

ARTICULO BREVE

**Parasitismo por microsporidios (*Microspora*) en tres especies de mosquitos
(*Diptera: Culicidae*) de la Argentina**

María V. Micieli y Juan J. García

Centro de Estudios Parasitológicos y Vectores. CEPAVE. 2 N° 584 (1900) La Plata, Argentina.

(Rec. 7-VII-1995. Rev. 2-I-1996. Acep. 5-VI-1996)

Abstract: Three microsporidia species were found infecting mosquito larvae from two Argentine provinces: *Amblyospora* sp. in *Psorophora cyanoescens*, *Amblyospora* sp. in *P. varinervis* and *Parathelohania* sp. in *Anopheles triannulatus*. These microsporidia were distinguished on the basis of meiospore shape and size, and presumed host specificity.

Key words: Insect pathology, Culicidae, Microsporida, taxonomy, Argentina.

Parasitismo por microsporidios se ha citado en la mayoría de los taxones animales (Sprague 1977), siendo los principales protistas patógenos de insectos.

Los microsporidios figuran entre los parásitos más comunes en poblaciones naturales de mosquitos (Hazard & Chapman 1977, Castillo 1980, Daoust 1983), no obstante la información disponible sobre microsporidios de culícidos neotropicales es escasa (Camey-Pacheco 1968, Hazard & Anthony 1974, Hazard & Oldacre 1975).

En la Argentina los estudios de microsporidios de culícidos son recientes, conociéndose nueve especies nominadas (García & Camino 1990, García & Becnel 1994) y cuatro innominadas (García 1989).

Durante una prospección de parásitos de culícidos en dos provincias de la Argentina, Misiones y Buenos Aires, se encontraron larvas infectadas con microsporidios.

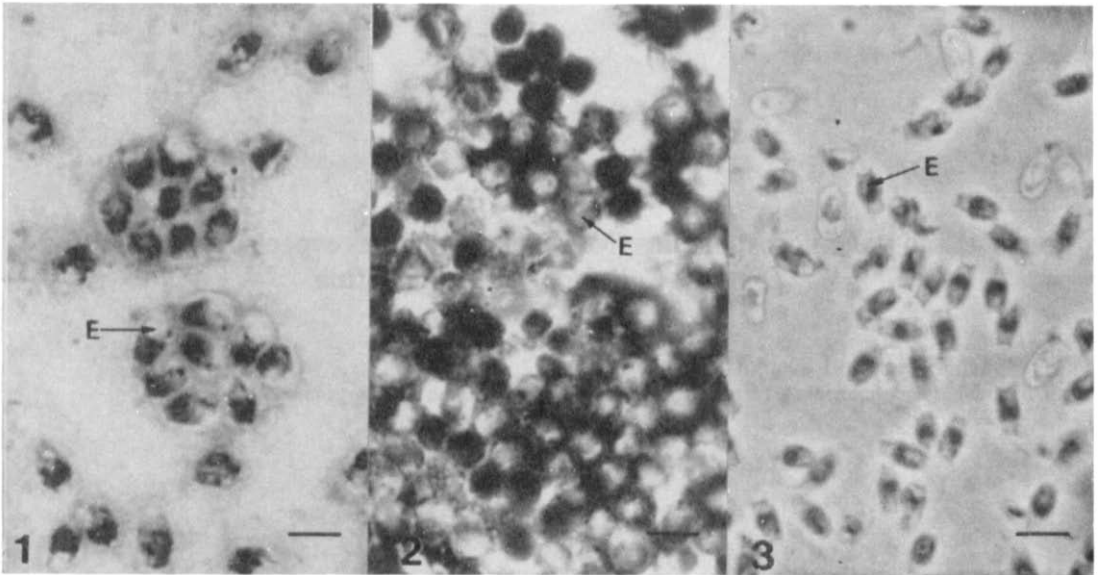
Los ejemplares parasitados se reconocieron por anomalías en el aspecto y coloración larval, visibles al microscopio estereoscópico.

Para la identificación de los microsporidios, se realizaron preparaciones en fresco de tejido parasitado entre porta y cubreobjetos y se observaron al microscopio óptico con contraste de fase. También se hicieron extendidos que luego de secados al aire y fijados con alcohol metílico, se colorearon con solución tamponada de Giemsa 10% (pH 7.41).

Se identificaron tres microsporidios parasitando larvas de tres especies de culícidos. Las observaciones al microscopio óptico de la secuencia esporogónica y/o las meiosporas permitieron asignar estos parásitos a los géneros heterospóricos *Amblyospora* Hazard & Oldacre, 1975 y *Parathelohania* Codreanu, 1966 (Larsson 1988).

Las etapas iniciales del desarrollo del parásito, merogonia, no se observaron en ninguno de los microsporidios debido al avanzado grado de infección que presentaron las larvas.

La secuencia esporogónica fue similar en los tres parásitos. Se observó una división meiótica de los esporontes tempranos, con formación de esporontes tetranucleados, los que luego de una mitosis producen esporontes



Figs. 1-3. Esporos (E) de microsporidios de mosquitos de la Argentina (Coloración de Giemsa). 1. *Amblyospora* sp. en *Psorophora cyanescens*. 2. *Amblyospora* sp. en *Psorophora varinervis*. 3. *Parathelohania* sp. en *Anopheles triannulatus*. Escala: 5 μ m.

ohtonucleados, finalizando con la formación de ocho meiosporas uninucleadas rodeadas por una envoltura interfacial.

Las larvas parasitadas presentaron aspecto similar. Se caracterizaron por la tonalidad blanca lechosa del tórax y abdomen, producto de la destrucción del tejido adiposo larval por acción del parásito. Los ejemplares infectados murieron en el cuarto estadio, luego de permanecer como larva un período más prolongado que los ejemplares sanos de igual edad.

Amblyospora sp. (Fig. 1)

Hospedador tipo: *Psorophora (Janthinosoma) cyanescens* (Coquillett 1902). Larvas de cuarto estadio.

Espora: Ovoides en fresco y colapsadas en el extremo posterior luego de fijadas y coloreadas. Midieron fijadas $5.8 \pm 0.2 \times 3.9 \pm 0.1 \mu\text{m}$ ($n=25$).

Localidad tipo: Cuerpos de agua temporarios a los lados de la Ruta Provincial N° 215, Km 25 entre las localidades de La Plata y Brandsen, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Observaciones: La prevalencia natural de la infección fue inferior a 1%. Larvas parasitadas se colectaron en febrero de 1995.

Amblyospora sp. (Fig. 2)

Hospedador tipo: *Psorophora (Grabhamia) varinervis* Edwards, 1922. Larvas de tercer estadio.

Espora: Ovoides en fresco y con el extremo posterior colapsado en esporas fijadas y coloreadas. Las esporas fijadas midieron $5,6 \pm 0,3 \times 3,5 \pm 0,2 \mu\text{m}$ ($n=25$).

Localidad tipo: Cuerpos de agua temporarios a los lados de la Ruta Provincial N° 215, Km 25 entre las localidades de La Plata y Brandsen, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Observaciones: La prevalencia natural fue inferior a 1%. Ejemplares parasitados se colectaron en abril de 1989.

Parathelohania sp. (Fig. 3)

Hospedador tipo: *Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus* (Neiva & Pinto, 1922). Larvas de cuarto estadio.

Espora: Ovoide elongado en fresco. Las esporas maduras fijadas presentan el extremo posterior modificado en forma de "cuello de botella". Las esporas fijadas midieron $4.2 \pm 0.5 \times 2.2 \pm 0.4 \mu\text{m}$ ($n=25$).

Localidad tipo: Cuerpos de agua permanentes en Puerto Iguazú, provincia de Misiones, Argentina.

CUADRO I

Especie	Hospedador	Esporo (μm)	Referencia
<i>Amblyospora albifasciati</i>	<i>Aedes albifasciatus</i> (fresco) $6.1 \pm 0.9 \times 4.2 \pm 0.4$ (fijados)	$7.2 \pm 0.3 \times 4.4 \pm 0.4$ (1994)	García & Becnel
<i>A. criniferis</i>	<i>Ae. crinifer</i> (fresco) $4.2 \pm 0.5 \times 3.6 \pm 0.2$ (fijados)	$4.6 \pm 0.2 \times 3.6 \pm 0.2$ (1994)	García & Becnel
<i>A. dolosi</i>	<i>Culex dolosus</i> (fresco) $8.8 \pm 0.4 \times 4.1 \pm 0.2$ (fijados)	$9.3 \pm 0.3 \times 5.4 \pm 0.3$ (1994)	García & Becnel
<i>A. ferocis</i>	<i>Psorophora ferox</i> (fresco) $5.4 \pm 0.4 \times 4.0 \pm 0.2$ (fijados)	$5.6 \pm 0.2 \times 4.1 \pm 0.2$ (1994)	García & Becnel
<i>A. indubitantis</i>	<i>Mansonia indubitans</i> (fresco) $8.1 \pm 0.5 \times 6.8 \pm 0.4$ (fijados)	$8.9 \pm 0.3 \times 7.2 \pm 0.4$ (1994)	García & Becnel
<i>A. nataliae</i>	<i>Uranotaenia nataliae</i> (fresco) $4.4 \pm 0.4 \times 3.5 \pm 0.4$ (fijados)	$4.7 \pm 0.1 \times 3.7 \pm 0.1$ (1994)	García & Becnel
<i>A. tramazayguesi</i>	<i>Cx. tramazayguesi</i> (fijados)	$6.8 \pm 0.5 \times 5.7 \pm 0.3$ (1994)	García & Becnel
<i>Amblyospora</i> sp.	<i>Ps. cyanescens</i> (fijados)	$5.8 \pm 0.2 \times 3.9 \pm 0.1$	Presente trabajo
<i>Amblyospora</i> sp.	<i>Ps. varinervis</i> (fijados)	$5.6 \pm 0.3 \times 3.5 \pm 0.2$	Presente trabajo
<i>Amblyospora</i> sp.	<i>Aedeomyia squamipennis</i>	Sin datos	García (1989).
<i>Amblyospora</i> sp.	<i>Ps. ciliata</i>	Sin datos	García (1989).
<i>Amblyospora</i> sp.	<i>Aedes</i> sp.	Sin datos	García (1989).
<i>Amblyospora</i> sp.	<i>Culex</i> sp.	Sin datos	García (1989).
<i>Parathelohania evansae</i>	<i>Anopheles evansae</i> (fijados)	$4.5 \pm 0.1 \times 2.7 \pm 0.1$ (1994)	García & Becnel
<i>Parathelohania</i> sp.	<i>An. triannulatus</i> (fijados)	$4.2 \pm 0.5 \times 2.2 \pm 0.4$	Presente trabajo

Observaciones: La prevalencia natural fue 8,3%, las larvas parasitadas se colectaron en febrero de 1995.

El material estudiado (extendidos coloreados con Giemsa) se encuentra depositado en la colección de Protozoos del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores CEPAVE La Plata, Argentina.

Las especies de microsporidios incluidos en los géneros heterospóricos *Amblyospora* y *Parathelohania* presentan ciclos biológicos complejos con producción de tres tipos de esporas responsables de la transmisión horizontal y vertical de la infección (Sprague *et al.* 1992). Estos ciclos involucran dos generaciones de mosquitos y un hospedador intermediario.

Hasta el presente, solamente se conoce el ciclo completo de cinco de las 45 especies descritas de *Amblyospora* en mosquitos (Andreadis 1985, 1988, Sweeney *et al.* 1988, 1990a, Becnel 1992, White *et al.* 1994) y en dos de las 13 especies descritas de *Parathelohania* (Avery 1989, Avery & Undeen 1990a,b). Las demás especies se han descrito primariamente por parasitar a un nuevo mosquito hospedador y por las características ultraestructurales de las esporas presentes en larvas.

Los ciclos biológicos de numerosas especies de *Amblyospora* y *Parathelohania* demostraron secuencias de desarrollo similares y elevado grado de especificidad para el hospedador definitivo (Andreadis 1988, 1989, 1990, Avery 1989, Avery & Undeen 1990a,b, Sweeney *et al.* 1990b). La ausencia de información sobre las secuencias de desarrollo en mosquitos adultos y/o en el hospedador intermediario han impulsado la diferenciación de especies de *Amblyospora* y *Parathelohania* en base al tamaño y ultraestructura de las meiosporas y la especificidad por el hospedador definitivo (Hazard & Oldacre 1975, Vávra *et al.* 1984, Andreadis 1994, García & Becnel 1994).

En la Argentina se conocen 13 especies de culicidos hospedadores de microsporidios, las tres presentadas en este trabajo elevan el número a 16. La mayoría de estos parásitos pertenecen a *Amblyospora* (n=13), a *Parathelohania* (n=2), siendo la restante *Hazardia milleri* (Hazard & Fukuda, 1974) citada en larvas de *Culex pipiens* L. (García & Camino 1990).

Siete especies de *Amblyospora* y una de *Parathelohania* de la Argentina se describieron en base a la especificidad por el hospedador defi-

nitivo y al tamaño y ultraestructura de sus meiosporas en la larva (García & Becnel 1994). Sobre otras cuatro especies de *Amblyospora* no nominadas, solamente se consigna el mosquito hospedador (García 1989).

El estudio de la ultraestructura de las meiosporas y la dilucidación completa del ciclo biológico permitirán definir el status específico de los microsporidios encontrados en el presente estudio.

REFERENCIAS

- Andreadis, T.G. 1985. Life cycle, epizootiology, and horizontal transmission of *Amblyospora* (Microsporida: Amblyosporidae) in a univoltine mosquito, *Aedes stimulans*. J. Inv. Pathol. 46: 31-46.
- Andreadis, T.G. 1988. *Amblyospora connecticus* sp. nov. (Microsporida: Amblyosporidae): horizontal transmission studies in the mosquito, *Aedes cantator* and formal description. J. Invertebr. Pathol. 52: 90-101.
- Andreadis, T.G. 1989. Host specificity of *Amblyospora connecticus* (Microsporida: Amblyosporidae) a polymorphic microsporidian parasite of *Aedes cantator*. J. Med. Entomol. 26 (3): 140-145.
- Andreadis, T.G. 1994. Ultrastructural characterization of meiospores of six new species of *Amblyospora* (Microsporida: Amblyosporidae) from northern *Aedes* (Diptera: Culicidae) mosquitoes. J. Euk. Microbiol. 41: 147-154.
- Avery, S.W. 1989. Horizontal transmission of *Parathelohania obesa* (Protozoa: Microsporida) to *Anopheles quadrimaculatus* (Diptera: Culicidae). J. Invertebr. Pathol., 53: 424-426.
- Avery, S.W. & A.H. Undeen. 1990a. Horizontal transmission of *Parathelohania anophelis* to the copepod, *Microcyclops varicans*, and the Mosquito, *Anopheles quadrimaculatus*. J. Invertebr. Pathol. 56, 98-105.
- Avery, S.W. & A.H. Undeen. 1990b. Horizontal transmission of *Parathelohania obesa*, a microsporidian parasite of anopheline mosquitoes. Proc. Vth Int. Colloq. Invertebr. Pathol., Adelaide, Australia, 20-24 Aug. 1990. 70-73.
- Becnel, J.J. 1992. Horizontal transmission and subsequent development of *Amblyospora californica* (Microsporida: Amblyosporidae) in the intermediate and definitive hosts. Dis. aquat. Org. 13: 17-28.
- Carney-Pacheco, H.L. 1968. Encuesta para determinar la presencia de *Coelomomyces* (Blastocladales) y *Thelohania* (Sporozoa: Microsporida), parásitos de larvas de *Anopheles*, en Guatemala, como contribución a su posible control biológico. Rev. Univ. San Carlos. 67: 139-182.

- Castillo, J.M. 1980. Microsporidian pathogens of Culicidae (mosquitoes). Bull. W.H.O. 58 (Suppl): 33-46.
- Daoust, R.A. 1983. Microsporidian pathogens of Culicidae (mosquitoes). Bull. W.H.O. 83.1: 73-91.
- García, J.J. 1989. Primer registro de microsporidiosis en culcideos (Diptera: Culicidae) de la República Argentina. Rvta. Soc. ent. argent. 47(1-4)(88): 100-108.
- García, J.J. & N.B. Camino. 1990. Primera cita para la Argentina de infecciones naturales en larvas de *Culex pipiens* (L.) (Diptera: Culicidae). Neotrópica, 36(96): 83-86.
- García, J.J. & J.J. Becnel. 1994. Eight new species of microsporidia (Microspora) from Argentine culicids (Diptera: Culicidae). J. Invertebr. Pathol. 64: 243-252.
- Hazard, E.I. & D.W. Anthony. 1974. A redescription of the genus *Parathelohania* Codreanu 1966 (Microsporida: Protozoa) with reexamination of previously described species of *Thelohania* Henneguy 1892 and descriptions of two new species of *Parathelohania* from anopheline mosquitoes. Tech. Bull. U.S. Dep. Agric. 1505: 26.
- Hazard, E.I. & T. Fukuda. 1974. *Stempellia milleri* sp. n. (Microsporida: Nosematidae) in the mosquito *Culex pipiens quinquefasciatus* Say. J. Protozool. 21(4): 497-504.
- Hazard, E.I. & S.W. Oldacre. 1975. Revision of microsporidia (Protozoa) close to *Thelohania* with descriptions of one new family, eight new genera, and thirteen new species. Tech. Bull. U.S. Dept. Agric. 1530: 1-104.
- Hazard, E.I. & H.C. Chapman. 1977. Microsporidian pathogens of Culicidae (mosquitoes). Bull. W.H.O. 55: 63-77.
- Larsson, J.I.R. 1988. Identification of Microsporidian genera (Protozoa, Microspora) - a Guide with Comments on the Taxonomy. Arch. Protistenkd. 136: 1-37.
- Sprague, V. 1977. Comparative Pathobiology. Systematics of the Microsporidia. L.A. Bulla and T.C. Cheng (eds). Plenum Press, New York. 2: 1-510.
- Sprague, V., J.J. Becnel & E.I. Hazard. 1992. Taxonomy of phylum Microspora. Crit. Rev. Microbiol. 18: 285-395.
- Sweeney, A.W., M.F. Graham & E.I. Hazard. 1988. Life cycle of *Amblyospora dyxenoides* sp. nov. in the mosquito *Culex annulirostris* and the copepod *Mesocyclops albicans*. J. Invertebr. Pathol. 51: 46-57.
- Sweeney, A.W., S.L. Doggett & R.G. Piper. 1990a. Life cycle of *Amblyospora indicola* (Microspora: Amblyosporidae), a parasite of the mosquito *Culex sitiens* and of *Apocyclops* sp. copepods. J. Invertebr. Pathol. 55: 428-434.
- Sweeney, A.W., S.L. Doggett & R.G. Piper. 1990b. Host specificity studies of *Amblyospora indicola* and *Amblyospora dyxenoides* (Microspora: Amblyosporidae) in mosquitoes and copepods. J. Invertebr. Pathol. 56: 415-418.
- Vávra, J., M.G. Bai & K.N. Panicker. 1984. *Amblyospora indicola* sp. n., a microsporidian pathogen of the mosquito *Culex sitiens*. Folia Parasitol. 31: 207-213.
- White, S.E., T. Fukuda & A.H. Undeen. 1994. Horizontal transmission of *Amblyospora opacita* (Microspora: Amblyosporidae) between the mosquito, *Culex territans*, and the copepod, *Paracyclops fimbriatus chiltoni*. J. Invertebr. Pathol. 63: 19-25.