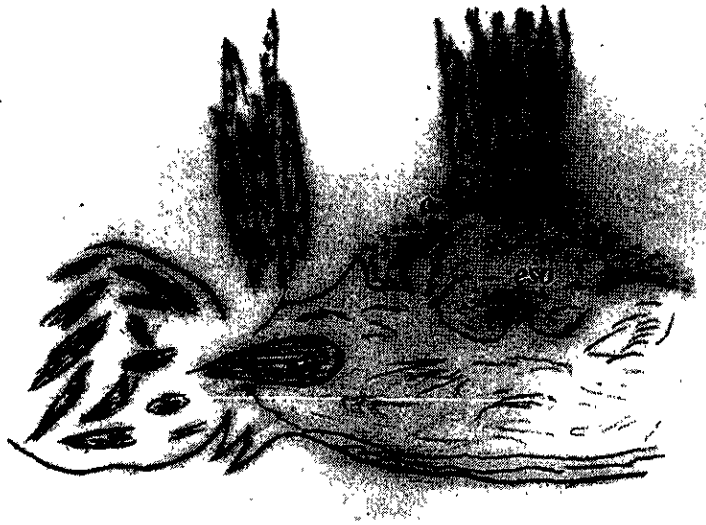


Fig. 10. Diagrama del Singanglio de Spinturnix myoti; c, corteza; np, nervio pedal; eso, esófago (Modificado de Evans, 1992).

del neurópilo, que al igual que en otros ácaros, ocupa una gran área central del singanglio, el cual parece estar formado por numerosas áreas ganglionares o evaginaciones de la corteza (Fig. 10), de estas evaginaciones salen numerosos nervios periféricos que sirven a las dos diferentes regiones, por ejemplo, los nervios de la región pre-esofágica sirven al gnatosoma (incluyendo el labro, faringe, quelíceros y pedipalpos) y los de la región post-esofágica a las patas, el tracto alimenticio y los órganos genitales (Evans, 1992).

Los nervios periféricos, al menos en garrapatas (Metastigmata), se han descrito como tunicados y las fibras nerviosas son envueltas por mesaxones de células gliales. Los nervios están asociados con axones sensoriales y motores (Tsvileneva, 1964).

C.4. SISTEMA REPRODUCTOR:

El sistema reproductor de los ácaros hembras y machos consiste de una serie de elementos fusionados, pareados y fragmentados (Krantz, 1978). Los órganos reproductores de los machos consisten esencialmente de testículos pares o impares, situados paralelamente al tracto alimenticio y seguidos por vasos deferentes (pares o impares) directamente o a través de una vesícula seminal mediante un ducto eyaculador. En la sección terminal se puede desarrollar un órgano espermatozóico que es llamado pene o aedeagus (sólo presente en algunos grupos de ácaros). Las glándulas accesorias producen el fluido seminal y los espermatozoides se abren dentro de la vesícula seminal o del ducto eyaculador. En los Mesostigmata los testículos son pareados y tienen formas tubulares.

El sistema reproductor de las hembras comprende ovarios pareados, oviductos pareados, un útero mediano, una vagina, receptáculo seminal, glándulas accesorias y una cámara progenital (vestíbulo y atrio genital). Un sistema de acceso espermático conectado con el orificio genital y con función de receptor de espermatozoides, se presenta en los *Dermanyssina*.

En los *Dermanyssina* (incluyendo *Spinturnicidae*) el espermatozoide no es introducido por el orificio genital, sino a través de un poro copulador (o bolsa copulatoria) que lo dirige al sistema de acceso espermático, el cual abre al exterior por poros pareados o solenostomos; cada solenostomo está situado alrededor de la coxa IV en la membrana artrodial conectada en la coxa de la pata III, por un acetábulo.

Los machos de este orden presentan en cada dedo móvil de los quelíceros un apéndice, el "espermadactilo", que transfiere el espermatozoide; generalmente consta de un canal que se extiende a lo largo de su longitud. El espermadactilo se acomoda en una bolsa tubular (poro copulador o bolsa copulatoria) de la hembra que se abre dorsalmente al orificio genital y se extiende posteriormente al nivel del margen posterior de la placa esternal. El espermadactilo parece estar fragmentado después

de haber inseminado a la hembra y se han encontrado fragmentos en los túbulos del sistema de acceso espermático, que se abre en el integumento o en ambos lados de la placa genital de la hembra (Krantz, 1978; Evans, 1992).

C.5 SISTEMA DIGESTIVO:

CANAL ALIMENTARIO

INTESTINO ANTERIOR. La boca se proyecta por debajo del labro y es dirigida dentro de la faringe que es una región fuertemente muscular del intestino anterior que funciona como un efectivo órgano succionador y deglutidor. El contorno en sección transversal de la luz faringeal en los Parasitiformes es semejante a una Y, o a 2 Ys conectadas en la base, o una triple Y formada por la subdivisión terminal de cada brazo de la Y. Los músculos dilatador y constrictor se alternan a lo largo de la faringe (Fig. 11). Los músculos dilatadores comprenden

1. Los dilatadores laterales originados en la pared lateral de la base gnatosomática e insertados en las paredes de la faringe.
2. Los dilatadores dorsales originados en la placa subquelicerál o en las paredes laterales de la base gnato-

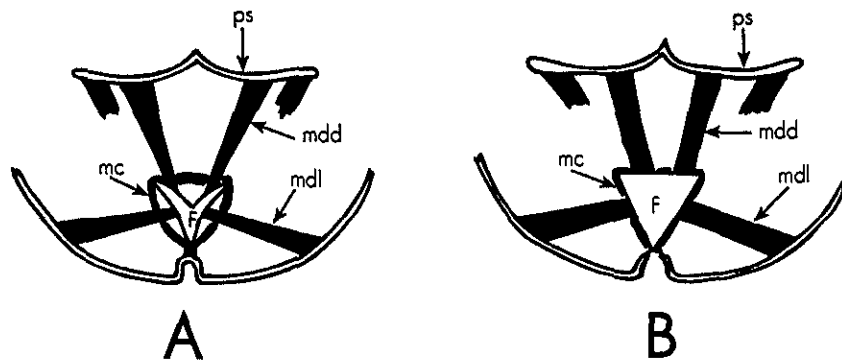


Fig. 11. Representación esquemática de la faringe y su musculatura, estado contraído (A) y dilatado (B). F, faringe; mc, músculo contractor; mdl, músculo dilatador lateral; mdd, músculo dilatador dorsal; ps, placa subquelicerale (Tomado de Evans, 1992).

somática e insertados en los brazos laterales de la faringe.

3. Los dilatadores ventrales presentes en la condición doble Y, originados en la pared ventral o ventrolateral de la base gnatosomática e insertados en la pared ventral faringeal.

Los músculos contractores están arreglados de modo que se conectan a los brazos de la faringe. La dilatación de la faringe resulta en una luz en forma de triángulo invertido o rectangular. Grandjean (1936b, citado por Evans, 1992) considera la pared de la luz de la faringe y describe un número de labios cuyos puntos de contacto (las comisuras) son los extremos de los brazos. La luz en forma de Y tiene tres labios y la doble Y tiene 4

labios. El labio dorsal se extiende más allá de la boca como el labro (=epifaringe).

Este tipo de faringe forma un eficiente órgano succionador-deglutidor y es característico de ácaros depredadores y parásitos que ingieren fluidos o alimentos en partículas muy finas y de micrófagos que consumen hifas, esporas o granos de polen (Evans, 1992).

INTESTINO MEDIO Los ventrículos en Mesostigmata están provistos de tres pares de ciegos; generalmente comprenden dos pares dorsales, uno anterior y otro posterior, y un pequeño par ventral (Fig. 12).

Las especies que ingieren grandes cantidades de tejido (fluidos) de su huésped, tienen los ciegos exten-

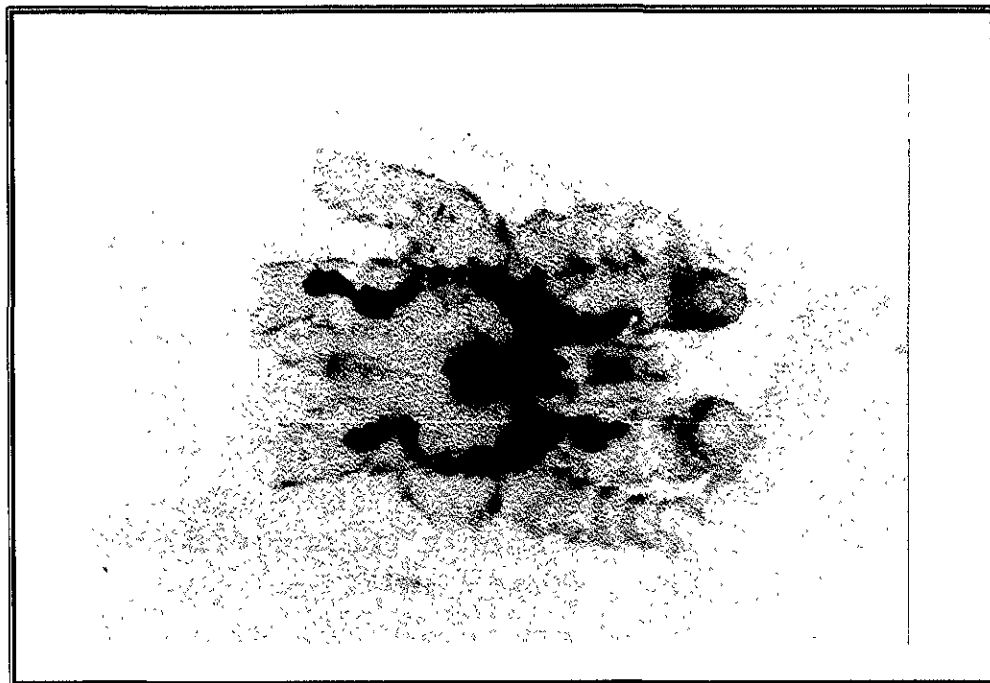


Fig. 12. Microfotografía de los Ciegos gástricos de Periglischrus paracaligus, tomada de un ejemplar procesado sin osmio e incluido en resina Epon.

didados dentro de las cavidades de las patas. En *Spinturnix myoti*, el cuerpo está comprimido dorsoventralmente, los ciegos anterior y posterior están extendidos dentro de las cavidades de las patas I y IV, respectivamente, al igual que en *Periglischrus paracaligus*.

Los ventrículos y sus ciegos son los sitios de digestión y absorción. Sus paredes están formadas por una sola capa de células epiteliales apoyadas sobre una membrana basal. Estudios de microscopía de luz y electrónica muestran que el epitelio en Mesostigmata consiste básicamente de tres tipos de células: de reserva (indiferenciadas), secretoras y digestivas (Fig. 13).

Las células epiteliales y la capa basal de los ventrículos y ciegos están unidas por redes discontinuas de músculos circulares y longitudinales. El movimiento del contenido del ventrículo dentro del resto del intestino medio es controlado por una válvula (esfínter pilórico). La región postventricular del intestino medio comprende dos distintas regiones un colon anterior y un postcolon posterior. Los músculos del esfínter actúan como una válvula entre el colon y el postcolon y también pueden estar presentes entre el postcolon y el atrio anal. El epitelio del colon y postcolon es sostenido por una lámina basal y rodeado por un plexo de músculos longitudinales y circulares.

Un par de túbulos excretores, los túbulos de Malpighio, están involucrados en la excreción de los productos finales del metabolismo del nitrógeno, y se abren dentro de la región post-ventricular del intestino medio en los Parasitiformes (Evans, 1992).

INTESTINO POSTERIOR. El corto forro cuticular del intestino medio forma el atrio anal que está conectado al postcolon y a la abertura anal. Esta última es generalmente en forma de una hendidura longitudinal. La abertura anal en ácaros Mesostigmata esta rodeada por un área de cutícula esclerosada que forma un anillo anal, originando músculos en la placa dorsal que se insertan en la pared del atrio y en las valvas anales, consideradas para actuar como músculos sujetadores para prevenir un colapso y extrusión de las paredes del atrio (Evans, 1992).

C.6 GLÁNDULAS PROSOMÁTICAS:

En Metastigmata las glándulas salivales pareadas se localizan en la región prosomática del cuerpo descargando su contenido en ductos dentro de la región bucal/subcapitular del gnatosoma o cerca de las coxas del primer par de patas.

Entre los *Dermanyssina*, las glándulas salivales son más grandes en las formas parásitas que ingieren grandes cantidades de fluidos que en las formas depredadoras. Cada glándula consta de grupos de acini, con frecuencia semejantes a un racimo de uvas que descargan sus secreciones por las paredes de los ductos eferentes dentro de los ductos principales. Las glándulas en *Spinturnix* son vacuoladas y tienen una apariencia granular. En la hembra de *Varroa jacobsoni* (Varroidae), cada glándula pareada (adenómero) semeja una pirámide truncada con el extremo estrecho dirigido hacia el gnatosoma y comprende cinco acinis esféricos uniformes. El acini idéntico en estructuras y dimensiones está conectado sucesivamente a lo largo de su longitud por una rama de ductos cuticulares. La luz de cada acinus está rodeada por seis células cónicas que convergen radialmente y es conducida por un corto ducteolo estrecho en un ducto cuticular. El citoplasma de las células es vacuolado pero están ausentes las secreciones granulares. Grupos de pequeñas células inactivas están situados en terminación proximal al ducto, se considera que pueden ser capaces de agrandarse y desarrollarse dentro de las células funcionales secretoras.

En los Parasitina y algunos *Dermanyssoidea*, cada ducto corre lateroventral a los quelíceros y los

estiletes secretores se extienden a lo largo del margen lateral del canal preoral, llegando a estar situados en un canal dorsal del cornículo. El estilo es después alargado y contribuye a las paredes laterales del canal preoral, particularmente en ectoparásitos hematófagos. El estilo en general, no está estrechamente asociado con el cornículo en los Uropodoidea (Evans, 1992).

C.7 DIGESTIÓN:

En los ácaros se realizan dos tipos de digestión: la digestión externa en donde se involucran las secreciones de la glándula salival y la digestión interna, tanto extracelular como intracelular.

DIGESTIÓN EXTERNA. Los ácaros hematófagos utilizan enzimas para la predigestión, las cuales son secretadas por las glándulas salivales y vertidas en la región bucal o prebucal. Se ha encontrado un número considerable de agentes químicos activos en la saliva que pueden ser responsables de la adhesión al huésped, además de prevenir la coagulación de la sangre del huésped, destruir el tejido, y de provocar dilatación capilar y hemorragias extensivas. Balashov (1968) sugiere que los agentes anticoagulantes son originados por las células granulares y contienen glicoproteínas, mucopro-

teínas y algunos complejos proteínicos-carbohidratados.

DIGESTIÓN INTERNA. El primer paso en la digestión de los ácaros hematófagos, es la concentración de la sangre ingerida y la remoción del exceso de agua y iones sodio de la misma, los cuales pasan a través del epitelio del intestino medio para ser vertidos en la hemolinfa, donde son transportados a las glándulas salivales o

a las glándulas coxales, para ser eliminados.

En la pared del intestino medio (ventrículo y ciegos) por lo general se distinguen tres tipos de células: de reserva, digestivas y secretoras (Roesler, 1934; Hughes, 1954) (Fig. 13). Las células de reserva tienen una estructura fina, típica de células indiferenciadas, donde las

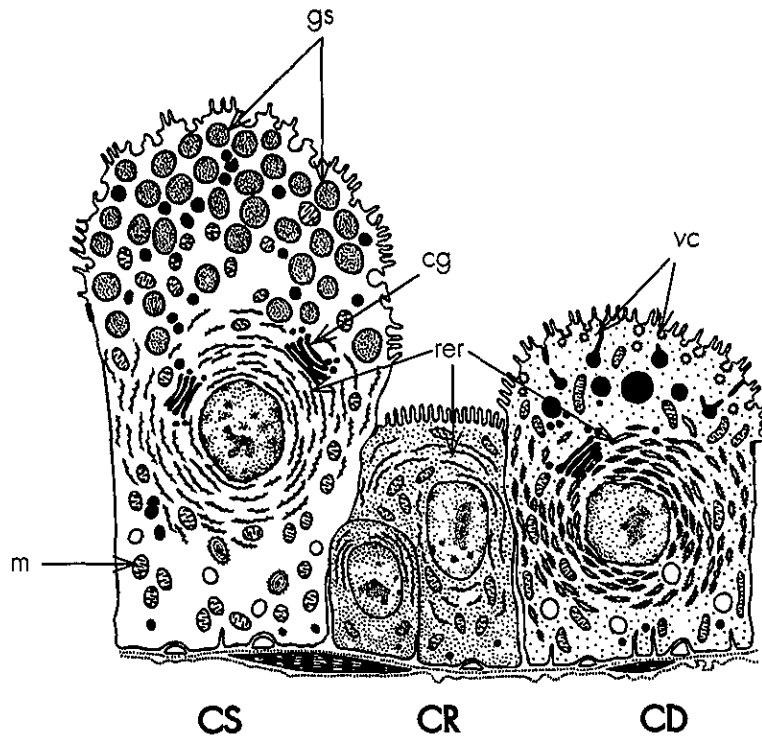


Fig. 13. Representación esquemática de la ultraestructura del epitelio del intestino medio en ácaros hematófagos. CS, célula secretora; CR, célula de reserva; CD, célula digestiva; cg, complejo de golgi; gs, gránulos secretorios; m, mitocondrias; rer, retículo endoplásmico rugoso; vc, vesículas de revestimiento (Modificado de Evans, 1992).

microvellosidades y los pliegues internos basales están casi o totalmente ausentes, y el citoplasma contiene principalmente ribosomas libres y otros organelos. La diferenciación de las células de reserva va acompañado de crecimiento, desarrollo de microvellosidades, pliegues basales y la aparición de numerosas cisternas de retículo endoplásmico, complejos de Golgi y muchas mitocondrias alargadas. Las células secretoras son columnares o clavadas y su denso citoplasma consiste de abundantes cisternas de retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias redondas y complejos de Golgi. Estos organelos ocupan el centro de la célula. La región apical de las células secretoras está ocupada con numerosos gránulos de secreción redondos u ovoides y la superficie con densas microvellosidades. Por otra parte las células digestivas y secretoras son muy especializadas y llegan a degenerar al final de su actividad funcional. Los tres tipos de células mencionadas pueden estar involucradas en la digestión interna, o en algunos casos como en garrapatas Ixodidae (Metastigmata), dos tipos de células digestivas están envueltas en el proceso, estas células se caracterizan por tomar los componentes sanguíneos por fagocitosis y pinocitosis (Evans, 1992).

ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE MET PARA EL PROCESAMIENTO DE SPINTURNICIDAE

Uno de los objetivos de este trabajo es la estandarización de la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión para el estudio de la morfología interna de ácaros Spinturnicidae parásitos de murciélagos.

En la tabla II se muestran los primeros ejemplares procesados con 2 técnicas diferentes: MICREL 1 y 2 (Fig. 15), material perteneciente a la colección del Laboratorio de Acarología de la Facultad de Ciencias. Se realizaron cortes del material para checar la preservación del tejido, observándose que este material presentaba deficiencias, ya que el tejido no se encontraba bien preservado y había mala infiltración de la resina, es decir, el tejido de los cortes semifinos al ser montado en portaobjetos se desprendía quedando únicamente la resina, y en las ocasiones en que se mantenía el tejido se doblaba o no se observaba definición de estructuras (Fig. 14).



Fig. 14. Microfotografía de las valvas anales de Periglichrus paracaligus, mostrando la mala preservación del tejido e infiltración de la resina.

Tabla II. Material colectado en la Cueva del Arroyo del Bellaco, Puente Nacional, Veracruz. Todos los ejemplares pertenecen al género *Cameronieta elongatus**.

MURCIÉLAGO CAPTURADO	No. CAT.	ECTOP. COLECT.	PROCESA- MIENTO	TÉCNICA UTILIZADA	EJEMP. CORTADOS
<i>Pteronotus davyi</i>	Pdav 013	10	TEM (9), TAXO- NOMÍA (1)	MICREL 2	1
<i>Pteronotus davyi</i>	Pdav 015	16	TEM (14), TAXO- NOMÍA (2)	MICREL 1	2
<i>Pteronotus per- sonatus</i>	Pper 028	5	TEM (5)	MICREL 1	1
<i>Pteronotus per- sonatus</i>	Pper 037	19	TEM (16), TAXO- NOMÍA (3)	MICREL 2	3
<i>Pteronotus per- sonatus</i>	Pper 039	20	TEM (18), TAXO- NOMÍA (2)	MICREL 2	1
<i>Pteronotus davyi</i>	Pdav 021	20	TEM (17), TAXO- NOMÍA (3)	MICREL 2	5
<i>Pteronotus davyi</i>	Pdav 054	27	TEM (27),	MICREL 2	1
<i>Pteronotus davyi</i>	Pdav 056	13	TEM (6), TAXO- NOMÍA (7)	MICREL 2	1

* Material perteneciente a la Colección del Laboratorio de Acarología procesado por la Biol. Martha Corona Tinoco.

Tabla III. Material Colectado en Río Salado, Zapotitlán de las Salinas, Pue. y procesado como se describe en la Metodología.

MURCIÉLAGO CAPTURADO	No. CAT.	ECTOP. COLECT.	ESPECIE	PROCESA- MIENTO	FECHA COLECTA	TÉCNICA UTILIZADA
<i>Leptonycteris curasoae</i>	Lcur 001	4	<i>Periglischrus paracaligus</i>	TEM (3), TA- XONOMÍA (1)	29.V.1997	MICREL 3
<i>Leptonycteris curasoae</i>	Lcur 003	9	<i>Periglischrus paracaligus</i>	TEM (8), TAXO- NOMÍA (1)	30.V.1997	MICREL 3
<i>Leptonycteris curasoae</i>	Lcur 004	1	<i>Periglischrus paracaligus</i>	TEM	30.V.1997	MICREL 3
<i>Choeronycteris mexicana</i>	Chmex 004	1	<i>Periglischrus sp nov.</i>	TEM	9.VII.1997	MICREL 4
<i>Choeronycteris mexicana</i>	Chmex 008	1	<i>Periglischrus sp nov.</i>	TAXO- NOMÍA	9.VII.1997	MICREL 4
<i>Choeronycteris mexicana</i>	JMM409	2	<i>Periglischrus sp nov.</i>	TEM	9.VII.1997	MICREL 4
<i>Leptonycteris curasoae</i>	Lcur 005	9	<i>Periglischrus paracaligus</i>	TEM (8), TA- XONOMÍA (1)	22.X.1997	MICREL 5

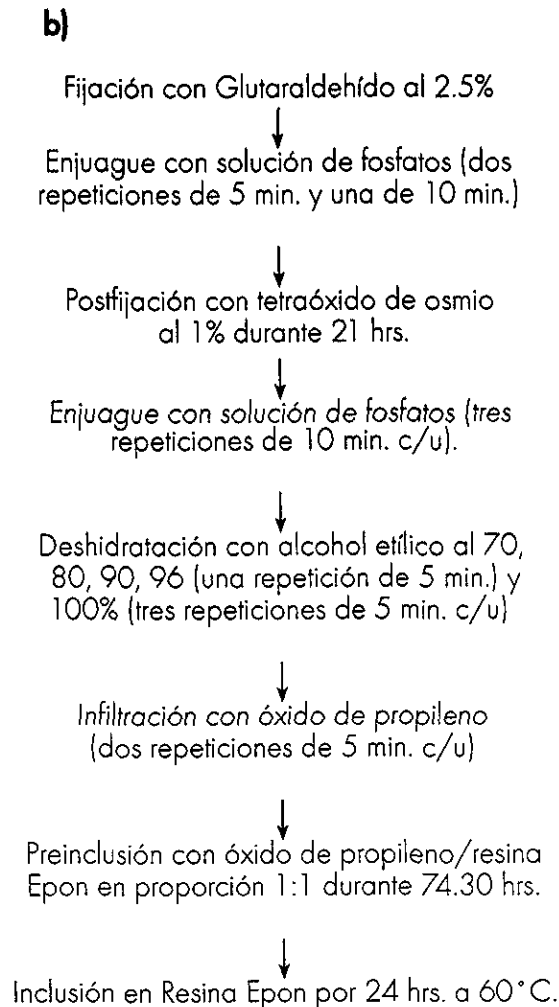
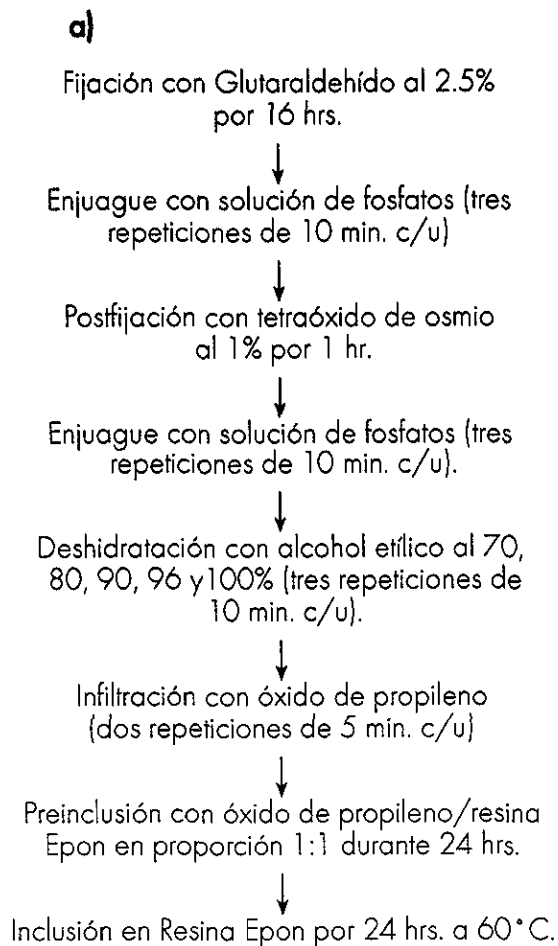


Fig. 15. Técnicas utilizadas en el procesamiento del material de la Tabla II. a) MICREL 1 y b) MICREL 2.

Dentro del material bibliográfico revisado se encontró un artículo de Brody et al. (1972), quien procesó ácaros para MET utilizando como fijador glutaraldehído al 12.5%, entonces se procesó material nuevo con esta concentración.

En la tabla 3 se muestran los ejemplares colectados en Río Salado, Zapotilán de las Salinas, Pue.; este material fué fijado con glutaraldehído al 12.5%/para-formaldehído al 4%, haciendo variaciones en las demás etapas del procesamiento.

Los ejemplares colectados sobre *Leptonycteris curasoae* el 29 y 30 de mayo de 1997, fueron procesados con la técnica MICREL 3 (Fig. 16), en la cual, además de modificarse la concentración del fijador, se modificaron las concentraciones y tiempos de deshidratación (con el fin de que fuera más gradual) y se amplió el tiempo de preinclusión de 24 a 48 hrs., con esto se logró mejorar la preservación del tejido y se facilitó el corte, pero aún así no fue muy convincente, ya que presentaba huecos por falta de penetración de resina. Con lo anterior se especuló que la responsable del problema era la cutícula que cubre a los ácaros, debido a que está compuesta de quitina y es casi impermeable lo cual impide la penetración de las sustancias utilizadas, por lo que se procedió a cortar los ejemplares para ayudar a la penetración de las sustancias.

Posteriormente se iniciaron los cortes en *Periglichurs sp.*, ejemplares que al parecer son una nueva especie colectada sobre *Choeronycteris mexicana*, y procesada con la técnica MICREL 4 (Fig. 16), observándose mejoramiento en la preservación del tejido. En cuanto a la penetración de la resina, sólo el tejido de la periferia del artrópodo se encontró bien embebida, observándose huecos en los cortes semifinos, por lo que se realizó una segunda inclusión que rellenara los huecos del tejido restante de las inclusiones.

Para evitar una segunda inclusión se procesó nuevo material con la técnica MICREL 5 (Fig. 17), donde se aumentó el tiempo de deshidratación, infiltración y preinclusión, mejorando así el procesamiento y siendo la técnica finalmente utilizada para este trabajo. En el diagrama de flujo de la Fig. 17 se muestra la técnica MICREL 5 completa y descrita en el apartado de Metodología

En el material procesado se observó que los gránulos nucleares de las células epidérmicas cuticulares de los Spinturnicidae son semejantes a las observadas en nucleos de *Lacondonia schismatica*, por lo que en algunos ejemplares se eliminó la postfijación para después realizar el contraste con un método preferencial para ribonucleoproteínas, utilizando la técnica del EDTA, que permitió describir la subestructura nuclear.

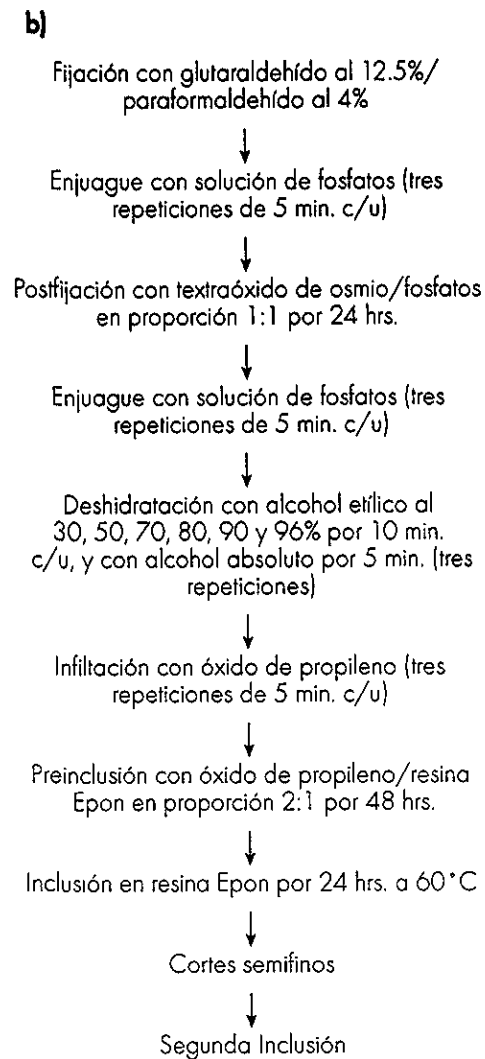
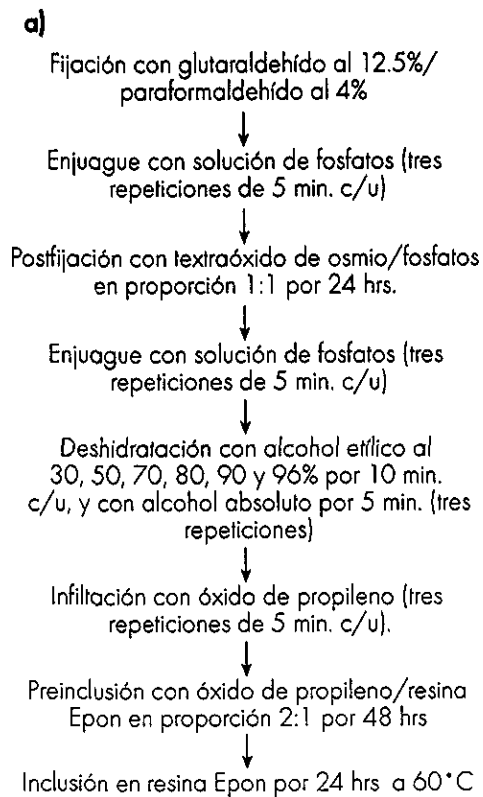
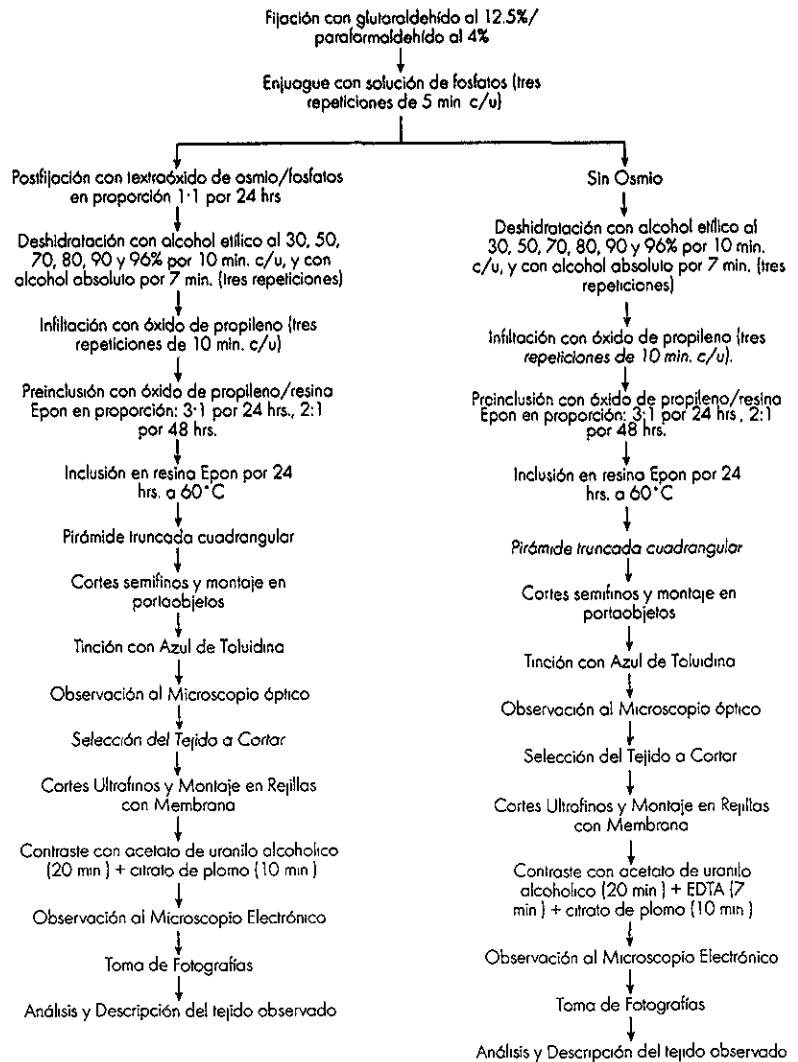


Fig. 16. Técnicas utilizadas para el procesamiento del material de la Tabla III. a) MICREL 3 y b) MICREL 4.

Fig. 17. Técnica MICREL 5 utilizada en el procesamiento del material de la Tabla III, y la cual puede utilizarse en el procesamiento de los ácaros de la familia Spinturnicidae.



ULTRAESTRUCTURA

A.1 INTEGUMENTO:

La estructura del integumento de los ácaros es similar a la de otros artrópodos, y comprende una epidermis celular y una cutícula secretada por la epidermis. La cutícula consiste de una procutícula, una epicutícula y una capa de cerotegumento.

La procutícula está constituida de microfibrillas de quitina, una estructura polisacárida, embebida en una matriz de proteínas. Las microfibrillas están sostenidas por hojas estratificadas.

La procutícula consta de una exocutícula (externa) y una endocutícula (interna). Ambas capas están compuestas de quitina y proteínas ligadas para formar una glicoproteína compleja. La exocutícula adicionalmente presenta fenoles, y su estructura molecular ha sido estabilizada mediante la formación de enlaces cruzados (Neville, 1975; Barnes, 1984).

La exocutícula se puede encontrar en las partes más duras del idiosoma del ácaro, tales como el gnatosoma, los escleritos del cuerpo y la cutícula de las patas;

la endocutícula se encuentra ausente en la base gnatosomática y las patas (Hackman, 1982).

La epicutícula está compuesta de proteínas, lípidos y fenoles.

El cerotegumento es una capa de cemento producto de las glándulas dérmicas y sus componentes principales son las proteínas y los lípidos; es la superficie final de la cutícula producto de la epicutícula, siendo la capa que cubre todo el idiosoma y le proporciona rigidez al ácaro.

En general, la epicutícula es uniforme, mientras que la procutícula y el cerotegumento muestran adaptaciones funcionales. En las formas que ingieren grandes cantidades de fluídos, hay una reducción en las áreas de cutícula esclerotizada y un plegamiento en de la epicutícula de la cutícula suave del cuerpo aparentando una superficie corrugada (Evans, 1992), como se llega a observar en los Spinturnicidae hematófagos.

La superficie de áreas esclerotizadas de la cutícula puede estar ornamentada de forma variada. En Mesostigmata e Ixodida, la forma más común es el patrón retículo-areolado (Fig. 18), el cual representa el entorno



Fig. 18. Microfotografía de la superficie cuticular, patrón retículo-areolado de Periglyphus paracaligus.

de las células epidérmicas que se encuentran debajo de la cutícula (Wigglesworth, 1961). Otros tipos de superficies son descritas como foveada, punteada, granular, rugosa y tuberculada.

En el material procesado se observaron células epidérmicas, las cuales están formadas por una capa y delimitadas por una membrana basal. Estas células contienen pequeñas cantidades de citoplasma distribuido en toda su periferia, y albergan organelos como mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso y núcleo.

En la Fig. 19 se observan más o menos definidas las capas del integumento de *Periglyphus paracaligus*; examinando la micrografía se aprecia de afuera hacia adentro una capa fina de material oscuro, el cerotegumento; continuando hacia adentro se observa una capa o estrato menos oscuro que el anterior, pero más teñido que el siguiente, la epicutícula; posteriormente se encuentra la procutícula como una capa más gruesa, viscosa y de tinción menos intensa, para terminar con la capa de células epidérmicas.

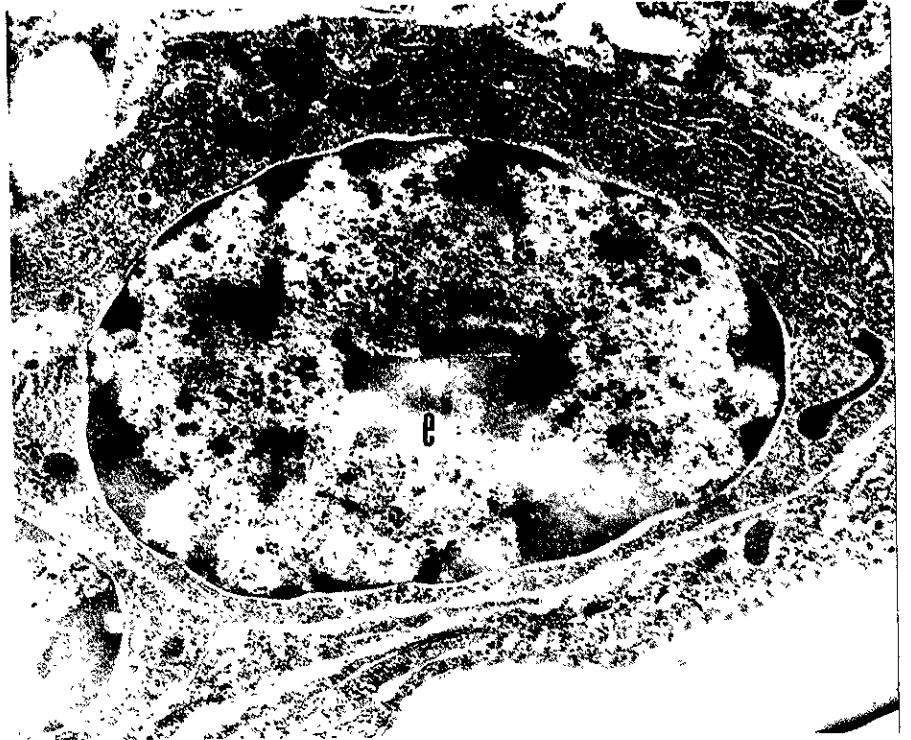


Fig. 19. Capas cuticulares de Periglyphus paracaligus. a) cerotegumento, b) epicutícula, c) procutícula y d) capa epidérmica (3 150X).

En la micrografía de la Fig. 20 se aprecia el núcleo de las células epidérmicas, el cual ocupa gran parte de la superficie celular. Su cromatina es periférica

y se adhiere a la superficie interna de la envoltura nuclear. En algunas ocasiones se observa el nucléolo.

Fig. 20. Fotomicrografía de una célula epidérmica cuticular de *Periglyphus paracaligus*. a) retículo endoplásmico rugoso, b) mitocondrias, c) cromatina periférica, d) heterocromatina, e) núcleo (10 000X).



El nucléolo tiene una alta concentración de ARN y proteínas, y es el organelo donde se lleva a cabo la transcripción del ARN ribosomal; su presencia y actividad van estrechamente ligadas a la necesidad de ribosomas en la célula y por tanto, a la fabricación de proteínas, por eso es mucho más visible en los momentos de mayor síntesis de ribosomas. También hay grandes conglomerados

de cromatina compacta o heterocromatina unida a la parte externa del nucléolo. El resto del núcleo se haya ocupado por el nucleoplasma, que presenta numerosos gránulos densos, que tienen un diámetro aproximado de unos 40 nm; su naturaleza, ribonucleoproteica (RNP), es sugerida porque después de aplicarle la técnica regresiva a base de EDTA (Bernhard, 1969), se contrastan fuertemente (Fig. 21 y 22). Estas estructuras podrían ser semejantes a otras RNP intranucleares relacionadas con el metabolismo de ARN intracelular, en particular con los gránulos de 32 nm de diámetro encontrados en plantas como *Lacandonia schismatica* (Jiménez-García et al., 1992).

El retículo endoplásmico rugoso está particularmente desarrollado y se encuentra distribuido en todo el contenido del citoplasma, lo que puede deberse a su participación activa en la síntesis de proteínas (principal constituyente de la cutícula)

B.2 CÉLULAS DIGESTIVAS DEL VENTRÍCULO.

Como ya se señaló en el apartado del Sistema Digestivo, el intestino medio de los ácaros Spinturnicidae está provisto de un ventrículo y tres pares de ciegos, que son los sitios de digestión y absorción. Del material procesado de *Periglyphus paracaligus* y *Periglyphus sp. nov.*, se lograron obtener imágenes de las células digestivas del ventrículo, las cuales están apoyadas sobre una membrana basal. Entre los organelos que presentan se

encuentra un núcleo alargado con cromatina compacta, densidades importantes de mitocondrias y lo que suponemos es retículo endoplásmico liso; la proporción de organelos presentes indican gran actividad celular. También se encontró el lumen del ventrículo, en el cual se observaron eritrocitos (células sanguíneas del huésped) completos y algunos semidigeridos (Fig. 23).

En el margen apical de estas células se encuentran prolongaciones pequeñísimas en forma de dedos, las microvellosidades, dirigidas hacia el lumen ventricular, las cuales aumentan la superficie de absorción y logran llevar a cabo eficazmente su función, ya que debido al hábito hematófago de estos ácaros se requiere una gran superficie digestiva.

Las mitocondrias presentes en el citoplasma de las células digestivas se encuentran distribuidas uniformemente, lo que sugiere que estas células requieren cantidades considerables de energía para poder llevar a cabo la absorción de los nutrientes obtenidos de los eritrocitos del mamífero y llevar a cabo la oxidación de los nutrimentos que, junto con el oxígeno, pasan del líquido tisular a través de las membranas celulares para llegar al torrente sanguíneo.

En un ejemplar de *Periglyphus sp. nov.* se observaron gran cantidad de bacterias, las cuales se distinguen por su forma, tamaño, pared celular, fibras de ADN y su membrana (Fig. 24).

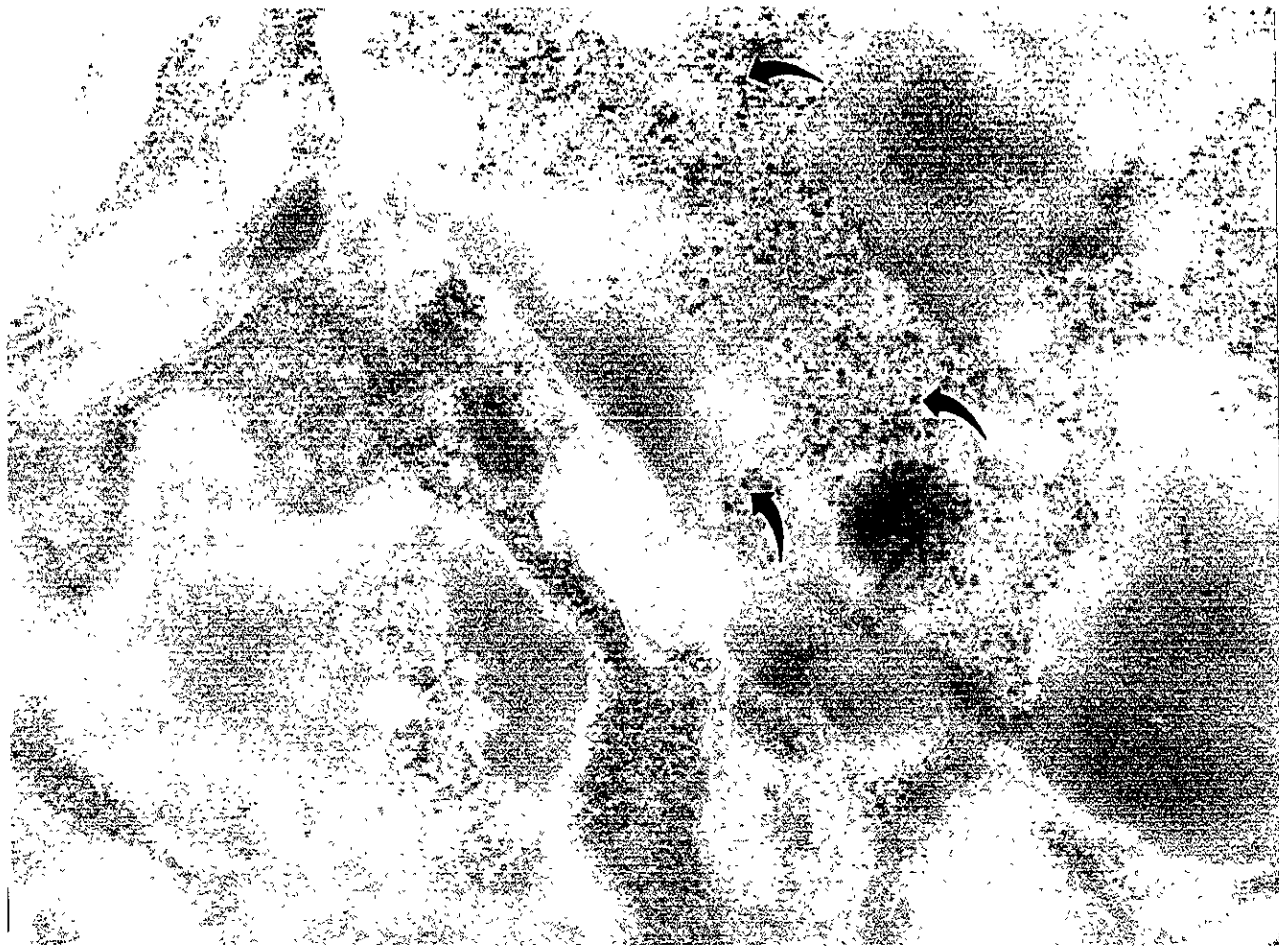


Fig. 21. Micrografía de los gránulos nucleares (flechas) de las células epidérmicas de la cutícula de Periglischrus, de naturaleza ribonucleoproteica comprobada al realizar un contraste preferencial con EDTA.

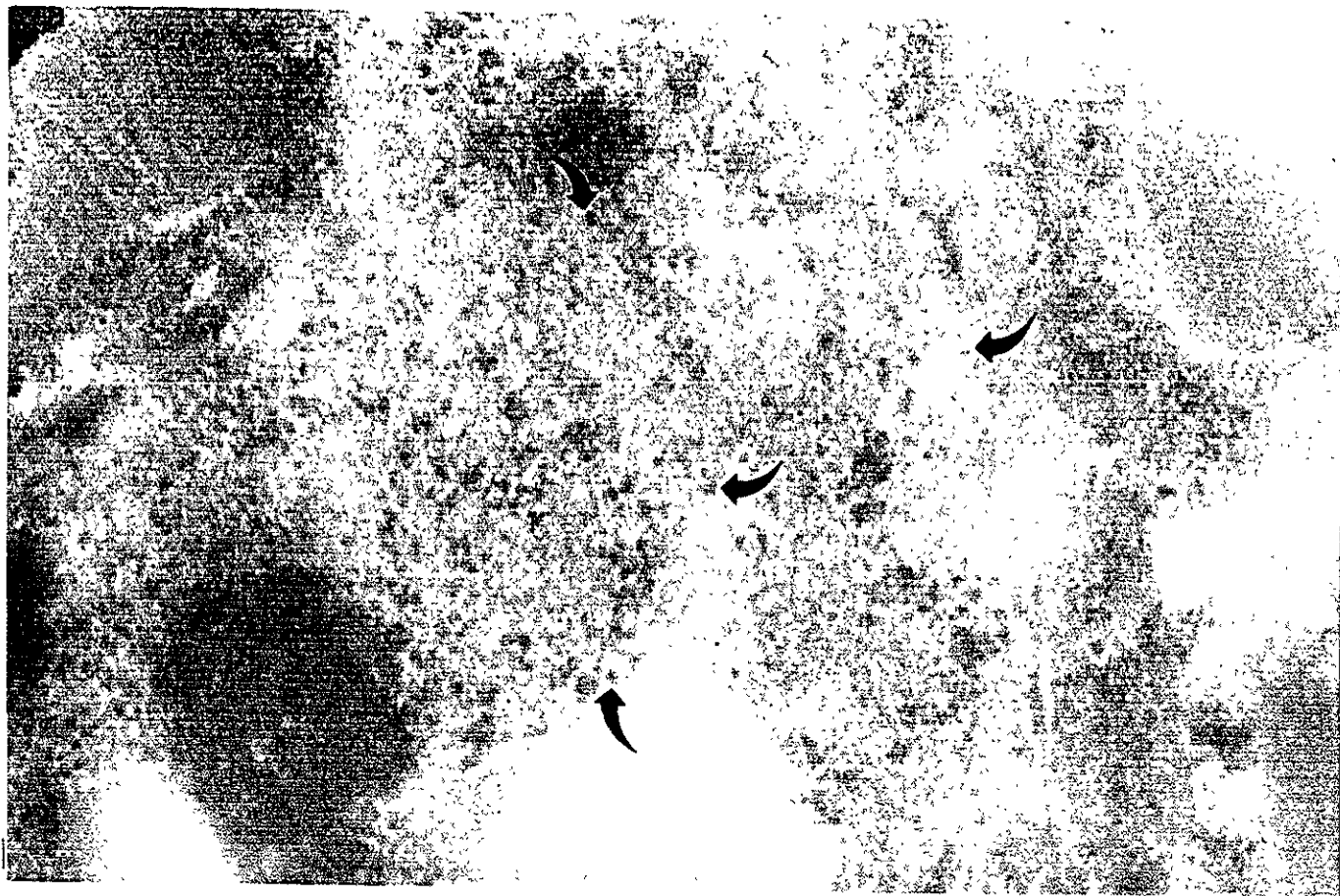


Fig. 22. Micrografía de los gránulos ribonucleoproteicos (flechas) de las células epidérmicas de la cutícula de Periglischrus, material procesado sin osmio y contrastado con EDTA.



Fig. 23. Micrografía del lumen ventricular de *Periglischrus* sp. nov., donde se observa un a) eritrocito, b) bacterias y c) una célula digestiva. Contraste uranilo-plomo (2 500X).

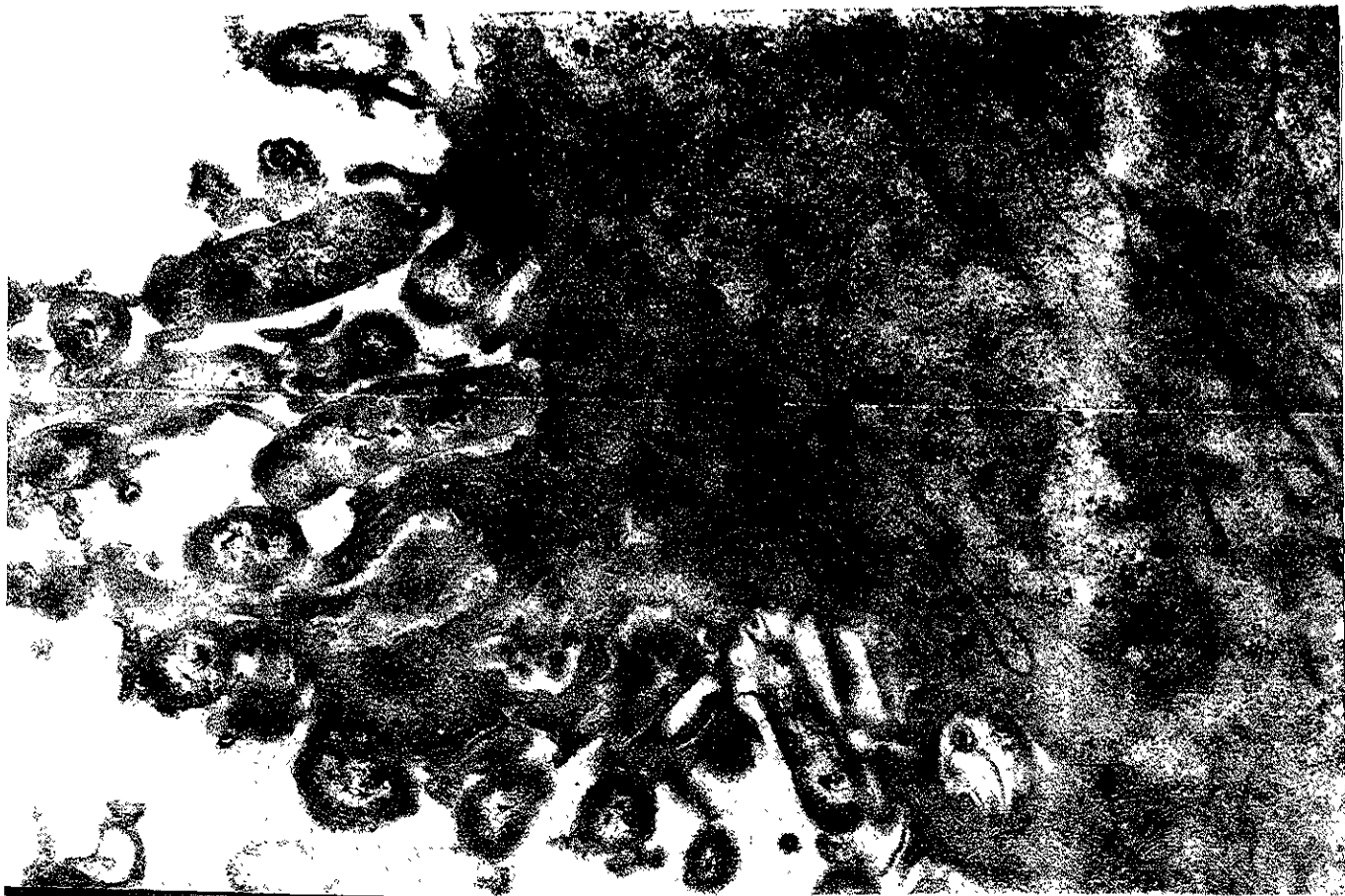


Fig. 24. Micrografía de una célula digestiva ventricular de *Periglischrus* sp. nov. a) núcleo, b) mitocondrias, c) retículo endoplásmico liso y d) bacterias. Contraste uranilo-plomo (12 500X)



Conclusiones



Una contribución importante de este trabajo es la compilación de la información bibliográfica referente a la morfología de los ácaros de la familia Spinturnicidae, la cual se encontraba dispersa y que después de una revisión bibliográfica exhaustiva, se logró reunir pudiendo elaborar un tratado anatómico de los espinturnícidos.

Además se corroboró la importancia taxonómica de algunas estructuras como las fóveas observadas en el escudo dorsal de *Spinturnix sp*, las líneas transversales de la placa esternal de *Cameronieta*, las ornamentaciones cuticulares de la placa esternogenital con patrón de glifos "mayas" presentes en machos de *Spinturnix sp*, especie endémica del país, y el espermadáctilo de tamaño corto de ésta misma especie.

Por otro lado se logró estandarizar la técnica de

Microscopía Electrónica de Transmisión para ácaros Spinturnicidae parásitos de murciélagos, en donde el principal obstáculo fue la cutícula que recubre el idiosoma de éstos ácaros, ya que impide la penetración o paso de los fijadores y la cual se superó cortando el idiosoma.

Asimismo se describe la ultraestructura de las células epidérmicas del integumento de los Spinturnicidae y se caracterizan sus gránulos nucleares los cuales son de naturaleza ribonucleoproteica que se comprobó con una tinción preferencial de EDTA. Finalmente se describe la ultraestructura de las células digestivas del ventrículo de las que existen algunos antecedentes con toma de imágenes, como el trabajo de Evans (1992), quien hace mención de ellas y muestra una micrografía a poco aumento de los ciegos gástricos que entran en una pata, sin describir su ultraestructura.

Literatura Citada



- COONS, L.B., M.A. ROSHDY & R.C. AXTELL. 1974. Fine structure of the central nervous system of *Dermacentor variabilis* (Say), *Amblyomma americanum* (L.) and *Argas arboreus* Kaiser, Hoogstraal and Kohls (Ixodoidea). *J. Parasitol.*, 60:687-698.
- COONS, L.B. 1978. Fine Structure of the Digestive System of *Macrochels muscaedomesticae* (Scopoli) (Acarina: Mesostigmata). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 7(2):137-153.
- CRUZ, J. DE LA & A. ESTRADA-PEÑA. 1992. A simple new improved method for preparing ticks for examination by scanning electron microscopy. *Acarología*, 33(4):321-323.
- CRUZ, J. DE LA & A. ESTRADA-PEÑA. 1995. Four New Species of *Antricola* Ticks (Argasidae: Antricolinae) from bat Guano in Cuba and Curacao. *Acarología*, 36(4): 412-417.
- DORESTE, E. 1984. *Acarología*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, San José Costa Rica. 391 pp.
- DEUNFF, J. 1982a. Observations en Microscopie Électronique a Balayage sur la Famille des Spinturnicidae (Acarina, Mesostigmata). I: Morphologie Générale *Acarologia*, 23(2):103-111.
- DEUNFF, J. 1982b. Observations en Microscopie Électronique a Balayage sur la Famille des Spinturnicidae (Acarina, Mesostigmata). II: Ultrastructure de l'organe tarsal *Ann Parasitol.*, 57(2) 169-178.
- DEUNFF, J. 1986. Observations en Microscopie Électronique a Balayage sur la Famille des Spinturnicidae (Acarina, Mesostigmata). III: Ultrastructure du Gnatosoma. *Acarologia*, 27(2):99-105.
- DOUGLAS, J.R. 1943. The Internal Anatomy of *Dermacentor andersoni* Stiles. *Univ. Calif. Publ. Entomol.* 7:207-272.

- DUSBABEK, F. 1968. Los Acaros Cubanos de la Familia Spinturnicidae (Acarina), con Notas Sobre su Especificidad de Hospederos. *Poeyana, A*; 57:1-33.
- EVANS, G.O. 1968. The External Morphology of the Post-Embryonic Developmental Stages of *Spinturnix myoti* Kol. (Acari: Mesostigmata). *Acarologia*, 10(4):589-608.
- EVANS, G.O. 1992. *Principles of Acarology*. CAB International. 563 pp.
- FURMAN, D.P. 1966. The Spinturnicid mites of Panama. In: R.L. Wenzel & V.J. Tipton (Eds.). *Ectoparasites of Panama. Field Mus. Nat. Hist. U.S.A.* pp. 125-166.
- GONZALEZ, S.R. 1968. *Técnicas de Microscopía Electrónica en Biología*. Edit. Aguilar. pp:15-511.
- GUERRERO, R. & J.B. MORALES-MALACARA. 1996. Streblidae (Diptera: Caliptratae) parásitos de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) cavernícolas del centro y sur de México, con descripción de una especie nueva del género *Trichobius*. *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. Méx. Ser. Zool.*, 67(2):349-365.
- GVINSTONE, A.V. 1981. *El microscopio electrónico en Biología* Ed. Omega, Barcelona. 62 pp.
- HACKMAN, R.H. 1982. Structure and function in ticks cuticle. *Ann. Review Entomol.*, 27:75-95.
- HARWOOD, R. & M. JAMES. 1987. *Entomología Médica y Veterinaria*. Limusa, Méx.
- HERRIN, C.S. & V.J. TIPTON. 1975. Spinturnicid mites of Venezuela (Acarina: Spinturnicidae). *Brigham Young Univ. Sci. Bull., Biol. Ser.*, 20(2):1-127

- HUGHES, T.E. 1950. The physiology of the alimentary canal of *Tyroglyphus fariane*. *Q. J. Microsc. Sci.* 91:45-61.
- HUGHES, T.E. 1954. Some histological changes which occur in the gut epithelium of *Ixodes ricinus* females during gorging and up to oviposition. *Ann. Trop. Med. & Parasitol.*, 48: 397-404.
- IVANOV, V.P. 1979. Central nervous system. In: Balashov, Y.S. (Ed.), An Atlas of Ixodid Tick Ultrastructure. Nauka, Leningrad. Translation in: *Misc. Pub. Entomol. Soc. Am.* (1983):175-190.
- JIMENEZ-GARCIA, L.F., L.T. AGREDANO-MORENO, M.L. SEGURA-VALDEZ, O.M. ECHEVERRIA, E. MARTINEZ, C.H. RAMOS & G.H. VAZQUEZ-NIN. 1992. The ultrastructural study of the interphase cell nucleus of *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae: Triuridales) reveals a non-typical extranucleolar particle. *Biol. Cell.*, 75:101-110.
- KRANTZ, G.W. 1978. *A Manual of Acarology*, 2a. ed. Oregon State University Book Stores, Inc. Corvallis.
- KUO, J.S. & H.H.J. NESBITT. 1970. The internal morphology and histology of adult *Caloglyphus mycophagus* (Megnin) (Acarina: Acaridae). *Can J. Zool.* 48:505-518.
- LEES, A.D. 1947. Transpiration and structure of epicuticle in ticks. *J. Exp. Biol.*, 23:379-410
- MERCER, E.H. & M.S.C. BIRBECK 1974. *Manual de Microscopía Electrónica para Biólogos* 3a. ed. Edit Blume. pp:4-42.
- MORALES-MALACARA, J.B. 1996. Mesostigmatid (Mesostigmata) Ectoparasites of Bats in Mexico. In: R. Mitchel, D.J. Horn, G. Needham & W.C. Welbourn (Eds.). *Acarology IX.- Proceedings Ohio Biological Survey, Columbus, Ohio.* pp. 105-108.

- MORALES-MALACARA, J.B. & R. LOPEZ-W. 1998. New species of the Genus *Spinturnix* (Acari: Mesostigmata: Spinturnicidae) on *Corynorhinus mexicanus* (Chiroptera: Vespertilionidae) in Central Mexico. *J. Med. Entomol.*, 35: en prensa.
- MOTHES, U. & K.A. SEITZ. 1981. Functional Microscopic Anatomy of the Digestive System of *Tetranychus urticae* (Acari, Tetranychidae). *Acarologia*, 22{3}:257-270.
- NEVILLE, A.C. 1975. *Biology of Arthropod Cuticle*. Springer Verlag, Herdelberg.
- OBENCHAIN, F.D. 1974. Structure and anatomical relationships of the synganglion in the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *J. Morphol.*, 142::205-224.
- PANIAGUA, R. & M. NISTAL. 1983. *Introducción a la Histología Animal Comparada*. Edit. Labor Universitaria, pp. 438.
- RADOVSKY, F.J. 1985. *Evolution of Mammalian Mesostigmatate Mites*. In: K.C. Kim (Ed.). *Coevolution of Parasitic Artropods and Mammals*. J. Wiley & Sons, Inc U.S.A. pp. 441-504.
- ROHDE, C.J. & D.A. OEMICK. 1967. Anatomy of the digestive and reproductive systems in an acarid mite (Sarcoptiformes). *Acarologia*, 9{3}:608-616.
- ROESLER, R. 1934. Histologishe, Physiologishe und Serologishe Untersuchung über die Verdauung bei der Zeckengattung *Ixodes* Latr. *Zeitschrift Morphol. Ökol. der Tiere*, 28:297-317.
- RUDNICK, A. 1960. A revision of the mites of the family Spinturnicidae (Acarina). *Univesity of California Publications in Entomol.*, 17{2}:157-284.



- SCHULZE, P. 1942. Über die Hautsinnesorgane der Zecken besonders über eine bisher unbekannte Art von Arthropoden-Sinnesorganen, die Krobylophoren. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere*, 39:379-419.
- TEEL, P.D. 1985. *Offprints from Livestock Entomology*. In: Williams, R.E., R.D. Hall, A.B. Bronce & P.J. Scholl (Eds.). Ticks. John Wiley & Sons, Inc. pp. 129-149.
- TSVILENEVA, V.A. 1964. The nervous structure of the ixodid ganglion. *Zool. Jahrbuecher, Abteilung für Anatomie und ontogenie der Tiere*, 81:579-602.
- UCHIKAWA, K., M. Y. ZHANG, B. M. CONNOR, & H. KLOMPEN. 1994. Contribution to the taxonomy of the genus *Spinturnix* (Acari: Spinturnicidae), with the erection of a new geus, *Emballonuria*. *Folia Entomol.*, 41:287-304.
- WIGGLESWORTH, V.B. 1961. *The principles of Insect Physiology*, 5a. ed. Methven, London.
- WOLFE, S.L. 1977. *Biología de la célula*. Ediciones Omega, S.A. pp:43-63.
- YALVAC, S. 1939. Histologische Untersuchungen über die Entwicklung des Zeckenadultus in der Nymph. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere*, 35:535-585.
- YUNKER, C. & M.B. CHITWOOD, M. 1972. Note on the occurrence of larval filarie in a mite parasitic on bats. *Acarologia*, 14:530-532.
- 