

Primer reporte de un microsporidio parasítico en larvas de *Hylesia metabus* Cramer, 1775 (Lepidoptera: Saturniidae)

Frances Osborn

Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas, Apdo. 245, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, Estado Sucre, Venezuela. E-mail: fosborn2001@yahoo.com

Resumen

OSBORN F. 2002. Primer reporte de un microsporidio parasítico en larvas de *Hylesia metabus* Cramer, 1775 (Lepidoptera: Saturniidae). *Entomotropica* 17(2):185-188.

Se reporta por primera vez la presencia de un microsporidio en larvas de *Hylesia metabus* Cramer, 1775, colectadas de los manglares cerca del pueblo de Yaguaraparo, Municipio Cajigal, Estado Sucre. El microsporidio tiene características similares a las del género *Orthosomella*: son uninucleares y en contacto directo con el citoplasma del hospedero, la espora es cilíndrica y el filamento polar es isofilar. Sin embargo, falta información sobre el tipo de esporogénesis en la especie nueva lo que es diagnóstico para *Orthosomella*. Por lo tanto se propone que la especie sea colocada como "cercana a" *Orthosomella*.

Palabras clave adicionales: Entomopatógeno, parasitismo, Protozoa.

Abstract

OSBORN F. 2002. First report of a parasitic microsporidium of *Hylesia metabus* Cramer, 1775 larvae (Lepidoptera: Saturniidae). *Entomotropica* 17(2):185-188.

A first report is made of a microsporidium from *Hylesia metabus* Cramer, 1775 larvae, collected from mangrove swamps close to the village of Yaguaraparo, Municipio Cajigal, Sucre state. The microsporidium shares some characteristics with *Orthosomella*: they are uninuclear and in direct contact with the host cytoplasm, the spore is cylindrical and the polar filament is isofilar. Nevertheless, information about the type of sporogony is lacking, which is diagnostic for *Orthosomella*. I therefore propose that the species be placed as "near" *Orthosomella*.

Additional key words: Entomopathogen, parasitism, Protozoa.

Introducción

Hylesia metabus es una mariposa nocturna distribuida principalmente en el nor-este de Venezuela. Las hembras adultas poseen setas urticantes que causan una dermatitis severa (Vásquez 1990).

Durante un estudio acerca de la ecología de *H. metabus* se observó que en los estadios avanzados, las larvas a veces mostraron síntomas que evidencian la presencia de un microsporidio. Las larvas infectadas, aunque seguían alimentándose y aparentemente eran saludables, no cambiaron de estadio y eventualmente murieron. Los microsporidios son parásitos protozoarios que atacan diferentes grupos de insectos, además de otras especies de invertebrados y vertebrados.

En este estudio se reporta la presencia de un microsporidio en larvas de *H. metabus*.

Materiales y Métodos

Se colectaron larvas del segundo estadio de *Hylesia metabus* en zonas de Manglar, ubicadas en los alrededores de Yaguaraparo, Municipio Cajigal, Estado Sucre (lat 10° 35' N – long 62° 43' O) y se trasladaron al Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas (IIBCA-UDO). Una vez allí se colocaron en recipientes plásticos de 15 x 30cm, 50 larvas por recipiente. Diariamente se alimentaron las larvas con hojas frescas de su planta hospedera *Rhizophora mangle*, reemplazando las hojas viejas.

De algunas larvas infectadas se tomó un frotis del intestino sobre un portaobjeto y se dejó secar. Se montaron las muestras con Bálsamo de Canadá, y se cubrieron con cubreobjetos limpios. Los microsporidios fueron observados con un microscopio Zeiss, Axioscop.

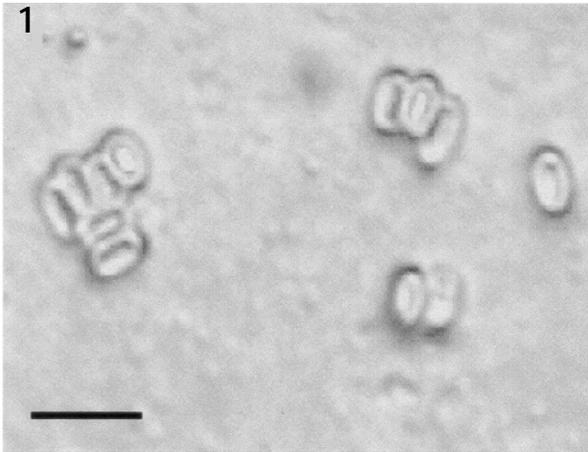


FIGURA 1. Preparaciones de los frotis mostrando las esporas frescas. Barra = 10 μ m.

Algunos intestinos de larvas infectadas se prepararon para microscopía electrónica de transmisión. Para ello se extrajeron los intestinos medios, se cortaron en trozos de 1mm y se sumergieron inmediatamente en fijador fresco (glutaraldehído al 2,5% y paraformaldehído al 1%) en solución buffer fosfato, pH 7,2 y 260 mOsm/l. Después de tres lavados con solución buffer fosfato pH 7,2, se postfijaron los intestinos en una solución de Teróxido de Osmio (OsO_4) al 1% en solución buffer fosfato durante 90 minutos, y luego los tejidos se lavaron en buffer fosfato tres veces. Se deshidrataron en una serie creciente de etanol (Stobbart y Shaw 1964; Crossley y Waterhouse 1969; Lu y Chow 1991). Las muestras, después de la deshidratación, fueron infiltradas con óxido de propileno, para luego ser incluidas en resina epóxica Polybed 812, e incubada a 60°C por 48 horas. Se realizaron cortes ultra finos, de 60-70nm, con un ultra micrótopo Reichart - Jung, y se tiñeron con acetato de uranilo al 6% por cinco minutos y citrato de plomo por tres minutos. Las observaciones y tomas fotográficas se hicieron en un microscopio electrónico de transmisión, Hitachi H-600.

Resultados

En las preparaciones de los frotis, se pudo observar las esporas frescas de los microsporidios. Eran cilíndricas y midieron 3,9 – 4,7 x 2,3 – 3,1 μ m, n = 50 (Figura 1). A nivel ultraestructural se pudo observar los microsporidios en diferentes etapas de desarrollo (Figura 2). Todas las etapas estaban en contacto directo con el citoplasma. Los esquizontes eran uninucleares con un nucleolo definido, y un citoplasma denso. Los esporontes también presentaron un nucleolo pero el citoplasma era menos electrón denso. Los esporoblastos tempranos se distinguían de los esquizontes y esporontes



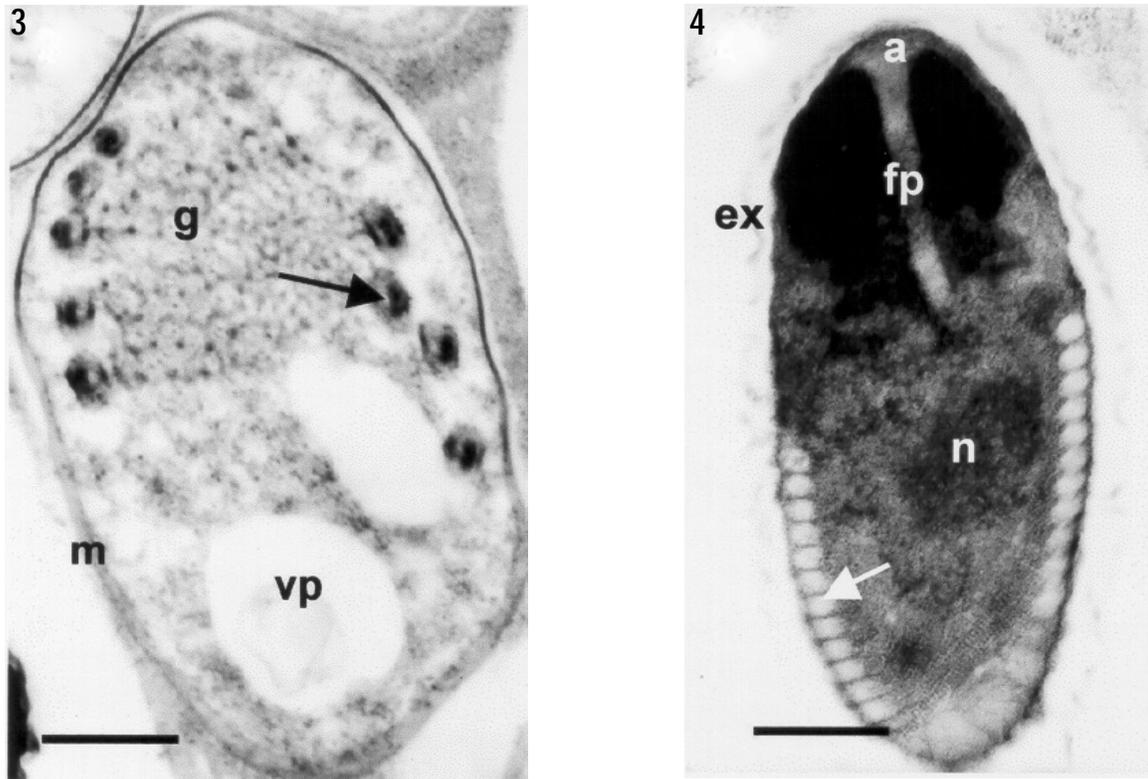
FIGURA 2. Vista general de las diferentes etapas de desarrollo del microsporidio, **sc**: esquizonte, **n**: núcleo, **N**: nucleolo, **sp**: esporonte, **sb**: esporoblasto, **es**: espora. Barra = 2 μ m.

en que la membrana era separado del citoplasma del hospedero y por no presentar un nucleolo. Algunos de estos esporoblastos presentaron un filamento polar de hasta cinco anillos, entre el cual se pudo observar un aparato de golgi (Figura 3). En uno de los esporoblastos se pudo observar un aparato de anclaje primordial (Figura 2). Los esporoblastos maduros eran muy electrón-densos y presentaron un aspecto crenado (Figura 2). En la figura 4 se muestra una espora madura. La membrana de la espora está compuesta de tres capas, una exoespora ondulante de grosor variable, una endoespora translúcida y una membrana. El disco de anclaje midió 0,18 μ m en la base. La espora era uninuclear, con un filamento polar isofilar, de 12 anillos, cada anillo midiendo 0,06 μ m en diámetro. La vacuola posterior era pequeña e indistinta.

Discusión

El microsporidio descrito aquí no corresponde con los géneros de microsporidios parasíticos más comunes en Lepidoptera, *Nosema* Naegeli, 1857 y *Vairimorpha* Pilley, 1976, debido a que éstos tienen núcleos diplocarióticos en todos las etapas de desarrollo (Undeen y Vávra 1997; Canning et al. 1999). Sin embargo, tiene características similares a las del género *Orthosomella* Canning, Wigley y Barker 1991. Estos son: un solo núcleo en los esquizontes, esporontes y esporas, la espora madura tiene una forma cilíndrica, el filamento polar es isofilar, el microsporidio está en contacto directo con el citoplasma del hospedero (no tiene vesícula esporífera) e infecta los tejidos del intestino (Canning et al. 1985).

El género *Cystosporogenes* también comparte algunas de las características mencionadas, pero éste tiene como característica diagnóstica la presencia de un vesículo esporoífera (ausente en esta especie) (Canning et al. 1985).



FIGURAS 3-4. 3. Detalle de una esporoblasto, **m**: membrana, **g**: golgi, **vp**: vacuola posterior, flecha: anillo del tubo polar. Barra 0,2 μ m. 4. Detalle de una espora madura, **ex**: exospora, **fp**: filamento polar, **a**: disco de anclaje, **n**: núcleo, **flecha**: anillo del filamento polar. Barra = 0,4 μ m.

A pesar de las características compartidas con el género *Orthosomella* hay algunas dudas que hace que la colocación de esta especie sea tentativa. No hay información sobre el tipo de esporogénesis en la especie nueva, lo que es una característica diagnóstica de *Orthosomella* el cual desarrolla una esporogénesis polisporoblástica y monofiliforme, es decir, los esporontes se dividen varias veces en forma de una cadena para después desarrollarse en esporoblastos (Canning et al. 1985). Además, otros caracteres ultraestructurales, como por ejemplo la presencia de una membrana electrón-densa que cubre los esquizontes está presente en *O. operophtherae* (la especie tipo) (Canning et al. 1985) pero no en esta especie, aunque otros autores han sugerido que éste no se debe considerar como un carácter diagnóstico (Andreadis et al. 1996).

En general la taxonomía de los microsporidios parásitos de los insectos es una ciencia todavía muy joven y hay pocos reportes de microsporidios, especialmente en los lepidópteros. Debido a eso, las descripciones de los géneros se basan en muy pocas especies y están en continua revisión. Por lo tanto, se propone que la nueva especie sea colocada tentativamente como una especie cercana a *Orthosomella*.

Sin embargo, debido a que éste es el primer reporte de un microsporidio de una especie de Lepidoptera en Venezuela y el primer reporte de un microsporidio en larvas de *H. metabus*, es probable que represente una nueva especie para la ciencia. Se están realizando los estudios necesarios para lograr una mejor identificación de este parásito.

Agradecimientos

A la Dra. Lucila Arcay (Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela, Caracas) por comentarios que ayudaron a mejorar una primera versión del manuscrito. A TSU Antonio Gómez y Lic. Gilma Hernández por ayuda técnica en la preparación de las muestras para microscopía electrónica de transmisión. Este trabajo fue financiado en parte por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, proyecto No. CI-5-1901-0957/00 y por el CONICIT a través del FIR.

Referencias

- ANDREADIS T, MAIER C, LEMMON C. 1996. *Orthosomella lambdinae* n. sp. (Microsporidia: Unikaryonidae) from the Spring Hemlock Looper, *Lambdina athasaria* (Lepidoptera: Geometridae). J Invertebr Pathol 67: 169-177.
- BECNEL JJ, ANDREADIS TG. 1999. Microsporidia in Insects. En: Wittner M. y L. M. Weiss, editores. The Microsporidia and Microsporidiosis. Washington: ASM press. p 447-501.
- CANNING EU, BARKER RJ, NICHOLAS JP, PAGE AM. 1985. The ultrastructure of three microsporidia from winter moth, *Operophtera brumata* (L.), and the establishment of a new genus *Cystosporogenes* n. g. for *Pleistophora operophterae* (Canning, 1960). Syst Parasitol 7:213-225.
- CANNING EU, CURRY A, CHENEY S, LAFRANCHI-TRISTEM NJ, HAQUE MA. 1999. *Vairimorpha imperfecta* n.sp., a microsporidian exhibiting an abortive octosporous sporogony in *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). Parasitology 119:273-286.
- CANNING EU, WIGLEY PJ, BARKER RJ. 1983. The taxonomy of three species of microsporidia (Protozoa: Microspora) from an oakwood population of winter moths *Operophtera brumata* (L.) (Lepidoptera: Geometridae). Syst Parasitol 5:147-159.
- CANNING EU, WIGLEY PJ, BARKER RJ. 1991. *Orthosomella* nomen novum for the junior homonym *Orthosoma* Canning, Wigley and Barker, 1983. J Invertebr Pathol 58:464
- CROSSLEY AC, WATERHOUSE DF. 1969. The ultrastructure of the osmeterium and the nature of its secretion in *Papilio* larvae (Lepidoptera). Tissue and Cell 1(3):525-554.
- LU CC, CHOW YS. 1991. Fine structure of the larval osmeterium of *Papilio demoleus libanius* (Lepidoptera: Papilionidae). Ann of the Entomol Soc Am. 84(3): 294-302.
- STOBBART RH, SHAW J. 1964. Salt and water balance: excretion. En: Rockstein, editor. The Physiology of Insects, Vol. 3. New York: Academic. pp 189-235.
- UNDEEN AH, VÁVRA J. 1997. Research methods for entomopathogenic Protozoa. En: Lacey, L, editor. Manual of Techniques in Insect Pathology. London: Academic. pp 117-151.
- VÁSQUEZ. 1990. Estudio bioecológico y tácticas de control de la Palometa *Hylesia metabus* Cramer en el Oriente de Venezuela. Saber 3(1):14-20.