Revista Ibérica de Aracnología, nº **25** (31/12/2014): 103–105.
Grupo Ibérico de Aracnología (S.E.A.). ISSN: 1576 - 9518.

Nota sobre larvas de Hydrachnidia (Acari) parasitando insectos

José-Marín Sánchez Murillo[1], Pedro María Alarcón-Elbal[2], Ricardo García-Jiménez[3] & Antonio G. Valdecasas[3]

[1] Departamento de Parasitología. Laboratorio Regional de Sanidad Animal. Camino de Sta. Engracia s/n. 06007 Badajoz, España. – josemarin.sanchez@gobex.es
[2] Departamento de Patología Animal. Unidad de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. c/Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza, España. – pedro.alarcon@uv.es.
[3] Museo Nacional de Ciencias Naturales. c/José Gutiérrez Abascal 2. 28006 Madrid, España. – rgarcia@mncn.csic.es – valdeca@mncn.csic.es

Resumen: La mayoría de los ácaros acuáticos (Parasitengona, Hydrachnidia) son parásitos en sus estadios larvales, principalmente de insectos acuáticos. Sin embargo, la taxonomía de este grupo se ha basado tradicionalmente en la morfología de los adultos. El mayor conocimiento de la morfología de larvas obtenidas de individuos adultos establecidos en el laboratorio ha permitido que un gran número de estas especies de ácaros puedan ser identificados en esta etapa. Además, el ADN puede extraerse y secuenciarse, lo que permite disponer de ambos conjuntos de datos para estudios comparativos, epidemiológicos o funcionales. En el presente trabajo sugerimos un protocolo para el manejo de este interesante material entomológico.
Palabras clave: Acari, Hydrachnidia, *Piona carnea*, parásito, quironómido, España.

A note on Hydrachnidia larvae parasitising insects
Abstract: The majority of water mites (Parasitengona, Hydrachnidia) are parasitic in their larval stage, mainly on aquatic insects. However, the taxonomy of the order has traditionally been based on adult morphology. The increasing knowledge of larval morphology obtained from individuals reared from adults maintained in the lab now makes it possible to identify a great number of water mite species at this stage. Besides, DNA can be extracted and sequenced, and therefore two sets of data can be available for comparative, epidemiological or functional studies. We suggest herewith a protocol to deal with this interesting but delicate material.
Key words: Acari, Hydrachnidia, *Piona carnea*, parasite, chironomid, Spain.

Introducción

Los ácaros acuáticos (Parasitengona, Hydrachnidia) son una clade altamente diversificada presente en todos los medios acuáticos. La inmensa mayoría de las especies tienen una fase parásita, sobre todo de insectos, en el estadio de larva. De entre éstos, existe una relación estrecha entre los hidrácaros y algunos dípteros, en su mayoría nematóceros (ver Smith y Oliver, 1986, para una revisión exhaustiva), con los cuales no solamente se comportan como parásitos, sino también como depredadores durante sus etapas de ninfa y adulto.

Hasta hace unas décadas toda la literatura diagnóstica de especies estaba basada en el estadio adulto. Sin embargo, cada vez más se cuenta con especies debidamente documentadas en el estadio de larva e incluso con claves de identificación a especies, en algunos casos. Esta identificación larvaria abre una nueva fuente de información no sólo sobre la distribución biogeográficas de estos organismos, sino también de sus interacciones ecológicas.

Material y Métodos

Enmarcados dentro del Programa Nacional de Vigilancia Entomológica de Lengua Azul en Extremadura, se realizaron muestreos periódicos en 2011 mediante el uso de trampas tipo CDC Miniature light trap (Modelo 512; John W. Hock Company, Gainesville, Florida, USA), las cuales se caracterizan por estar dotadas de un dispositivo lumínico que actúa como atrayente. Si bien el objeto principal de este muestreo fue conocer las poblaciones de los dípteros del género *Culicoides* Latreille, 1809, entre otras razones, por ser vectores del virus de la lengua azul, otros muchos insectos de actividad crepuscular y nocturna con fototropismo positivo fueron también atraídos por estas trampas. Entre los grupos de dípteros más comunes encontrados en las trampas de luz figuran, además de los Ceratopogonidae, miembros de otras familias como Culicidae, Psychodidae, Sciaridae, Cecidomyiidae o Chironomidae, entre otros (González & Goldarazena, 2011). Ciertos ejemplares no ceratopogónidos de interés fueron montados mediante el sistema portaobjetos/cubreobjetos, utilizando líquido de Hoyer como medio de montaje, con objeto de realizar un estudio detallado y minucioso de los mismos.

La visualización de estas preparaciones se realizó con un microscopio Nikon Eclipse 80i y las fotografías tomadas con una cámara Canon Power Shot S-50 a través del ocular. Para la obtención de material gráfico de mayor calidad, se produjeron 'pilas' de imágenes con un Microscopio Laser Confocal de Barrido (LCSM), Leica modelo SPE con 488 nm de longitud de onda en excitación y entre 546 nm y 618 nm de longitud de onda de emisión. Los objetivos utilizados 20x AN 0.70 y 40x AN 0.75; ambos objetivos trabajando en seco. Se ha aprovechado en todo momento la autofluorescencia natural de la larva para la adquisición de las imágenes.

La pila de imágenes ha sido analizada con AMIRA y FIJI/IMAGEJ, produciendo una imagen única por Proyección de Máxima Intensidad (MIP). Las imágenes no han sido sometidas a ningún tipo de retoque.

Resultados y discusión

En una muestra recogida el 17 de junio de 2011 en el término municipal de Barcarrota, provincia de Badajoz (UTM: 29S 0687159 4260881 - 404 m.s.n.m.), se encontró un díptero no ceratopogónido parasitado por un ácaro en estadio larval a nivel de la membrana pleural, entre los segmentos abdominales I y II (Fig. 1).

El insecto hospedador se trata de un quironómido (Diptera, Chironomidae) macho perteneciente al género *Polypedilum* Kieffer, 1912 y al subgénero *Tripodura* Townes, 1946 (Maschwitz & Cook, 2000), como así prueba el estudio de las estructuras básicas de la cabeza, tórax, tibias y sobre todo hipopigio, donde destaca una volsella superior característica cubierta de microtricos, almohadillada y sin forma de gancho en la cual es distintiva la ausencia de la seda apical y una punta anal expandida distalmente (Vårdal *et al*., 2002). Este subgénero comprende 135 especies a nivel mundial, de las cuales 14 se pueden encontrar a nivel de la región Euro-Mediterránea (Vårdal *et al*., 2002).

La identificación específica de los imagos de este grupo se ha basado históricamente en el estudio de la coloración, la estructura de la genitalia y las alas (Langton & Pinder, 2007). En lo que respecta a este último, suele presentarse un patrón alar característico, en ocasiones débilmente marcado si bien en la mayoría de la veces se presentan manchas oscuras y una membrana alar normalmente sin macrotricos (Vårdal *et al*., 2002). El ejemplar se encontró con las alas dañadas por lo que el estudio del patrón y la venación alar no pudo llevarse a cabo, como tampoco el estudio de la coloración al estar conservado en alcohol etílico al 70%, al igual que todos los individuos procedentes de estas muestras. En consecuencia, la identificación a nivel de especie fue imposible.

Por su parte, la larva de hidrácaro muestra un aspecto globular. La superficie dorsal presenta un escudo ovoide que se estrecha hacia la parte delantera, orillando la zona ocular (Fig. 2, con sus correspondientes cuatro pares de sedas, no todas distinguibles en la imagen). La parte ventral presenta una placa excretora con una proyección posterior bilobulada (Fig. 3). Esta morfología junto con la disposición de sedas en las coxas, en la placa excretora y alrededor de ella coinciden con las características diagnósticas de *Piona carnea* (Koch, 1836), Pionidae (ver Prasad & Cook, 1972).

La identificación molecular mediante DNA Barcoding (Hebert *et al*., 2003), tanto del insecto hospedador como de la larva de *P. carnea*, no se pudo realizar. Ambos ejemplares se encontraban montados de forma permanente para su observación en microscopía, las características de dicho medio imposibilitaron la realización de un procedimiento de extracción de ácidos nucleicos. El montaje en medio Hoyer, aun siendo frecuente, no es el más adecuado a la hora de realizar estudios los cuales impliquen la aplicación de técnicas de biología molecular. Debido a la importancia de recopilar la mayor cantidad de información (Valdecasas *et al*., 2014), tanto desde un punto de vista morfológico como molecular de los ejemplares obtenidos en un muestreo, se hace necesario un manejo adecuado de la muestra. Hoy en día es posible realizar un montaje temporal de la muestra, idealmente en glicerina mediante un sistema de doble porta, el cual permite la visualización ventral y dorsal de la muestra mediante microscopia óptica. Posteriormente el ejemplar puede ser removido de la preparación temporal, conservarse en etanol absoluto hasta realizar el procedimiento de extracción de ADN no destructivo. Dicho procedimiento de extracción permite recuperar el "voucher" intacto (Valdecasas & Abad, 2011) , el cual puede ser montado posteriormente de forma permanente en gelatina de glicerina (Cook, 1974). Debido a los problemas encontrados al realizar el estudio de las muestras del presente trabajo, se anima a los investigadores a que, una vez tomados los datos e imágenes que consideren adecuadas, pasen el ejemplar a etanol absoluto para su posterior estudio, medio de conservación que permite el manejo de la muestra tanto a nivel de técnicas de microscopia óptica como de biología molecular.

Finalmente, es interesante mencionar que *P. carnea* es una de las alrededor de 30 especies de ácaros acuáticos que ha sido registrada tras haber perdido su fase parásita (Smith, 1998). En este punto habría que matizar que, posiblemente, su caso se asemeje a *Piona nodata* (Müller, 1776), cuya hembra produce dos tipos de huevos, uno con menos vitelo, que da lugar a larva parásita y otra con más vitelo, que le permite superar el parasitismo.

Bibliografía

COOK, D. R. 1974. Water mite genera and subgenera. *Memoirs of the American Entomological Institute*, **21**: 1-860.

GONZÁLEZ, M. & A. GOLDARAZENA 2011. *El género Culicoides en el País Vasco. Guía Práctica para su identificación y control*. Ed. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco: Vitoria-Gasteiz. 247 pp.

HEBERT, P. D. N., A. CYWINSKA, S. L. BALL & J. R. DEWAARD 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **270:** 313-321.

LANGTON, P.H. & L.C.V. PINDER 2007. *Keys to the adult male Chironomidae of Britain and Ireland. Vol. 1 Introductory text, keys, references checklist and index, Vol. 2 Illustrations of the hypopygia.* Freshwater Biological Association Sci. Pub. 64. Vol. 1 1-239, Vol. 2 1-168.

MASCHWITZ, D.E. & E. F. COOK 2000. Revision of the Nearctic species of the genus *Polypedilum* Kieffer (Diptera: Chironomidae) in the subgenera *P.* (*Polypedilum*) and *P.* (*Uresipedilum*) Oyewo and Sæther. *Bulletin of the Ohio Biological Survey, New Series*, **12**: 1-135.

PRASAD, V. & D. R. COOK. 1972. The taxonomy of water mite larvae. Memoirs of the American Entomological Institute, **18:** 1-326.

SMITH, B. P. 1998. Loss of larval parasitism in parasitengonine mites. *Experimental & Applied Acarology*, **22**: 187-199.

SMITH, I.M. & D.R. OLIVER 1986. Review of parasitic associations of larval water mites (Acari: Parasitengona: Hydrachnida) with insect hosts. *The Canadian Entomologist*, **118**(05): 407-472.

VALDECASAS, A. G. & A. ABAD 2011. Morphological confocal microscopy in arthropods and the enhancement of autofluorescence after proteinase K extraction. *Microscopy and Microanalysis*, **17:** 109-113.

VALDECASAS, A. G., M. L. PELÁEZ & Q. D. WHEELER 2014. What's in a (biological) name? The wrath of Lord Rutherford. *Cladistics*, **30:** 215-223.

VÅRDAL, H., A. BJØRLO & O. A. SÆTHER 2002. Afrotropical *Polypedilum* subgenus *Tripodura*, with a review of the subgenus (Diptera: Chironomidae). *Zoologica Scripta*, **31**: 331-402.

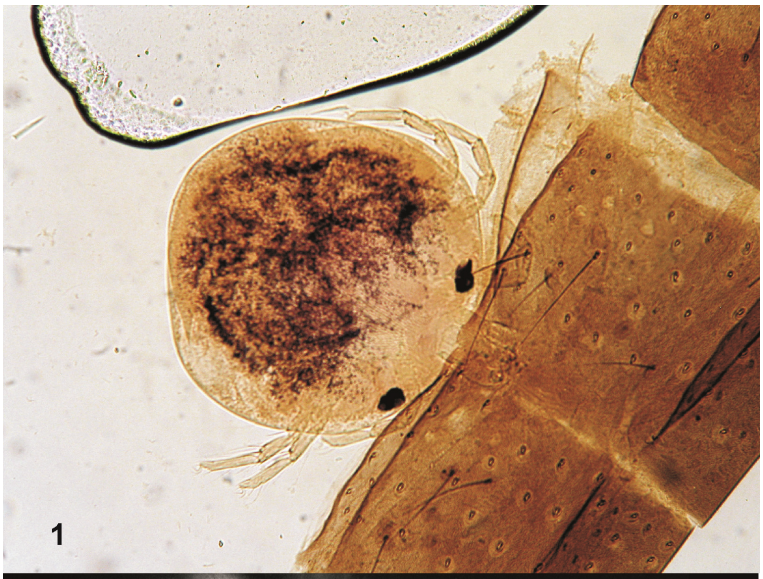


Fig. 1. Larva de *Piona carnea* adherida a los segmentos abdominales del quironómido.

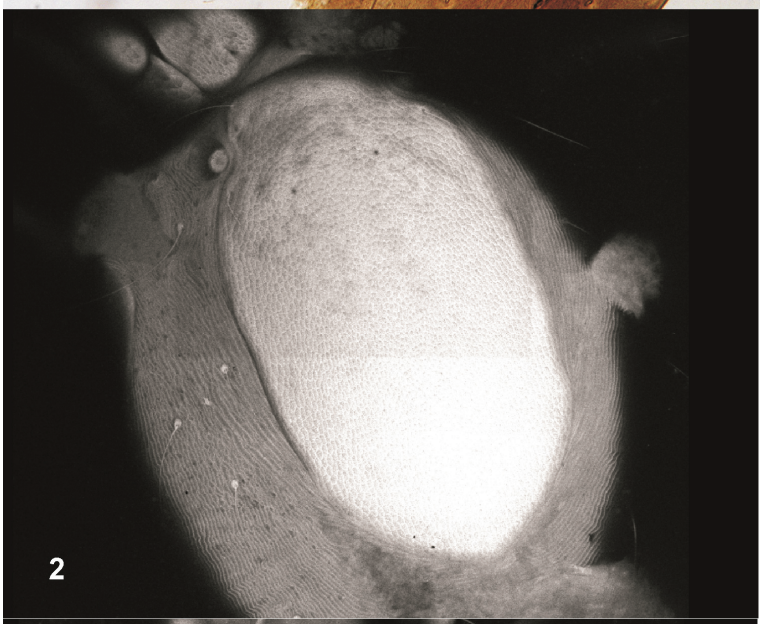


Fig. 2. Larva de *Piona carnea*, visión dorsal obtenida con LCSM.

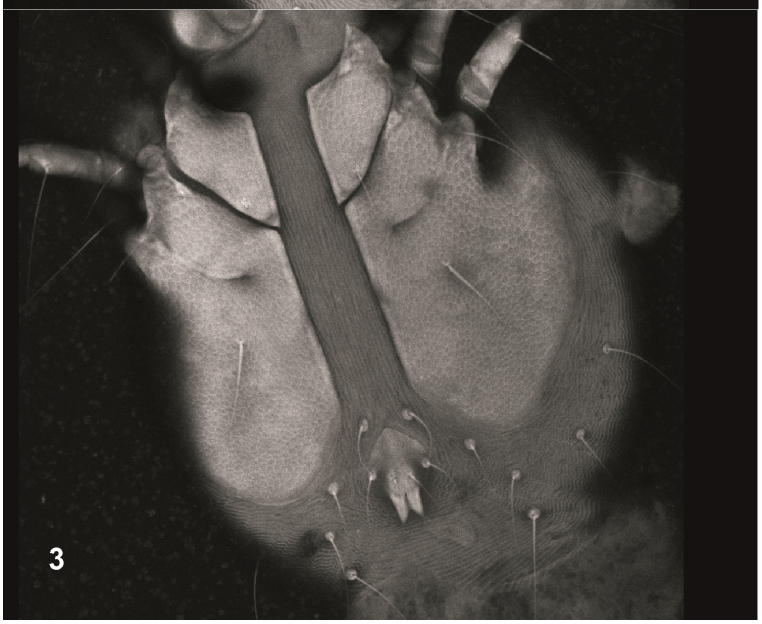


Fig. 3. Larva de *Piona carnea*, visión ventral obtenida con LCSM.