



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO PARA EL DESARROLLO REGIONAL INTEGRAL DE OAXACA

Maestría en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales.

(Especialidad en Protección y Producción Vegetal)

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CUATRO ESPECIES DE NEMATODOS PARÁSITOS DE LARVAS DE MOSQUITOS.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

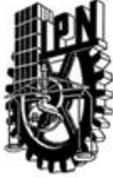
PRESENTA:

Alejandro Sebastián Cruz Bautista

DIRECCIÓN A CARGO DE:

DR. RAFAEL PÉREZ PACHECO Y DR. ALEJANDRO TOVAR SOTO

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. Diciembre de 2011.



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO**

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 13:00 horas del día 25 del mes de noviembre del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-OAXACA)** para examinar la tesis de grado titulada: **“Caracterización morfológica de cuatro especies de nematodos parásitos de larvas de mosquitos.”**
Presentada por el alumno:

Cruz

Apellido paterno

Bautista

materno

Alejandro Sebastian

nombre(s)

Con registro:

B	0	9	1	5	0	8
---	---	---	---	---	---	---

aspirante al grado de: **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dr. Rafael Pérez Pacheco

Dr. Alejandro Tovar Soto

Dr. José Antonio Sánchez García

Dr. Alfonso Vásquez López

Dr. Jaime Ruiz Vega

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. Juan Rodríguez Ramírez



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACION PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día 25 del mes noviembre del año 2011, el (la) que suscribe **Cruz Bautista Alejandro Sebastian** alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES** con número de registro **B091508**, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de los Drs. Alejandro Tovar Soto y Rafael Pérez Pacheco y cede los derechos del trabajo titulado: **“Caracterización morfológica de cuatro especies de nematodos parásitos de larvas de mosquitos.”** al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **Calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca**, e-mail: posgradooax@ipn.mx ó alexandrosv@hotmail.com Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Cruz Bautista Alejandro Sebastian



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.

RESUMEN.

Cuatro especies de mermitidos (*Romanomermis culicivorax* Ross y Smith 1976, *R. iyengari* WELCH 1964, *R. wuchangensis* BAO 1985 y *Strelkovimermis spiculatus* POINAR y CAMINO 1986) parásitos de larvas de mosquitos, fueron caracterizados morfológica y morfométricamente, empleando técnicas de microscopía óptica y electrónica de barrido para establecer diferencias en las fases huevo, juvenil J2 y adultos. Los nematodos son producidos masivamente en el hospedero *Culex quinquefasciatus* para su empleo en programas de control biológico en México. En la fase de huevo fue posible establecer diferencias a nivel género; en la fase Juvenil J2 fue posible hacer distinciones a nivel especies utilizando los principales parámetros; en adultos solo fue posible distinguir las especies con el empleo de múltiples parámetros; además mostraron notables diferencias comparadas con las descripciones originales. También se incluye una descripción de las cuatro especies en todos los estadios estudiados.

ABSTRACT

A morphological and morphometric characterization was performed for four *Mermithidae* species (*Romanomermis culicivorax* Ross and Smith 1976, *R. iyengari* WELCH 1964, *R. wuchangensis* BAO 1985 and *Strelkovimermis spiculatus* POINAR and CAMINO 1986) in order to determine differences between egg, juvenile J2 and adult stages. These nematodes are parasites of mosquito larvae and are mass reared using *Culex quinquefasciatus* in México for biological control programs. All mermithids stages were observed using optical and scanning electron microscopy techniques. It was possible to establish differences at the genus level for the egg phase; for the juvenile J2 phases it was possible to distinguish all species; however, to identify the adults, it was necessary to make several measurements of body length and width; adults results very affected on lengths and width compared with the original description, for distinguishing species was only possible with selected parameters. We also described all four nematode for the 3 stages analyzed.

AGRADECIMIENTOS.

Al personal que integra el CIIDIR-Oaxaca, quienes siguiendo los lineamientos del Instituto Politécnico Nacional han mantenido su compromiso por brindar educación de alto nivel a sus estudiantes para la formación de recursos humanos conscientes de retribuir al país parte de lo brindado.

A todos aquellos que compartieron este tiempo conmigo, en especial a mis compañeros Juan Delgado, Carlos Granados, Ninfa Santiago y a todos con quienes he compartido en la bioplanta, quienes han demostrado integrar un admirable equipo de trabajo.

Al Técnico Gonzalo Flores por su amistad y compartir su conocimiento de los procedimientos para la producción de mermíticos, recalando sus gestos de enseñanza y apoyo.

Al los Investigadores integrantes de comité evaluador de tesis, de quienes he recibido dirección, apoyo y consejos cuando lo he necesitado, además de su amistad y ejemplo para continuar con mi formación académica y personal. Por su valor humano mi admiración y gratitud.

Al Dr. Eduardo Palacios del Instituto Mexicano del Petróleo (IMP) por su apoyo con las observaciones al microscopio electrónico.

A la microscopista Ester Sánchez Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) por su apoyo brindado.

A la maestra y microscopista Greta Hanako del Colegio de Posgraduados (COLPOS) por su amistad, apoyo técnico y experiencia para la realización de los experimentos finales.

A la M. en C. Gabriela Canales que con su experiencia agilizó la parte experimental.

Al Dr. Gerardo Ortiz por su asesoría en la parte estadística.

al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), al Programa de Fortalecimiento Institucional (PIFI) y sin olvidar la beca de movilidad estudiantil COFAA, recursos económicos indispensables para la culminación exitosa de este proyecto.

ÍNDICE

RESUMEN.....iv

ABSTRACT.....iv

I. Introducción..... 9

1.1 Hipótesis y objetivos..... 10

1.1.1 Hipótesis..... 10

1.1.2. Objetivo general..... 10

1.1.3 Objetivos específicos..... 10

II. REVISIÓN DE LITERATURA..... 11

2.1 Los mermítidos..... 11

2.1.1 Morfología..... 11

2.1.2. Ubicación taxonómica de *Romanomermis* y *Strelkovimermis*(NCBI, 2011). 11

2.1.3 Estructuras de importancia taxonómica..... 12

2.1.4 Ciclo de vida..... 13

2.1.5 Género *Romanomermis*. 14

2.1.6 Género *Strelkovimermis*..... 16

2.1.7 Factores de importancia para la observación de mermítidos..... 16

2.2 Producción masiva de nematodos. 16

2.3 Culícidos..... 17

III. MATERIALES Y MÉTODO. 18

3.1.1. Cría de nematodos..... 18

3.1.3. Obtención de Adultos..... 18

3.1.4. Preparación de muestras para microscopia óptica (MO)..... 18

3.1.5. Preparación para microscopia electrónica de barrido (MEB)..... 19

Huevo y Juvenil 2..... 19

3.1.6 Parámetros determinados..... 19

3.1.7. Procesamiento de la información..... 20

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 21

4.1. *Romanomermis culicivorax* (Rc)..... 21

4.1.1 Huevos..... 21

4.1.2 Juvenil J2..... 21

4.1.3 Adultos 22

Tabla 2. Datos morfométricos de Rc adultos.....	24
4.2 Romanomermis iyengari (Ri).....	26
4.2.1 Huevos.....	26
4.2.2 Juvenil J2.....	26
4.2.3 Adultos.....	27
4.3 Romanomermis wuchangensis. (Rw).....	30
4.3.1 Huevos.....	30
4.3.1 Juvenil J2.....	31
4.3.1 Adultos.....	32
4.4. Strelkovimermis spiculatus (Ss).....	35
V. Conclusiones y recomendaciones.....	44
VI. Bibliografía.....	45

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Esquema 1 Ciclo de vida general.....	13
Gráfica 1 diámetro de huevos.....	39
Gráfica 2 Longitudes J2.....	40
Gráfica 3 Índice “A” J2.....	40
Gráfica 4 Longitudes machos y hembras.....	42
Fig. 1, Fig. 2 y Fig. 3.....	21
Fig. 4, Fig. 5 y Fig. 6.....	22
Fig. 7 y fig. 7 b detalle.....	23
Fig. 8 posterior y Fig. 9 vulva.....	23
Fig. 10 espiculas y Fig. 11 papila.....	23
Fig. 12 a, b y c.....	23
Fig. 13 anterior a, b, c y d.....	25
Fig. 14 vulva a,b y c.....	25
Fig. 15 posterior a,b y c.....	25
Fig. 16 a, b c y d.....	26
Fig. 17, Fig. 18 y Fig. 19.....	26
Fig. 20, Fig. 21 y Fig. 22.....	28
Fig. 23, Fig. 24 y Fig. 25.....	28

Fig. 26 a b, c. vista lateral de hembra.....	29
Fig. 27 a, b y c. flexión vulvar.....	30
Fig. 28 a y b.....	30
Fig. 29 a, b y c.....	30
Fig. 30 , Fig. 31 y Fig. 32	31
Fig. 33, Fig. 34 y Fig. 35	31
Fig. 36, Fig. 37 y Fig. 38	32
Fig. 39 a, b y c.....	34
Fig. 40 a, b y c.....	34
Fig. 41 a, b y c.....	35
Fig. 42	35
Fig. 43.....	35
Fig. 44.....	35
Fig. 45.....	36
Fig. 46.....	36
Fig. 47.....	36
Fig. 48.....	37
Fig. 49.....	37
Fig. 50.....	37
Fig. 51 a, b y c Vista lateral.....	38
Fig. 52 a, b y c.....	38
Fig. 53 a, b y c.....	38
Fig. 54 a y b.....	38

I. INTRODUCCIÓN.

La familia *Mermithidae* (mermítidos) son parte del selecto grupo de organismos entomopatógenos pertenecientes a los nematodos. Por ser parásitos de artrópodos, entre ellos dípteros en su fase larvaria, han sido objeto de interés en diversos programas de control biológico de vectores. Este tipo de programas se han realizado en EE.UU., México, El Salvador, Colombia, Brasil y Argentina. Los resultados obtenidos han sido exitosos y han demostrado especificidad de hospedero, además de no representar riesgo para las poblaciones humanas ni para ambientes en que son liberados (Platzer, 2007).

Aunado a lo anterior, los mermítidos representan una importante herramienta de control en la búsqueda de la erradicación o control de enfermedades transmitidas por vectores culícidos tales como malaria, dengue, filariasis, fiebre amarilla, encefalitis así como de variantes virales. Se tiene previsto que se incremente la incidencia de arbovirus en los años siguientes por alteraciones ecológicas y dimáticas causadas por el cambio climático global (Samanidou-Voyadjoglou, 2007).

La distribución biogeográfica natural de la mayoría de mermítidos está restringida en su mayoría a zonas templadas, aunque su efectividad se ha comprobado en zonas tropicales. La producción masiva de estos agentes de control ha resultado viable en países en desarrollo donde las limitantes económicas y el equilibrio ecológico son importantes. Esta producción puede utilizar implementos y materias de fácil acceso local (Santamarina y Pérez, 1997), (Canseco, 2006).

Tradicionalmente, los descubrimientos y descripciones de las especies no han sido realizados por nematólogos. En muchos casos, los reportes son incompletos, realizados en base a pocos ejemplares y en organismos inmaduros o basados en un solo sexo, resultando en descripciones independientes; los parámetros reportados no están establecidos o sistematizados.

Esta familia taxonómica presenta escasas características morfológicas haciendo difícil el estudio y comparación de sus integrantes; Las revisiones de este grupo han encontrado un gran porcentaje de especies *inquirendae* (Káiser, 1991).

La bioplanta de nematodos del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-Oaxaca), se encuentra realizando investigaciones de campo con cuatro especies de nematodos, encontrando dificultades a la hora de evaluar los resultados de los programas ejecutados.

El presente trabajo aporta información sistematizada de las especies *Romanomermis culicivorax* Ross y Smith 1976, *R. iyengari* Welch, 1964, *R. wuchangensis* Bao, 1985 y *Strelkovimermis spiculatus* Poinar y Camino, 1986 de los estadios huevo, Juvenil 2 y adultos. Esta información es de utilidad para la taxonomía del grupo así como para evaluaciones de programas y reidentificaciones de estas cuatro especies en campo.

1.1 Hipótesis y objetivos.

1.1.1 Hipótesis

Los mermítidos presentan estructuras características que permiten distinguirlos en sus diversos estadios

1.1.2. Objetivo general

Caracterizar la morfología de cuatro especies de nematodos parásitos de larvas de mosquitos.

1.1.3 Objetivos específicos

- Describir y comparar las principales estructuras morfológicas de las especies de nematodos en los estadios huevo, juvenil J2 y Adultos
- Analizar y comparar los principales parámetros morfométricos de las cuatro especies de nematodos en las fases: huevo, Juvenil J2 y Adultos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 Los mermítidos.

El orden Mermithida Braun, 1888 pertenece al phylum Nematoda. Este grupo contiene la superfamilia Mermithae integrada por dos familias ambas con organismos parásitos: Tetradonematidae con seis géneros y ocho especies (Tang, 1993). y Mermithidae con siete géneros parásitos de culícidos (*Culicimermis*, *Empidomermis*, *Hydromermis*, *Octomyomermis*, *Perutilimermis*, *Romanomermis* y *Strelkovimermis*) (Platzer, 2007). Las principales diferencias entre las dos familias se centran en lo etológico, ya que los tetradonematidos permanecen dentro del hospedero aun en el estadio adulto, llegando a copular en su interior. En lo morfológico presentan cuatro células esofágicas prominentes durante sus fases juveniles, además de mantener el estilete durante su fase adulta (Kaiser, 1991)

Aunque se han registrado alrededor de 30 familias de nematodos parasitando algún taxón, los estudios se han centrado en siete familias, dentro de las cuales se incluyen a la familia Mermithidae, en dicha familia se encuentran organismos que parasitan diversos taxa de invertebrados, entre ellos arácnidos, crustáceos, anélidos, moluscos y dípteros (Poinar, 1990). Una de las características resaltables de esta familia es su especificidad de hospedero (Petersen, 1984). factor deseable para el control biológico. Dentro de esta familia se encuentran los géneros *Romanomermis* Coman, 1971 y *Strelkovimermis* Rubtsov, 1969 parásitos de culícidos.

2.1.1 Morfología.

La familia Mermithidae presenta las siguientes características: filiformes con longitud de 10 a 100 mm; cutícula lisa.; la parte anterior posee líneas de papilas cefálicas, estilete, anfidios, presentan entre seis y ocho cuerdas longitudinales atravesando el cuerpo, el esófago carece de musculatura y se encuentra conectado al intestino excepto durante su etapa adulta. El largo del esófago fluctúa entre un cuarto a nueve décimas del largo cuerpo. Presentan dimorfismo sexual en el cual la hembra es de mayor tamaño, no presenta ano y con regularidad la apertura genital se encuentra en la mitad del cuerpo contrario a los machos en los que se ubica en la parte posterior. Los huevos pueden ser redondos u ovals (Petersen, 1984)

2.1.2. Ubicación taxonómica de los géneros *Romanomermis* y *Strelkovimermis* (NCBI, 2011).

Phylum	Nematoda	
Clase	Enoplea	Subclase Enoplia
Orden	Mermithida	
Superfamilia	Mermithoidea	
Familia	Mermithidae	

2.1.3 Estructuras de importancia taxonómica.

Papilas cefálicas: son quimiorreceptores que se encuentran en la parte anterior inmediatamente después de la apertura oral; pueden presentarse en grupos de 4, 6 regularmente.

Anfidios: quimiorreceptores ubicados en la región cefálica, generalmente próximos a la apertura oral. Generalmente se encuentran en pares. La forma, tamaño y posición han sido utilizadas para clasificar algunos miembros del género *Strelkovimermis* (Jhonson, 2002).

Anillo nervioso: conjunto de nervios del que parten ramificaciones a diversas estructuras sensoriales tales como comisuras, anfidios y cordones hipodermales. En nematodos envuelve el esófago y pueden llegar a formar bulbos. En mermítidos, el anillo rodea la luz de la faringe y se ubica generalmente entre 100 y 400 micras de la parte anterior.

Poros excretor: estructura que se encuentra en la parte ventral del nematodo generalmente próximo al anillo nervioso.

Sistema digestivo: en nematodos de vida libre está dividido en cavidad oral, faringe, intestino, recto y ano. Los mermítidos como respuesta al parasitismo presentan adaptaciones tales como; boca ubicada en posición terminal o ligeramente ventral, faringe modificada en un tubo capilar de 2.5-10 micras con el extremo proximal y unido al intestino por tejido conectivo.

Esticosoma: sistema glandular conformado por 8 o 24 células en arreglo de dos líneas conectadas a la luz de la faringe.

Trofosoma: intestino modificado que carece de lumen y ha perdido su función digestiva para convertirse en un órgano especializado en el almacenamiento de nutrientes que utilizará en estadios posteriores a la emergencia.

Cola: elongación postanal del cuerpo, cuya función principal es la locomoción; su forma varía en los diversos estadios y puede presentar apéndices asociados además de ser la región donde se encuentran los órganos sexuales de los machos.

Vulva o gonoporo: estructura con apertura en posición transversal, se encuentra rodeada por músculos de formas características según el taxón. El ducto que comunica al útero se denomina vagina; su posición en organismos maduros es en la mitad del cuerpo. En estadios infectivos aparece ésta estructura denominándose primordio genital, constituida por algunas células que darán origen a la estructura reproductiva femenina.

Espículas: estructuras sexuales para la penetración y especializadas en la transferencia de esperma. Existen gran variedad de formas descritas como: cortas, barras, curvas, fusionadas, dobles. Forma y tamaño son particularidades de la especie o género. La característica de *Romanomermis* es la presencia de espículas con longitud dos veces mayor que el ancho del cuerpo en la misma área (Poinar, 1994)

Papilas genitales: Son estructuras sexuales estrechamente vinculadas con el apareamiento ubicadas en la parte caudal del macho. El patrón general son 3 líneas papilares recibiendo nombres específicos según su posición, pudiéndose denominar laterales o central y preanales o postanales respecto de ubicación de la apertura espicular.

Índice A: es la razón de dividir la longitud total del nematodo entre su ancho máximo, este parámetro nos da una idea general de la apariencia del nematodo, por su simplicidad y valor alométrico su uso es muy extendido (Siddiqui, 2000).

2.1.4 Ciclo de vida.

El ciclo de vida natural de los géneros *Romanomermis* y *Strelkovimermis* puede resumirse de la siguiente manera: El ciclo inicia cuando la hembra ovoposita en la arena. La fase huevo puede ser de al menos un mes o incluso llegar a ser anual. Al ser inundado los huevecillos estos eclosionan como juveniles J2 (preparasíticos) y en las siguientes horas inician la búsqueda de su hospedero, el cual debe ser localizado y penetrado en los siguientes 2-5 días. Una vez iniciada la fase parasítica, su estancia dentro del hospedero puede ser desde una semana hasta un mes, teniendo como factores importantes la temperatura y nutrición. Durante la fase parasítica el nematodo incrementa su tamaño desde .5 mm hasta poco más de 5 mm o más. Para emerger el nematodo induce una ruptura del integumento de la larva de mosquito provocando la inmovilización y muerte de la larva por pérdida de fluidos corporales antes de que pase a estado adulto (Petersen, 1984)

Al emerger e iniciar su etapa como organismo de vida libre, los juveniles J4 (postparasíticos) presentan geotropismo positivo, hábitos arenícolas y gregarismo. Antes de pasar a la fase adulta se requiere la última muda durante la cual se desarrollan los rasgos y estructuras sexuales necesarios para la copula, el tiempo entre emergencia y muda final se estima en 5-8 días. Posteriormente el apareamiento y ovoposición toma alrededor de un mes (Shamseldean, 2004).



Esquema 1 Ciclo de vida general (Canseco, 2006)

2.1.5 Género *Romanomermis*.

En múltiples ocasiones se intentó realizar una descripción de los mermítidos entomopatógenos de mosquitos hasta que Welch en 1960 describió a *Hydromermis churchillensis*, las anteriores descripciones fueron incompletas o realizadas con formas juveniles por lo tanto parciales. El género *Romanomermis* fue establecido por Coman en 1961, teniendo como primera especie a la recién asignada *Pseudomermis cazanica* como especie tipo, El estatus de las especies de este género fueron clarificadas por los trabajos de Ross y Smith en 1976 (Galloway & Brust, 1979). Actualmente el grupo *Romanomermis* está integrado por 15 especies de las cuales 14 son parásitos de larvas de mosquito (Platzer, 2007).

Características del género *Romanomermis* Coman 1961 ampliada por Ross y Smith:

Ocho cuerdas hipo dermales, seis papilas cefálicas en un plano, anfidios pequeños a medianos (diámetro menor a un cuarto del cuerpo medido en las papilas cefálicas), sin fibras cuticulares conspicuas; adultos con termino posterior redondeado, juveniles J4 con presentando apéndice elongado en el término. Machos con dos espículas largas estrechadas hacia la punta distal (el doble del ancho del cuerpo medido a la cloaca); vagina en forma de pera, de tamaño menor al ancho del cuerpo. Huevo *in situ* sin bisy.

Romanomermis culicivorax (sinónimo *Reesimermis nielsenii*) fue colectado en larvas de mosquitos en las cercanías del Lago Charles en Luisiana, EE.UU. y posteriormente en Gainesville, Florida.

Los adultos poseen boca en posición terminal anfidios de tamaño mediano, sin comisura; regularmente de mayor tamaño en hembras; cavidad de anfidio variable en forma, variando en forma de estrecho a forma de bolsa. Trofosoma blanco conteniendo numerosos gránulos. Cuerpo elongado, estrechándose ligeramente en la parte anterior y ligeramente redondeado en la posterior. Sin apéndice caudal. Esófago largo, amenudo tan largo como el trofosoma; mas largo en machos que en hembras. Fibras cuticulares visibles solo a 1000 aumentos.

Todas las unidades en micras a menos que se indique otra unidad.

Hembras: anfidios 14 (11-17); longitud del cuerpo. 16.8 mm (11.3-21). Ancho a las papilas cefálicas 38 (34-45). Ancho al anillo nervioso 107 (97-142). Ancho a la vagina 191 (166-238). Ancho al final de trofosoma 135(123-155).

Machos: anfidios 13 (12-13). Logitud del cuerpo 10 mm (7.2-12.9). Ancho a las papilas cefálicas 32 (23-39). Ancho al anillo nervioso 91(75-103). Ancho a la mitad del cuerpo 141 (105-156). Ancho a la cloaca 112 (92-126)(Ross y Smith, 1976).

Romanomermis iyengari (antes *Reesimermis iyengari* o *Eurimermis iyengari*) fue el primero del género en ser aislado por Iyengar en 1927. Se encontró parasitando a *Anopheles subpictus*. Esta especie ha sido reaislada y estudiada tanto en campo como en laboratorio.

Descripción:

Grosor de cutícula 6-8 μ , sin fibras cruzadas. Ocho cuerdas longitudinales en posiciones lateral, dorsal ventral y submedial; cuerdas laterales de 46-53 μ de grosor en la mitad del cuerpo, presenta dos líneas regulares de células con remanentes de una tercera entre ellas, estrechas en la cabeza ampliándose conforme se aproximan y pasan del anillo nervioso. Cabeza redondeada en forma de cono que se prologa hasta la proximidad de la papila cefálica; 16 papilas en seis grupos en un plano y ordenadas en un hexágono regular desde la vista facial. Anfidios en posición lateral, ligeramente hacia la parte dorsal, detrás de las papilas laterales y ligeramente más grandes en machos que en hembras. Poro excretor a 0.23-0.27 mm del inicio. Boca terminal, finalizando como una depresión de la cutícula en forma de cono; collar esofágico presente, esófago ancho uniforme 3-4 μ extendiéndose hasta la región posterior. Distancia boca-anillo nervioso 0.22-0.23 mm. Trofosoma celular y vacuolar iniciando a 0.24-0.26 mm de la boca y termina 0.10-0.15 mm del final. Termino redondeado en forma de cono en ambos sexos (Welch, 1964)

Romanomermis wuchangensis:

Este organismo fue encontrado parasitando individuos de *Culex tritaeniorhynchus* (transmisor de la encefalitis japonesa) en la provincia de Hubei en China. Originalmente fue descrito como perteneciente al género *Isomermis* (Bao et al., 1985). sin embargo, con la revisión de estos mismos autores, cuatro años más tarde fue renombrada como *Romanomermis wuchangensis* con las siguientes características:

Adultos: cuerpo elongado sin fibras cuticulares conspicuas, abertura bucal en posición terminal; seis papilas cefálicas ordenadas en un solo plano; anfidios de tamaño medio, sin comisuras; ocho cuerdas hipodermes, esófago muy largo y doblado terminando cerca de la punta posterior; anillo nervioso ubicado en la parte anterior del esófago; poro excretor en el lado ventral del anillo nervioso. A continuación los datos morfométricos:

Hembras (n=5-20): largo del cuerpo 20.79 (12.5-28) mm; ancho del cuerpo al nivel de la papila cefálica 37 (34-38) mm; ancho al anillo nervioso 88 (80-98) μ , ancho a la vagina 175.8 (127.5-232) μ , ancho a la parte posterior del trofosoma 119.6 (98-138) μ ; anfidio 5.75 x 10.8 (4-8.25x7-13.75) μ ; distancia del anillo nervioso a la punta anterior 246.4 (198-300) μ ; vagina en forma de pera; canal vaginal con flexión distinta anterior y en la región media; vagina no protruyente; distancia desde la parte final del trofosoma a la cola 143 (80-240) μ ; grosor de la cutícula 10.14 (5-14) μ .

Machos (n=5-20) longitud del cuerpo 12.10 (8-16) mm; ancho del cuerpo al nivel de la papila cefálica 31.8 (28-36) μ ; ancho al anillo nervioso 84 (74-94) μ ; ancho a la mitad del cuerpo 135.2 (121-149); ancho a la doaca 106 (86-122) μ ; anfidios 6.05 x 12.37 (5.5-6.88x 11-13.75) μ ; distancia

del anillo nervioso a la punta anterior 207 (176-234) μ ; dos espículas curvas separadas ligeramente y unidas en la punta; longitud de las espículas 339 (278-456) μ ; índice espicular 35.7; papilas caudales en tres líneas; línea media bifurcándose en la proximidad de la doaca espicular; 17 (14-20) papilas antes de la bifurcación; 12 (11-14) posterior a la bifurcación; líneas laterales con 15.8 (13-20) (Bao et al., 1985)

2.1.6 Género *Strelkovimermis*.

Este género fue establecido en 1969 por Rubtsov, éste género contiene 15 especies (Johnson, 2002). de las cuales solo dos son capaces de invadir larvas de mosquitos, el primero de ellos fue aislado de larvas de *Anopheles* en los estados de Luisiana, EE.UU. y también en el sur de Canadá, siendo hasta el año de 1986 en que se describió la especie *S. spiculatus* como a continuación se menciona.

Nematodo de tamaño mediano con cutícula lisa sin presencia de fibras transversales tanto juveniles como adultos; grosor de la cutícula en adulto a la altura del anillo nervioso de 4-10 μ ; cuerpo con series de fibras nerviosas atravesando la cutícula especialmente próximas al anillo nervioso; cabeza homocefálica redondeada con seis papilas cefálicas ordenadas en un solo plano; boca con dirección ventral pero no al nivel de la papila anterior, anfidios de tamaño medio con forma de botella con apertura dorsal y al mismo nivel que la papila lateral cefálica. Bolsas anfidales conectadas por una comisura; seis cuerdas hipodermales; cuerdas laterales con dos líneas de forma cruzada con núcleos no visible en la parte dorsal, ventral y submedio; vulva de apertura elíptica sin solapa; vagina de forma sigmoidal, doblada en la parte anterior; espículas pares ligeramente unidas y fusionadas en la punta; espículas cortas, aproximadamente igual al ancho del cuerpo a la altura de la doaca; tubo faríngeo extendido entre 1/3 y 1/5 del total del largo del cuerpo (Poinar y. Camino, 1986).

2.1.7 Factores de importancia para la observación de mermítidos.

Existen factores que han sido probados como determinantes o de influencia notable en los mermítidos. Efectos de importancia en la efectividad del parasitismo como de efecto en la morfometría y morfología (Curran, 1981) de este grupo. En lo morfológico se han registrado efectos por la especie huésped, temperatura, densidad del parasitismo, así como se han detectado artificios y variaciones por la técnica de preparación (muerte y fijación) y montaje. Curran en 1980 encontró variaciones en los principales parámetros taxonómicos y la aparición de artificios morfológicos que atribuyó tanto a la técnica de relajación y muerte del nematodo como de los químicos y técnicas utilizados en preparación de los montajes.

2.2 Producción masiva de nematodos.

Iyengar en fue el primero en establecer una forma producir nematodos al recrear a escala el ciclo natural de reproducción de *R. iyengari*, de esta manera pudo obtener estadios juveniles y adultos. Petersen y Willis en los años setentas establecieron el método general actual para la producción masiva *R. culicivorax*. En 1994 se encontró que la mejor temperatura para la producción de *R. iyengari* es 25-30 ° C muy similar a los de *R. culicivorax*. Por otra parte el efecto del sedimento

óptimo fue arena con un diámetro de partícula entre 1.4 y 2 mm o arena en general (Shamseldean, 2004).

2.3 Culícidos

El orden de los dípteros es uno de los más grandes por número, al integrar una estimado de 120000 especies descritas en todo el mundo. Además de ser el grupo que más impacta aspectos de salud del humano y otros animales. Ningún otro grupo ha establecido mayor número de relaciones como vector de enfermedades. Posee dos subórdenes: nematócera y braquícera. La familia *culicidae* pertenece al primer suborden y contiene alrededor de de 3200 especies en 3 subfamilias (*Anophelinae*, *Culinae* y *Toxorhynchitinae*). A estos organismos comúnmente se conocen como mosquitos aunque de manera estricta solo pertenezcan los de *Culinae*; son insectos pequeños, de cuerpo alargado con tres regiones corporales: cabeza, tórax y abdomen. No presentan ocelos pero si ojos compuestos. Un tórax con tres segmentos funcionados. Las patas largas con tarsos de cinco artejos terminando en par uñas. Poseen un par de halterios y otro par de alas desarrolladas. Abdomen de once segmentos. Antenas insertas en la parte media de la cabeza entre el cípeo y la frente en dos fosetas antenales. Antenas cortas de tres segmentos (basal, intermedio y apical) con 15 antenómeros en total. El aparato de las hembras es de tipo masticador-chupador con probóside desarrollada y funcional solo en las hembras. (Foster y Walker, 2009).

III. MATERIALES Y MÉTODO.

En la planta de producción masiva de nematodos parásitos de larvas de mosquitos se realizó la producción de las cuatro especies. La bioplanta esta y ubicada Estado de Oaxaca. El procesamiento de los especímenes así como toma de datos morfométricos fue realizado en las instalaciones de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) en la Ciudad de México. Las Observaciones al Microscopio Electrónico de Barrido fueron practicadas en la Central de Microscopia ENCB y en el Laboratorio de Microscopia del Colegio de Posgraduados (COLPOS) en Montecillos, Edo. De México.

3.1.1. Cría de nematodos.

Para la producción de las cuatro especies de nematodos se utilizó como huésped al mosquito *Culex quinquefasciatus* utilizando una dosis de cinco nematodos por larva de mosquito. Para la alimentación de las larvas de mosquitos se utilizó peces *Aptilapia* Nivel 1. Los mosquitos adultos fueron alimentados con una solución azucarada y para inducir la oviposición de las hembras se uso un pollo como fuente de sangre (Pérez-Pacheco *et al.* 2004).

Para la infestación de larvas de mosquito, se utilizaron medios de cultivo de cuatros semanas de almacenamiento, los cuales se inundaron por dos horas para provocar la eclosión de los huevos de nematodos y así obtener los preparásitos. Una vez confirmada la presencia de huevecillos y preparásitos en el microscopio, éstos fueron tamizados y concentrados para la fijación inmediata.

3.1.3. Obtención de Adultos.

Se seleccionaron al azar 100 especímenes juvenil 4 de cada especie procesándolos en los dos días posteriores a su emergencia de la siguiente manera: fueron separaron por sexo aparente con base a la presencia o no de la muesca vulvar. Luego se depositaron en placas de cultivo de tejidos con 12 pocillos, a los cuales se les agregó arena para facilitar la muda. La muda se obtuvo a los 6-8 días siguientes a 27 ° C. Una vez confirmada la muda completa fueron procesados para su posterior análisis al microscópico.

3.1.4. Preparación de muestras para microscopia óptica (MO).

Los especímenes en fase huevo, juvenil 2 y adultos fueron depositados en viales con 1 ml de agua destilada y tratados a baño María a 63 °C durante 3-4 minutos. Posteriormente los organismo fueron puestos en una solución fijadora de formalina al 4.5 % para ser procesados con la técnica de Glicerina para estudios morfométricos (Seinhorst, 1962).

Los especímenes resultantes fueron montados en portaobjetos para su observación.

3.1.5. Preparación para microscopía electrónica de barrido (MEB).

Huevo y Juvenil 2

Las fases huevo y J2 fueron fijadas con una solución de paraformaldehído al 2% (en solución tampón de fosfatos) dentro de viales y sumergidos en agua a 63° C durante 2 horas. Posteriormente se realizaron 3 lavados con solución lavadora de fosfatos durante 10 min y postfijado con Tetraóxido de Osmio (OsO₄) al 2%. Posteriormente se realizó una deshidratación sucesiva con alcoholes del 10 al 90 % (9 pasos) 5 min c/u. El decimo paso fue por triplicado con alcohol al 100% durante 10 min c/u. Posteriormente las muestras fueron secadas a punto crítico con dióxido de Carbono (CO₂) y bañadas en Oro (Au) para ser observadas al microscopio electrónico de barrido.

Adultos

Se seleccionaron de 10 a 15 ejemplares de cada especie y sexo en los dos días posteriores a la muda. Los nematodos fueron depositados en viales y sumergidos en agua a 63° C durante 3-4 min para la relajación y muerte antes de ser fijados con formalina al 4.5% por al menos 2 días. Posteriormente, fueron postfijados con OsO₄ al 2 % y lavados con solución lavadora de fosfatos dos veces. Deshidratados con cambios sucesivos de alcoholes del 10 al 90% 5 min c/u, el último cambio con alcohol absoluto por triplicado durante 10 min c/u. Posteriormente las muestras fueron secadas a punto crítico con CO₂ y bañado en Oro y finalmente observados en microscopio electrónico de barrido.

3.1.6 Parámetros determinados.

Estadio	Microscopía óptica (MO)	Microscopía electrónica de barrido MEB
Huevo	Diámetro	Aspecto general
J2	Longitud total Longitud punta-anillo nervioso Longitud punta-trofosoma Longitud al primordio genital Índice A	Aspecto general Parte anterior Estilete Papilas cefálicas anfidios
J2	Ancho a las papilas cefálicas Ancho al anillo nervioso Ancho máximo	Parte posterior Cola Primordio genital Rudimento anal

<p>Machos</p>	<p>Longitud total Longitud punta-anillo nervioso Longitud punta-trofosoma Longitud final de trofosoma-termino Longitud Espicular Índice A</p> <p>Ancho a las papilas cefálicas Ancho al anillo nervioso Ancho máximo Ancho al final del trofosoma</p>	<p>Aspecto general</p> <p>Parte anterior Papilas cefálicas anfidios</p> <p>Parte posterior Cola</p> <p>Papilas caudales (posición y numero)</p>
<p>Hembras</p>	<p>Longitud total Longitud a la vulva (%) Longitud punta-anillo nervioso Longitud punta-trofosoma Longitud final de trofosoma-termino Índice A</p> <p>Ancho a las papilas cefálicas Ancho al anillo nervioso Ancho máximo Ancho (vulva) Ancho al final del trofosoma</p>	<p>Aspecto general</p> <p>Parte anterior Papilas cefálicas anfidios</p> <p>Parte media vulva Parte posterior Cola Apertura vulvar</p>

3.1.7. Procesamiento de la información

Los datos morfométricos fueron obtenidos con un microscopio óptico (Motic BA410) y medidos con el programa Motic Plus, ver. 2.0. Las observaciones de la fase huevo y J2 fue a 1000x, en adultos la longitud y posición vulvar se determinó a 40x. Todos los parámetros adicionales fueron establecidos a 400x. La información obtenida producto de las mediciones se analizó con el programa estadístico S.A.S (Statistical Analysis System) ver. 9.0. En cada parámetro se obtuvieron las medias, varianza y rango de cada especie. Se realizaron comparación de medias (ANDEVA) y la prueba de medias de Tukey para establecer diferencias entre las especies.

Las imágenes obtenidas fueron contrastadas o mejorado el enfoque utilizando Adobe Lightroom 3.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de los estudios de morfología y morfometría de las cuatro especies de nematodos se presentar ordenados por especie, en cada una de las cuales se describe y analiza las tres fases de desarrollo huevo, juvenil J2 (preparasíticos) y adultos confrontando la información obtenida con la descripción original de las especies o revisión bibliográfica de las mismas.

Todas las unidades son en micras.

4.1. Romanomermis culicivorax (Rc).

4.1.1 Huevos

Los huevos de *Romanomermis culicivorax* son estructuras de forma esférica a ovalada, en ocasiones aplanadas en los polos dependiendo el grado de desarrollo del preparasítico, sin ornamentaciones (*ex situ*) ni estructuras complementarias (figuras 1 y 2). Diámetro promedio fue de 74.4 registrando variaciones ± 6.8 (59.6-98.8) ver figura 3.

En las observaciones al microscopio electrónico de barrido (MEB) induso a aumentos superiores a los 10000 X no se pudo establecer algún patrón o característica distintiva de la superficie del huevo. Todos huevos se trataban de estadios larvados presentando juvenil 1 en su interior. En las inspecciones al microscopio óptico se observó que, la disposición de los huevos fue en su totalidad con posición costal lo cual indica que no son esféricos. Dada la apariencia similar no fue posible establecer diferencias con las otras especies.

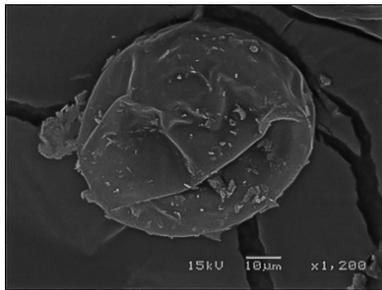


Fig. 1

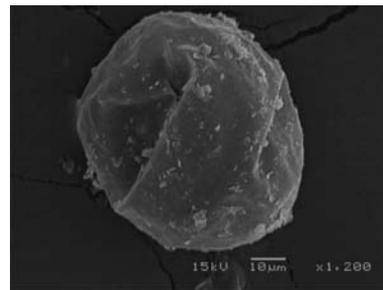


Fig. 2

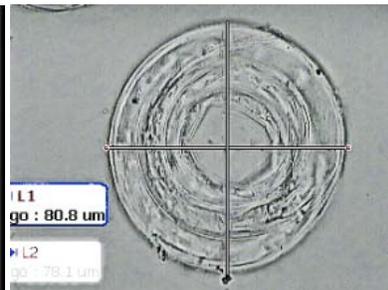


Fig. 3

4.1.2 Juvenil J2

Organismo vermiforme con ancho máximo ubicado en el primer tercio (fig. 4). Apertura oral terminal, cabeza homocefálica redondeada con seis papilas cefálicas protruyentes sin presencia de lóbulos como en adulto; presencia de anulaciones en la parte anterior. Anfidios laterales de forma circular con depresión circular central. Cuerpo estrechándose conforme se aproxima al término (fig. 5). Cola con terminación redondeada (fig.6).

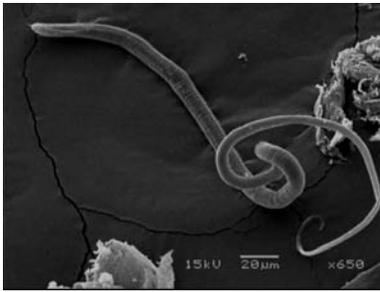


Fig. 4

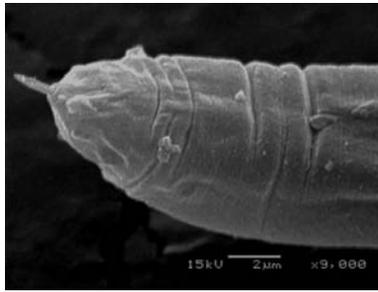


Fig. 5

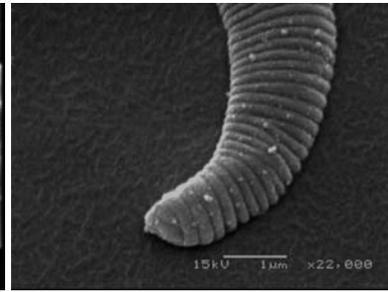


Fig. 6

Tabla 1 Datos morfométricos de RC J2

Longitud total:	807.0	±	75.10	(633-1019)
L. anillo nervioso:	79.6	±	11.30	(56-100)
L. al trofosoma:	321.0	±	52.00	(208-400)
L. primordio genital:	366.0	±	46.00	(234-434)
Ancho a las papilas:	4.6	±	.70	(3.6-6.4)
A. al trofosoma:	10.9	±	.73	(9.2-9.8)
A. al máximo:	10.5	±	.76	(9.2-12.8)
Índice A:	83.9	±	12.50	(55-115.9)

Durante las observaciones al microscopio electrónico de barrido (MEB) no fue posible establecer presencia del poro excretor y rudimento anal. Durante las exploraciones al microscopio óptico MO fue posible solo en 2 ocasiones observar un vestigio o ducto anal al final del trofosoma que conecta a la parte exterior ventral del espécimen, lo cual parecía un reducto de ano. El primordio genital fue visible la mayoría de las ocasiones excepto en 5 especímenes. Por tamaño en longitud este nematodo fue el tercer más largo no pudiéndose diferenciar estadísticamente de *R. iyengari* (Ri). El ancho fue el mayor del género. El primordio genital se ubico al 45% del organismo juvenil y manteniéndose al convertirse en adulto.

4.1.3 Adultos

Nematodo con cabeza conectada al cuerpo por una ligera depresión; parte cefálica de simetría hexagonal con apertura oral en posición terminal; seis lóbulos, cada una con papila en los extremos en un solo plano; las papilas ventrales y dorsales constituidas por 3 poros (fig. 11), mientras que las laterales con dos poros. Par de anfidios ubicada entre cabeza y cuerpo en posición lateral ligeramente ventral con orificio en forma de pera; anfidios pequeños (2.5 µ en la parte más ancha) menor a una decima parte del ancho del cuerpo. Parte anterior del organismo con aspecto octagonal (fig. 7). El aspecto general de la cutícula fue con presencia de estriaciones anulares no cruzadas (fig. 7 b).

Papilas postcaudales en macho dispuestas en 3 líneas, línea media bifurcándose poco antes de la salida espicular; espícula doble unida en la punta (fig. 10); hembras con apertura vulvar simple (35 µ) sin solapa ni protruyente (fig. 9).

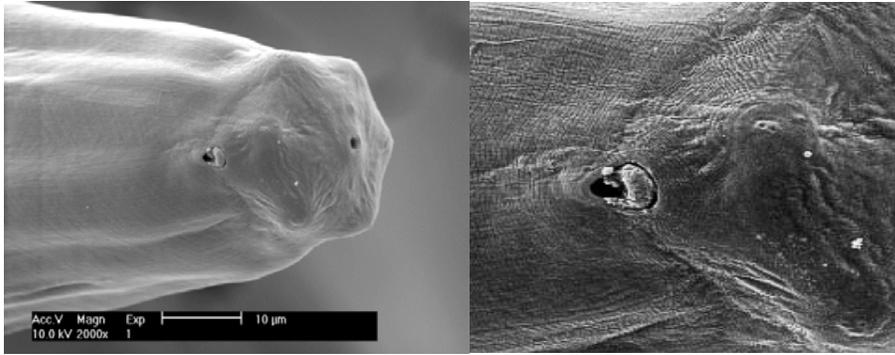


Fig. 7 parte anterior

fig. 7 b detalle de parte anterior

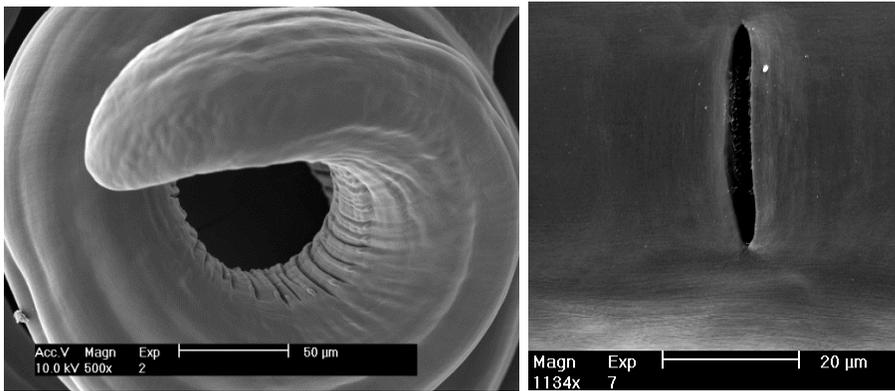


Fig. 8 posterior

Fig. 9 vulva

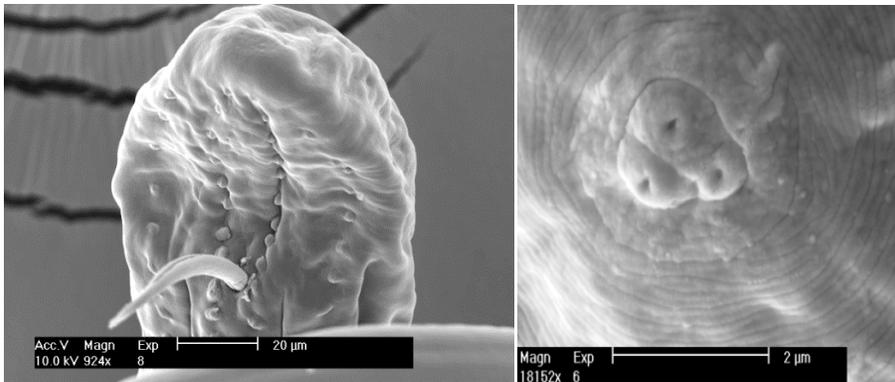


Fig. 10 espículas

Fig. 11 papila con 3 poros

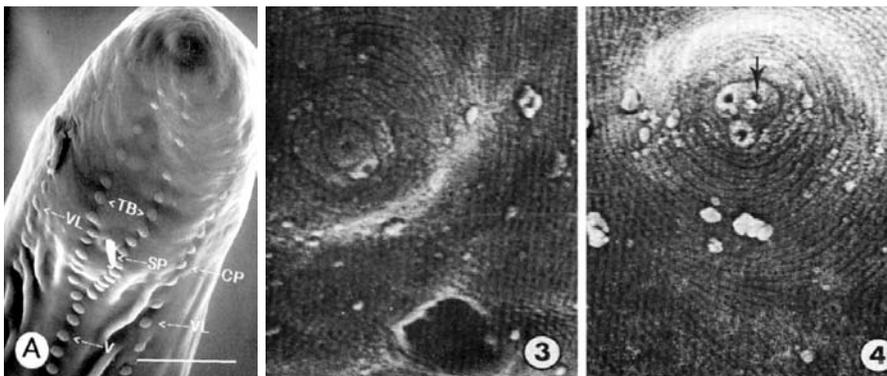


Fig. 12 a, b y c . Tomado de Jagdale 1994

Tabla 2. Datos morfométricos de Rc adultos

Hembras n= (12)				
Longitud:	11490.0	±	1347.0	(9878-14151)
L. anillo nervioso:	199.0	±	31.4	(124-238)
L. trofosoma:	288.0	±	43.5	(214-349)
L. final del trofosoma-Término:	173.5	±	53.6	(104-295)
Posición vulvar (%):	45.1	±	3.9	(39-51)
Índice A:	105.0	±	11.5	(90-129)
Ancho a las papilas cefálicas:	26.8	±	2.9	(22-31)
A. al anillo nervioso:	72.4	±	5.1	(65-80)
A. al trofosoma:	82.0	±	8.9	(71-98)
A. máximo:	102.0	±	30.9	(100-144)
A. al final del trofosoma:	83.5	±	7.2	(62-90)
Machos n=9-12				
Longitud:	7922.0		1019.0	(5422-9306)
L. anillo nervioso:	190.0	±	15.1	(169-220)
L. trofosoma:	268.0	±	19.7	(238-426)
L. final del trofosoma-Término:	243.0	±	11.8	(225-264)
Espícula (n=7):	370.0	±	74.9	(195-495)
Índice A:	79.2	±	10.3	(55-92)
Ancho a las papilas cefálicas:	24.4	±	2.5	(20-27)
A. anillo nervioso:	67.5	±	4.8	(57-74)
A. al trofosoma :	78.1	±	7.8	(64-91)
A. máximo:	100.2	±	7.4	(88-115)
A. al final del trofosoma :	87.7	±	5.1	(79-96)

Los organismos obtenidos comparados con revisiones y descripciones anteriores presentan una reducción longitudinal entre 32-40 % para el caso de las hembras y 20-32% para el caso de los machos. La posición vulvar se ubico al 45 %, 3 puntos porcentuales menor a los reportados en la descripción de género, sin embargo este dato se corresponde con el estadio J2. La posición del anillo nervioso expresado como índice muestra ligero incremento en machos (.023 vs .021) y en hembras de igual forma (.017 vs .015), es evidente el cambio proporcional entre los sexos. La longitud de las espículas es un parámetro similar 370 (presente) vs 395, este dato expresado como índice espicular sufre cambios considerables al involucrar una longitud menor de nematodo (ver tabla 2).

Wright y Richter en 1982 reportan 6 papilas cefálicas, de las cuales las ventrales y dorsales poseen 3 poros a diferencia de las laterales con solo 2 poros. También se coincide con la aseveración de la fina anulación posterior a los anfidios. Las prospección realizadas a las papilas caudales de Rc han

mostrado que los machos poseen 98 papilas caudales lo cual no fue posible constatar en el presente estudio, sin embargo comparando las papilas postcaudales se encontraron ejemplares con 32 papilas caudales a diferencia de las 30 que homogéneamente habían reportado (Jagdale y Gordon, 1994) (fig. 10).

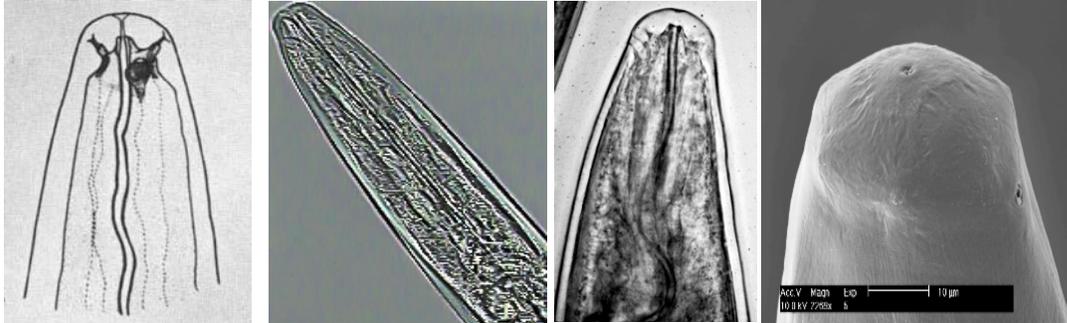


Fig. 13 anterior a, b, c y d

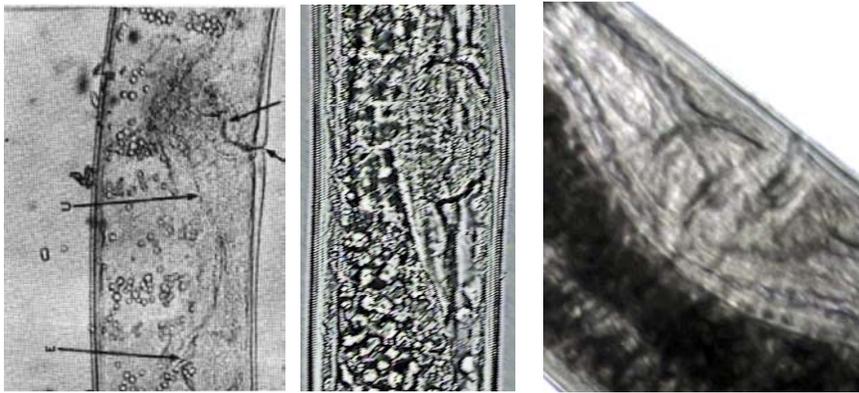


Fig. 14 vulva a, b y c



Fig. 15 posterior a, b y c

Los especímenes caracterizados presentan en la parte anterior la forma característica del género *Romanormis* (fig. 13) sin embargo, no fue posible definir un patrón generalizado del ángulo de las papilas cefálicas para distinguir entre los integrantes de este género. La parte vulvar de las hembras mostró forma de pera con flexión del canal vaginal acorde a la descripción de Ross y

Smith para la especie *R. culicivorax* (fig. 14 b y c). En la parte posterior fue posible apreciar el par de espículas largas con la base nodular, (fig. 14 b) estrechándose y fusionándose en la parte distal.

4.2 Romanomermis iyengari (Ri).

4.2.1 Huevos

Estructura de forma redonda a aplanada según el grado de desarrollo del infectivo, con cutícula lisa y sin ornamentaciones. Los ejemplares documentados fueron todos estadios larvados *ex situ* (fig. 16 c). A diferencia del descriptor quien los menciona con forma oval (53-59 x 70-76) *in situ* (fig. 16 d) los datos obtenidos en este estudio fueron de apariencia semicircular (fig. 16 a, b y c) con diámetro= 73 ± 4.1 (60.4-84.8) . La discrepancia podría deberse a que el descriptor reportó huevos aun dentro del organismo (fig. 16 d) y al no estar larvados y contenidos dentro de la hembra hayan presentado la forma descrita.

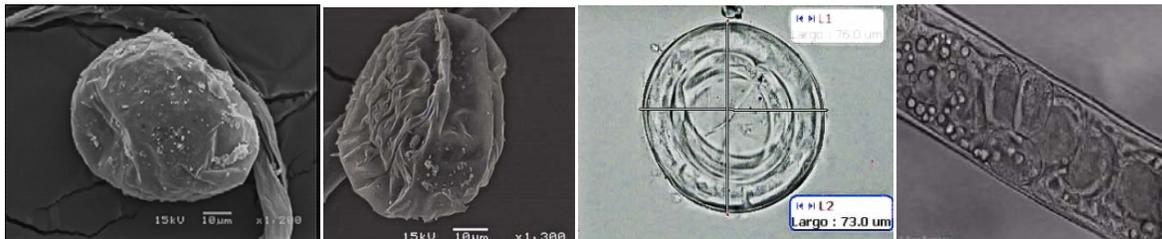


Fig. 16 a, b c y d

huevo *ex situ* 1000x

Huevo *in situ* 400x

4.2.2 Juvenil J2

Pre-parásitos con el ancho máximo en el primer tercio (fig. 17); parte anterior de aspecto octagonal (fig. 18); cabeza homocefálica sin lóbulos, apertura oral terminal y seis papilas cefálicas. Par de anfidios laterales circulares (.8 μ) con depresión central (.4 μ). Cola con grosor decreciente hacia término redondeado (fig. 19).

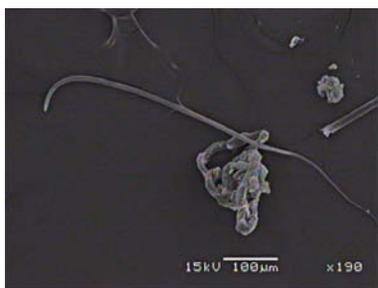


Fig. 17

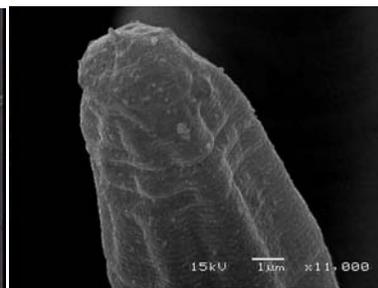


Fig. 18



Fig. 19

Tabla 3 Datos morfométricos de Ri J2.

Longitud total:	846.0	±	66.0	(676-969)
L. anillo nervioso	78.0	±	14.5	(37.5-98.5)
L. al trofosoma:	368.0	±	36.6	(322-494)
L. primordio genital:	397.0	±	26.1	(366-471)
Ancho a las papilas	4.8	±	.4	(3.7-5.6)
A. al anillo nervioso:	9.8	±	.8	(7.8-11.3)
A. al trofosoma:	9.9	±	.6	(8.4-11.1)
A. máximo:	9.3	±	68.0	(7.9-11.1)
Índice A:	90.3	±	7.3	(69-103)

La longitud estadística de Ri no fue posible distinguirla de Rc. El índice A fue el parámetro que permitió establecer diferencias entre todas las especies. La media de la posición del primordio genital fue al 46% del organismo. En los organismos de esta especie no fue posible establecer la presencia de poro excreto y rudimento anal en las observaciones al microscopio electrónico y óptico.

4.2.3 Adultos

Mermítidos elongados (fig. 20) presentando seis lóbulos en hexágono en la parte cefálica de las cuales dos son ventrales, dos laterales y dos dorsales ; en cada lóbulo una papila; papilas conformadas por 3 poros a excepción de las papilas laterales las cuales están conformadas por 2 poros . Cutícula con estriaciones circulares rodeando cada orificio, ligera depresión entre cabeza y cuerpo. Par de anfidios de forma triangular en posición lateral (Fig. 22). Espículas dobles unidas en el extremos distal (fig. 25 y 28). Vulva (40 μ) simple sin solapa ni protruyente (fig. 27). Término en cono redondeado tanto en hembra como en macho (fig. 24 y 28).

El descriptor de esta especie considera que los anfidios están situados en posición ligeramente dorsal. El presente análisis no comparte plenamente esa perspectiva, ya que los organismos presentaron los anfidios en posición lateral con variaciones tanto dorsales como ventrales (fig. 22 y 26 b). Los anfidios mostraron una bolsa asociada y el poro anfidial no fue redondo sino romboidal a forma de pera (fig 22.). Así también es evidente que la forma de la boca del nematodo adulto es en forma de cono como lo menciona el descriptor. La posición del poro excretor está asociada con el bulbo nervioso (200-270 μ) nervioso como se menciona en estudios anteriores (26 c).

La parte distintiva de estos organismos lo presentan las hembras ya que el canal vaginal posee un vestíbulo el cual es característico de esta especie (fig. 27 a, b y c). Los machos presentan un par de espículas separadas en la base y rápidamente funcionándose y estrechándose en la parte distal (28 a y b). Al menos 17 papilas precaudales en la línea media y 10 en la lateral.

El grosor máximo de los adultos fue 28% menor y para el caso de las hembras 40% menos. La posición vulvar fluctuó del 40% al 49% a diferencia del rango 46-52% reportado por Welch. Por otra parte las espículas de esta especie mostró los ejemplares más largos aun que

estadísticamente no se establecieron diferencias, si fue notable que el rango de los ejemplares se destacaron por su longitud.

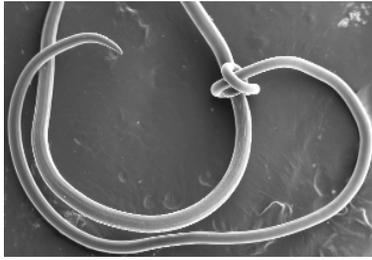


Fig. 20

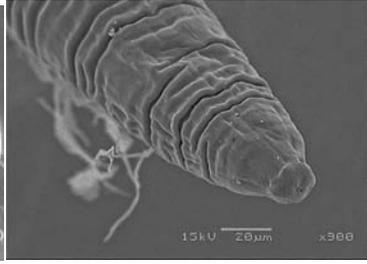


Fig. 21

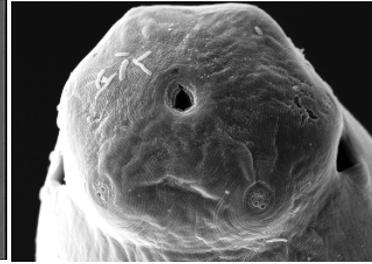


Fig. 22

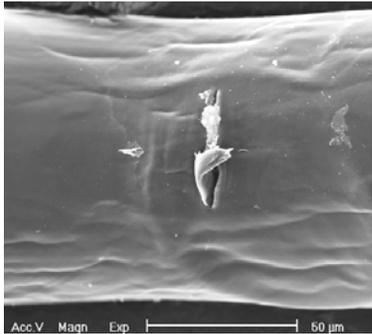


Fig. 23

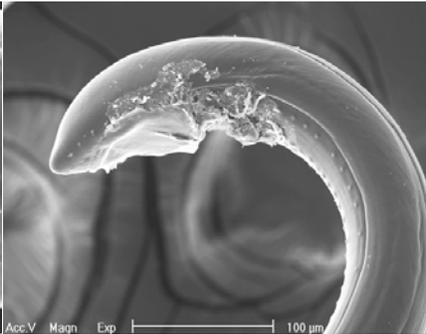


Fig. 24

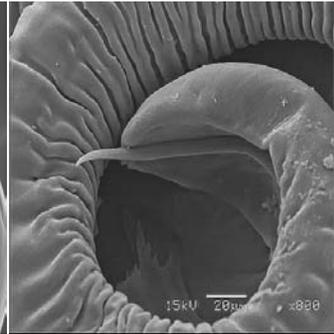


Fig. 25

Tabla 4 Datos morfométricos de Ri adultos.

Hembras: n=10				
Longitud:	9861.0	±	1197.0	(8036-11423)
L. anillo nervioso:	193.0	±	11.2	(167-205)
L. trofosoma:	280.0	±	32.2	(218-326)
L. final del trofosoma-Termino:	173.0	±	27.9	(121-221)
Posición vulvar (%):	46.0	±	3.4	(40-49)
Índice A:	88.0	±	26.3	(63-110)
A. a las papilas cefálicas:	24.0	±	3.2	(20-28.9)
A. al anillonervioso:	71.5	±	4.1	(67.7-82.8)
A. al trofosoma:	78.0	±	6.9	(70-93)
A. máximo:	111.0	±	14.1	(93-142)
A. al final del trofosoma:	86.6	±	9.0	(70.3-102.9)
Machos n=10				
Longitud:	9096.0	±	985.0	(7470-10857)
L. anillo nervioso:	191.0	±	13.3	(158-209)
L. trofosoma:	294.0	±	29.6	(240-400)
L. final del trofosoma-Termino:	489.0	±	176.0	(219-789)
Espícula:	364.0	±	129.0	(353-507)
Índice A:	86.2	±	6.6	(76-101)
Ancho a las papilas cefálicas:	27.4	±	3.5	(22.7-35.4)
Ancho al anillo nervioso:	70.7	±	8.4	(57-87)
Ancho al trofosoma:	78.8	±	9.0	(60.5- 99.9)
Ancho máximo:	105.0	±	8.9	(88.2-119)
Ancho al final del trofosoma:	85.8	±	5.4	(72-93)

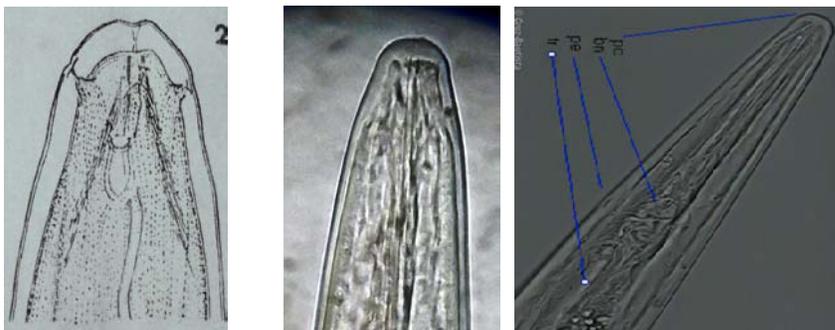


Fig. 26 a b, c. vista lateral de hembra

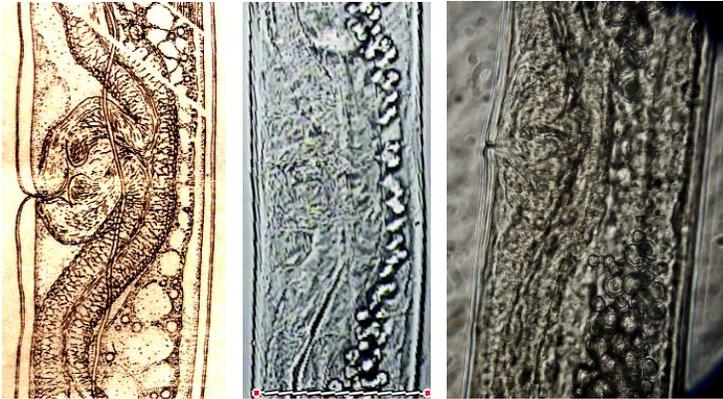


Fig. 27 a, b y c. flexión vulvar

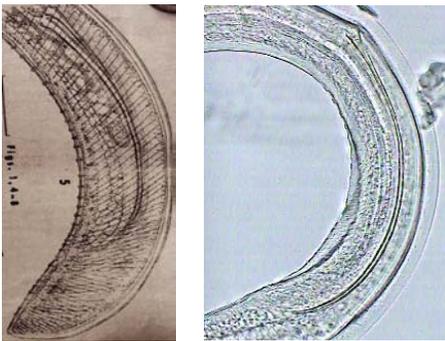


Fig. 28 a y b.

4.3 Romanomermis wuchangensis. (Rw).

4.3.1 Huevos

Huevos esféricos a aplanados en los polos (fig. 29 a, b), cutícula lisa sin ornamentaciones, Diámetro: 71.4 ± 5.9 (55.7-83.6). Los especímenes analizados en MO eran organismos larvados (fig. 29 c), la revisión de literatura de este organismo obtuvo resultados escasos no encontrándose datos comparativos para esta fase.

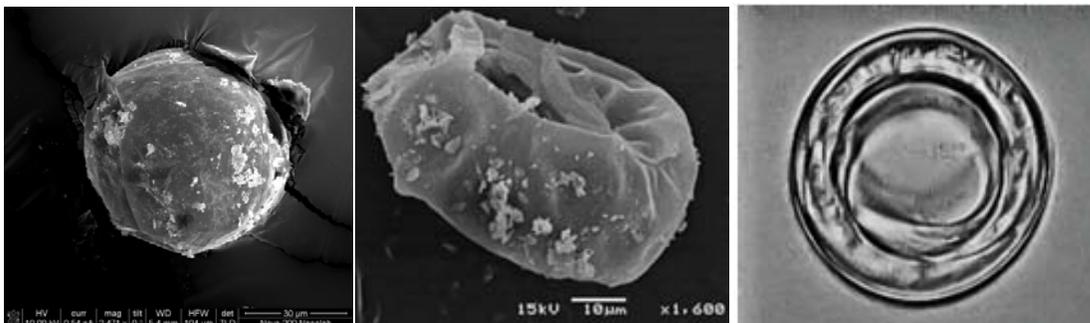


Fig. 29 a, b y c

4.3.1 Juvenil J2

Infectivo de aspecto vermiforme con ancho máximo en el tercio superior y disminuyendo conforme se aproxima al término (fig. 30 y 33). Cabeza homocefálica redondeada con presencia de seis papilas cefálicas protruyentes. Abertura oral terminal presentando labio y estilete (fig.32). Par de anfidios circulares en posición lateral ligeramente ventral .6 μ de diámetro con depresión circular interna (fig. 32). Cola larga y delgada (fig. 34) o larga y ligeramente clavada (fig.35).

Los resultados de la búsqueda de poro excretor y rudimento anal al MEB no mostraron resultados positivos. Al microscopio óptico de luz fue posible establecer el primordio genital en la mayoría de los especímenes ubicándose al 45 % (cuadro 5) en la mayoría de los casos. Esta especie fue la que mayor tamaño presente en este estadio.

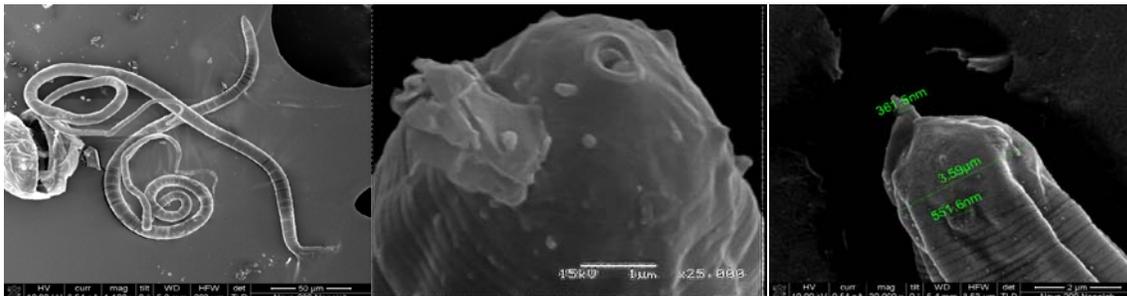


Fig. 30

Fig. 31

Fig. 32

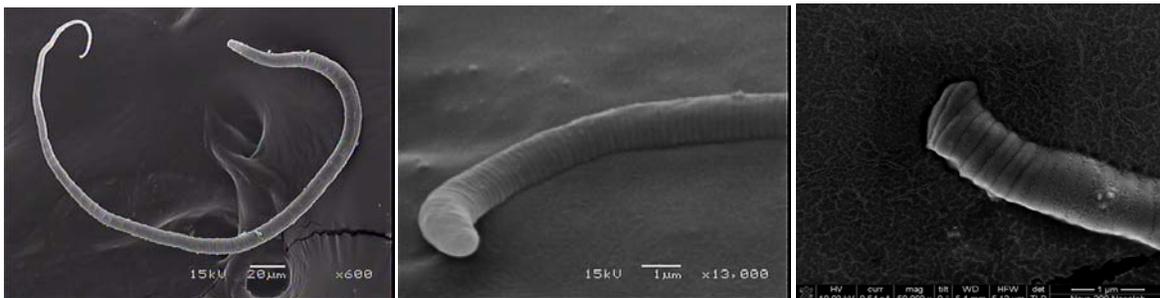


Fig. 33

Fig. 34

Fig. 35

Tabla 5 Datos morfométricos de Rw J2.

Longitud total:	901.0	±	71.0	(749-1116)
L. anillo nervioso:	81.0	±	17.5	(40.9-118)
L. al trofosoma:	369.0	±	39.9	(292-450)
L. primordio genital:	407.0	±	37.0	(346-483)
Ancho a las papilas:	4.3	±	.6	(3.3-5.9)
Ancho al anillo nervioso:	10.2	±	.8	(8.1-12)
Ancho al trofosoma:	10.0	±	.7	(7.9- 11.7)
Ancho máximo:	9.3	±	.7	(7.9-10.9)
Índice A:	97.3	±	5.8	(81-120)

4.3.1 Adultos

Nematodo elongado con parte anterior de aspecto octagonal; parte cefálica menor respecto al cuerpo con seis lóbulos en forma hexagonal; cada lóbulo con una papila; papilas ventrales y dorsales compuestas de 3 poros excepto las laterales con 2. Boca terminal presentando labio. Anfidios de forma triangular (a veces ovalados) con ancho de la base de 2.5 μ ; Anfidios en posición de lateral a latero-ventral. Vulva no protruyente con labio como solapa. Parte posterior del macho con papilas caudales en tres líneas; línea media bifurcándose antes de la salida espicular y uniéndose próximo al término.

La comparación de longitudes muestra una reducción en tamaño en los especímenes analizados del 25 % en el caso de las hembras y del 22 % en machos. De la misma manera también presentaron un ancho máximo menor en 24 % en hembras y 17 % en machos.

La distancia al anillo cefálico descrito es de 246 y el determinado fue 225 en hembras, para machos fue 207 vs 205..

Los anfidios reportados por el descriptor, son de tamaño medio 5.7 x 10.5 sin mencionar la forma, casi el doble de tamaño respecto a los nematodos de la bioplanta.

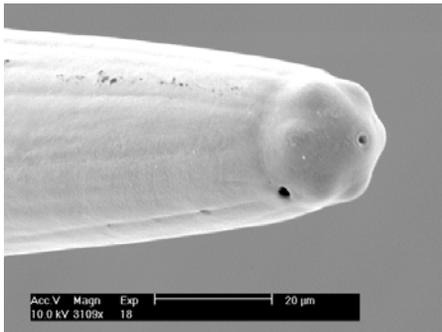


Fig. 36

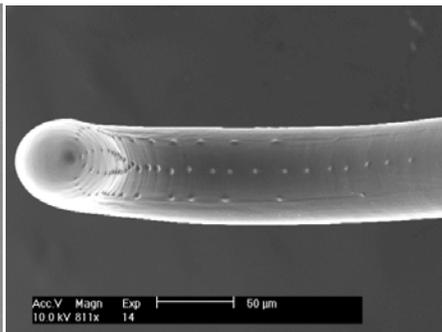


Fig. 37

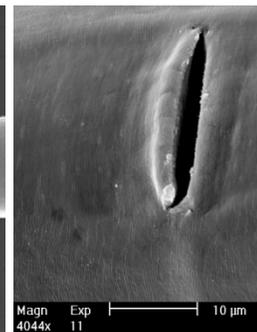


Fig. 38

Tabla 6 Datos morfométricos de Rw adultos

Hembras: n= 12				
Longitud:	15028.0	±	2159	(11970-19138)
L. anillo nervioso:	225.3	±	14.8	(203.5-274.8)
L. trofosoma:	309.8	±	37.6	(210.8-349.6)
L. final del trofosoma-Termino:	163.1	±	14.5	(137-187)
Posición vulvar (%):	48.5	±	3.3	(42-54)
Índice A:	112.3	±	10.9	(97-132)
A. a las papilas cefálicas:				(25.1-32.6)
A. al anillo nervioso:	84.0	±	6.6	(68.7-95.7)
A. al trofosoma:	92.5	±	9.2	(78.4-108.2)
A. máximo:	133.4	±	8.4	(115-126.9)
A. al final del trofosoma:	102.5	±	6.2	(93.1-112.7)
Machos n=12				
Longitud:	9477.0		1467	(7491-11319)
L. anillo nervioso:	205.1	±	13.6	(177.3-219)
L. trofosoma:	303.0	±	24.4	(263-345)
L. final del trofosoma-Termino:	258.0	±	14.6	(240-282)
Espícula:	391.0	±	47.7	(221-658)
Índice A:	80.1	±	16.8	(56-112)
A. a las papilas cefálicas:	26.2	±	2.4	(23.1-30.4)
A. al anillo nervioso:	69.3	±	6.0	(58.9-80.2)
A. al trofosoma:	80.5	±	8.6	(62.2-92.7)
A. máximo:	113.2	±	7.6	(100.9-129.8)
A. al final del trofosoma:	91.5	±	6	(85.6-104.9)

La parte anterior los nematodos presenta la forma y distribución papilar del género *Romanomermis* (fig. 39 c). Los anfidios variaron de medianos (fig. 39 b y c) a pequeños de forma triangular a pera con posición de ligeramente ventral a dorsal; otro rasgo característico solo encontrado en esta especie fue el patrón de la estriación cuticular de aspecto concéntrico, rodeando no solo las estructuras y aperturas cefálicas y presentándose en los espacios entre ellos; las líneas irregulares concéntricas.

El descriptor de esta especie argumenta como criterios para discriminar con Rc y Ri y *R. jingdeensis*, la flexión vulvar(fig. 40 a) mostrando la imagen sin describirla, las hembras observadas presentaron una apertura con un labio en forma de solapa; la apertura vaginal no es recta si no oval el canal vaginal fue recto (fig. 40 b y c) lo cual lo es distintivo de la especie; otra diferencia en

el caso de los machos es el índice espicular 35, el cual en este caso fue 24.2 similar al de Ri (24.9) y Rc (21) . el numero y disposición de las papilas caudales fue similar = 78 (fig. 40 a) diferencia muy marcada con Rc el cual presenta 98 papilas caudales (Jagdale y Gordon, 1994)

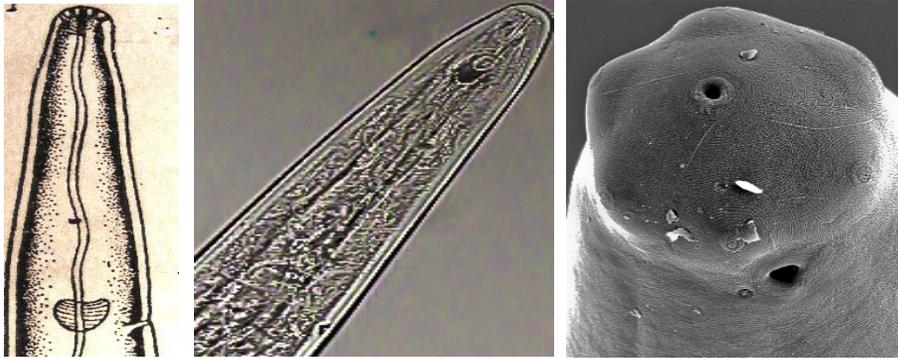


Fig. 39 a, b y c

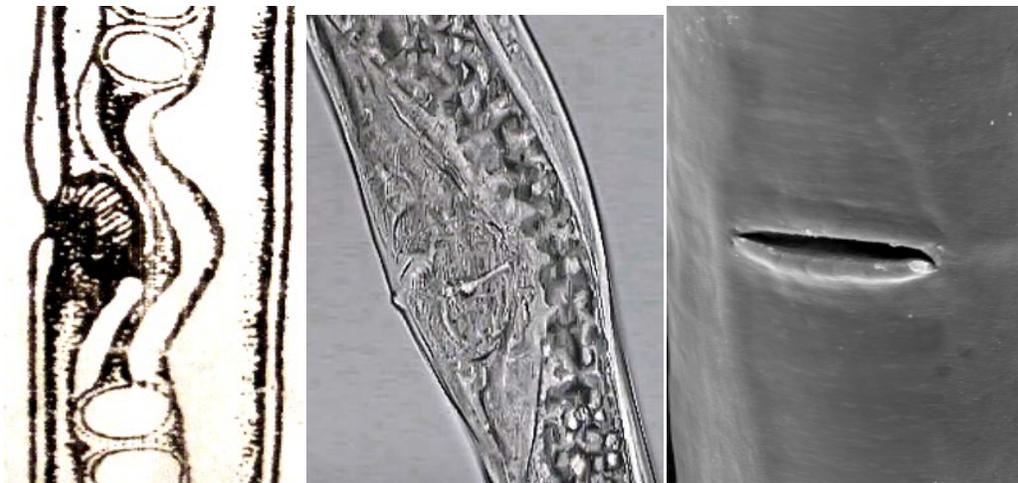


Fig. 40 a, b y c

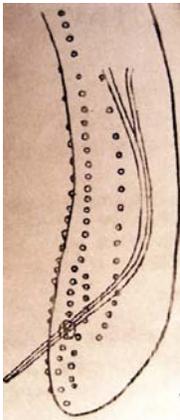
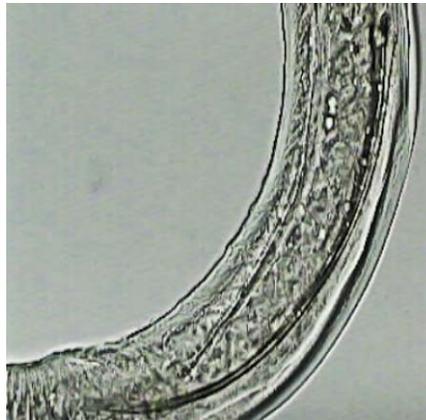


Fig. 41 a, b y c.



4.4. *Strelkovimermis spiculatus* (Ss).

4.4.1 Huevos

De aspecto esférico, en ocasiones corrugado y presentando pliegues (fig. 42, 43 y 44); sin ornamentaciones o estriaciones en la cutícula. Diámetro=50 ± 6.1 (42.6-75.9). El diámetro promedio obtenido es similar a la descripción original 51 (41-58) (Camino y Poinar, 1986), incluyendo el margen inferior del rango, no así en el margen superior donde fueron encontrados especímenes de hasta 75 micras.

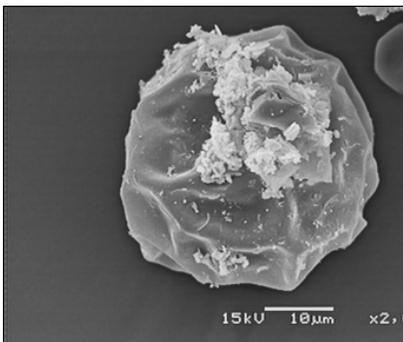


Fig. 42

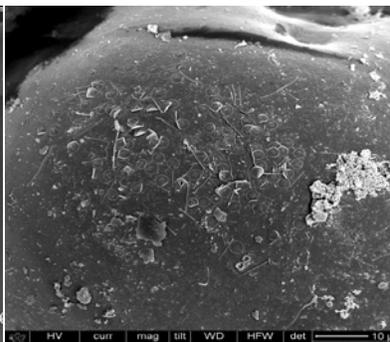


Fig. 43



Fig. 44

4.4.2 Juvenil J2

Preparasíticos con la parte más robusta en el primer tercio (Fig. 45). Cabeza homocefálica con seis papilas cefálicas conspicuas en un plano; sin presencia de lóbulos. Estilete puntiagudo. Anfidios de forma elipsoidal (2.5-3 x.5-1 micras) en posición lateral media; bolsa anfidal en la parte dorsal (Fig. 46). Cola delgada con término redondeada (Fig. 47).

Los parasíticos esta especie fueron los más pequeños de las especies evaluadas. Las busque al MEB y MO no arrojaron resultados positivos. El primordio genital en esta especie solo fue posible

ubicarla en 15 especímenes, frecuencia baja comparadas con las especies del otro género. La ubicación de primordio se encontró al 40 % del organismo con una fluctuación del 30 % al 48 %.

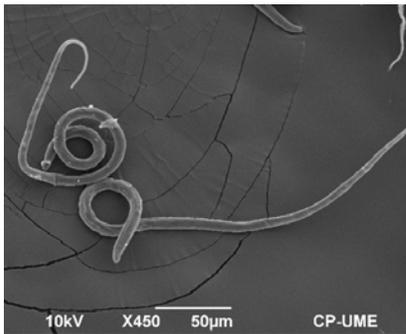


Fig. 45

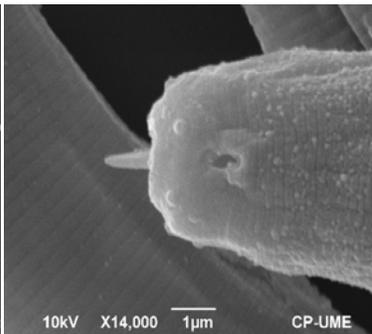


Fig. 46

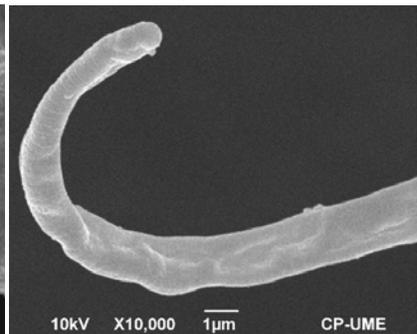


Fig. 47.

Tabla 7 Datos morfométricos para Ss J2.

Longitud total:	486.0	±	37.5	(389.7-594)
L. anillo nervioso:	43.9	±	12.0	(30.8-85)
L. al trofosoma:	187.0	±	37.0	(125.8-305)
L. primordio genital:	198.0	±	25.0	(145.8-234)
Ancho a las papilas:	4.8	±	1.0	(3-9)
A. al anillo nervioso:	9.0	±	.5	(7.9-10.2)
A. al trofosoma:	10.0	±	.7	(7.9- 11.7)
A. máximo:	8.1	±	.6	(6.9-9.9)
Índice A:	59.5	±	5.8	(48-73)

4.4.3 Adultos

Nematodo elongado. Parte anterior con 6 papilas cefálicas. Apertura oral desplazada hacia la parte ventral. Anfidios medianos (2.5 x 4) de forma triangular en posición lateral notablemente desplazados hacia el dorso (entre papila lateral y dorsal) (fig. 48). Machos con 3 líneas de papilas caudales; línea media bifurcándose ligeramente y rodeando la salida espicular; líneas de papilas caudales laterales presentando un pliegue que une a cada papila lateral (fig. 49);. Papilas caudales solo en machos, dispuestas en tres líneas; once preespiculares y seis postespiculares, línea media zigzageante. Hembra con apertura vulvar recta simple (fig. 59), no protruyente, canal vulvar en forma sigmoidal (fig. 52 b). Adultos sin apéndice caudal con término en forma de cono.

Los organismos analizados muestran los rasgos distintivos de *Strelkovimermis spiculatus* al presentar en la parte anterior una apertura oral ventral, los anfidios en posición dorsal (51 a y c); la apertura vulvar aunque ligeramente protruyente tuvo el distintivo canal vaginal en forma sigmoidal (fig. 52) b y en la parte posterior el terminó conoide con presencia de espículas cortas (fig. 53 b y c) con punta fusionada (fig. 54 b). El arreglo de las papilas caudales coincide con lo descrito originalmente por Poinar y Camino.

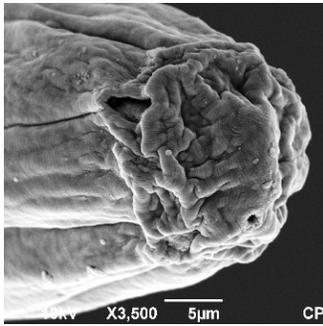


Fig. 48

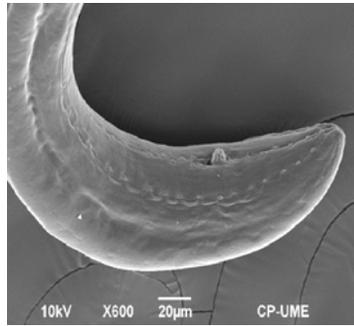


Fig. 49

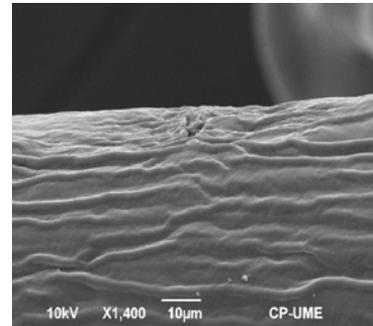


Fig. 50

Tabla 8 Datos morfométricos de Ss adultos.

Hembras: n= 9				
Longitud:	14900.0	±	14.7	(11380-16835)
L. anillo nervioso:	156.0	±	14.5	(137.7-182.2)
L. trofosoma:	249.3	±	17.4	(218-275)
L. final del trofosoma-Termino:	141.0	±	22.1	(83.2-173.2)
Posición vulvar (%):	46.4	±	4.3	(34- 53)
Índice A:	99.0	±	13.9	(80-125)
A. a las papilas cefálicas:	34.9	±	1.6	(31.8-37.9)
A. al anillo nervioso:	70.4	±	3.5	(65.2-76.2)
A. al trofosoma:	79.7	±	6.9	(70.1- 93.2)
A. máximo:	141.5	±	9.9	(126.9-158.3)
A. al final del trofosoma:	95.7	±	4.3	(88.6-103.4)
Machos n=				
Longitud:	11023.0	±	1721.0	(8429 - 14114)
L. anillo nervioso:	190.0	±	18.3	(107.9 - 170.9)
L. trofosoma:	234.0	±	38.8	(138.9 - 295.2)
L. final del trofosoma-Termino:	186.0	±	56.0	(96.5 - 269.7)
Espícula:	94.0	±	15.0	(72 -129)
Índice A:	99.7	±	16.7	(78-129)
A. a las papilas cefálicas:	32.6	±	4.2	(21.8-37)
A. al anillo nervioso:	64.3	±	4.8	(56.4-73)
A. al trofosoma:	92.5	±	9.2	(78.1-108.2)
A. máximo:	111.5	±	14.8	(87.4- 140)
A. al final del trofosoma:	79.3	±	16.0	(41.6-96.3)

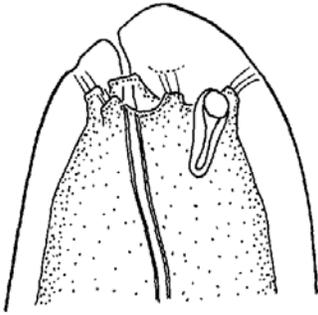


Fig. 51 a, b y c Vista lateral

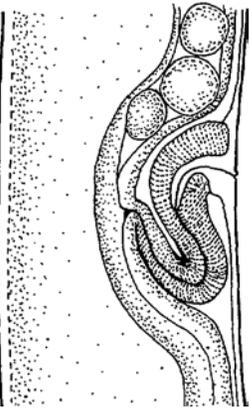
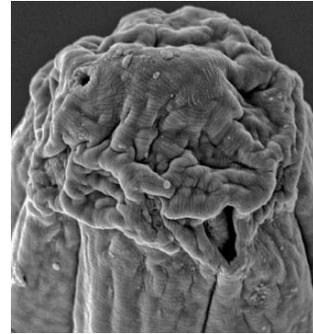


Fig. 52 a, b y c

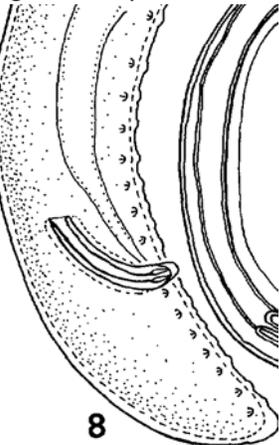
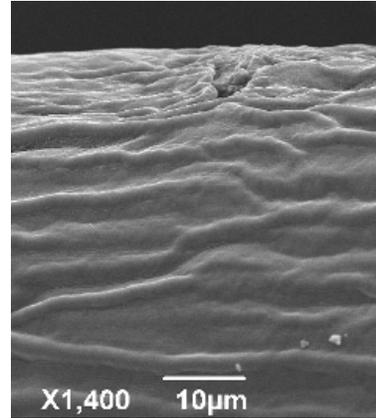


Fig. 53 a, b y c

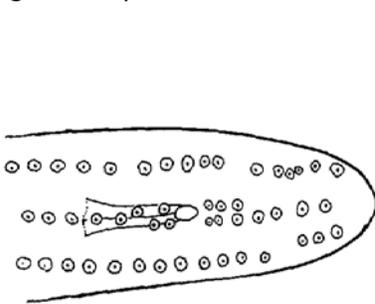
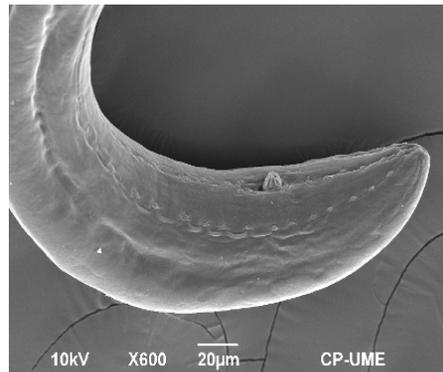
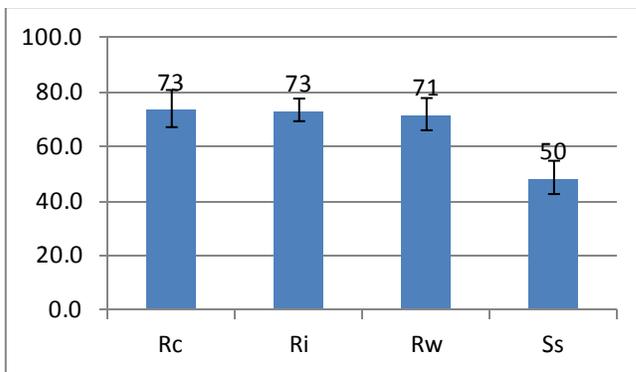


Fig. 54 a y b



4.4.4 Discusiones generales

La apariencia de los huevos al MEB fue similar, no pudiendo establecerse una diferencia entre las cuatro especies, no presentaron ornamentación ni estructuras como bisy presente en algunos miembros de la familia (Nickle, 1972). Los huevos Ss mostraron artificios adheridos a la cutícula de los huevos observados (fig. 37). La identidad fue establecida como huevecillos degenerados con un diámetro de 1 μ ., dado el aspecto circular con presencia de un núcleo central. En los huevecillos obtenidos de las cuatro especies se trataban de estadios larvados. Los análisis morfométricos mostraron diferencia estadística a nivel género (grafica 1). También fue identificada características en la posición en los especímenes a este nivel, las especies pertenecientes a *Romanomermis* presentaron una disposición costal debido al tamaño del nematodo, mientras que en el género *Strelkovimermis* fue aleatorio, por lo que se presume son generalmente esféricos aun larvados.



Gráfica 1 diámetro de huevos

De la revisión de literatura realizada de las especies solo se encontró un antecedente sobre la preparación y observación en estas especies en esta fase al microscopio electrónico de barrido la cual fue incidental no abordándose en los objetivos del estudio (Nickle & Högger, 1974).. La experiencia planteada para el caso del género *Romanomermis* está centrada en organismos adultos. Nickle y Höger realizaron exploraciones de *Reesimermis nielseni* que más tarde sería trasladado al género *Romanomermis* y especie *culicivorax*.

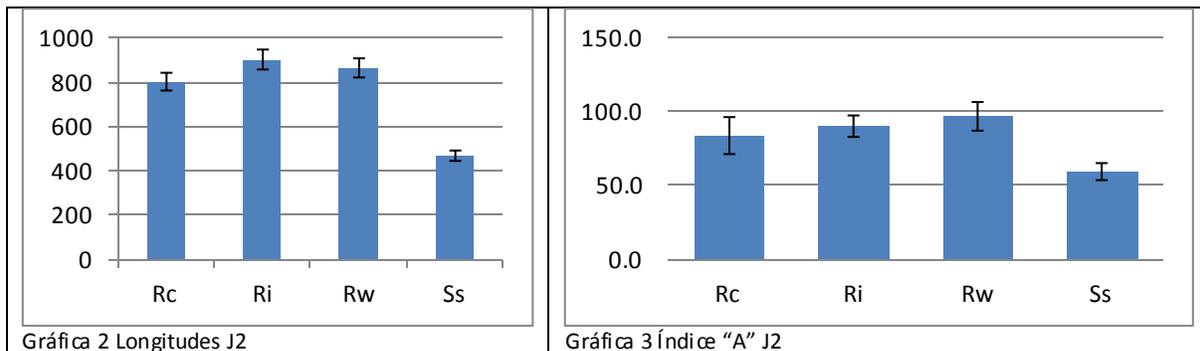
Los especímenes de todas las especies en esta fase mostraron resultados aceptables al ser procesados para MEB mostrando una turgencia adecuada. En todos los ejemplares J2 analizados no fue posible ubicar poro excretor, rudimento anal ni papilas caudales. El primordio genital mediante MO se localizó antes de la mitad del organismo a diferencia de datos reportados en *Octomyomermis* los cuales fueron localizados en el tercio posterior (Camino, 1991)

Los juveniles mostraron buena apariencia aun que la calidad de imagen se deterioraba al incrementar los aumentos a mas de 8000x. Aunque preparadas para MEB las muestras de origen orgánico pequeñas no se comportan de manera ideal (Bozzola, 1991)

La longitud del nematodo fue un parámetro de utilidad y permitió discriminar entre las distintas especies excepto Rc y Ri las cuales estadísticamente fueron similares (Ver grafica 2) Los cuatro

parámetros de longitud fueron útiles pudiendo separar hasta 3 grupos, para el caso de las anchuras Ri y Rw tuvieron estadísticamente el mismo ancho.

El Índice A fue el único recurso con el cual fue posible separar a las cuatro especies (grafica 3), aun cuando el cálculo estuvo basado en el ancho a la parte media, parámetro que por si solo permite distinciones a nivel género, mientras que el ancho al anillo nervioso y trofosoma permitió establecer diferencia a nivel especie. Por tal motivo un índice conformado por la longitud total entre el ancho al anillo nervioso o trofosoma se presenta atractivo. Estos parámetros son básicos en la caracterización morfométricos de nematodos por lo que además de ser útiles son prácticos de establecer en MO.



Con fines comparativos se presentan los siguientes datos: *Agameremis catadecaudata* (*Mermithidae*) exhibió una longitud total de 26000 μ, diámetro central de 15 μ (Baker & Poinar., 1995). En *Hidromermis conopogophaga* el primordio fue ubicado entre la parte posterior del esticosoma y el inicio del trofosoma (Poinar & Hess, 1974).; *Mesomermis camdenensis* en fase preparasítica presentó longitud de 683 μ y diámetro a la mitad 15.8 μ (Molloy, 1979) ; la fase preparasítica de *Octomyomermis arecoensis* tuvo como rango de longitud 545-713 μ y ancho a la mitad de 15-20.7 μ (Camino, 1991). a diferencia los mermítidos estudiado en el presente trabajo, el primordio genital estuvo presente en el primer tercio del intestino de la parte posterior del organismo.

Las imágenes obtenidas al MEB mostraron diferencias notables en Ss respecto de los integrantes del género *Romanomermis* al corroborar la posición ventral de la apertura oral y los anfidios desplazados hacia la parte dorsal. A pesar del notable colapso de los especímenes en la parte anterior y que con probabilidad ocasionara la aparición de pliegues que conectan las papila caudales, esto no afectó la posición de las estructuras como la apertura oral y anfidios. En todas las especies se encontró que las papilas cefálicas dorsales y ventrales están conformadas por tres poros mientras que las laterales por dos poros. En la parte posterior de Ss también fue distintiva la línea media de papilas caudales las cuales no se bifurcan notablemente como sucede en *Romanomermis*.

Rw como adulto mostró diferencia notable en el patrón del estriado cuticular el cual fue circular irregular alrededor de anfidios y la abertura oral. Ri presentó estriación cuticular con patrón

circular concéntrica alrededor de cada papila cefálica y de la abertura oral. Tanto Rc como Ri presentaron el mismo patrón de estriación cuticular, sin embargo, La estriación de Ri fue notablemente marcada en comparación con Rc.

Debido a la alta variabilidad encontrada en las estructuras cefálicas (forma, posición y ángulo de anfidios) no se encontró un patrón sólido que permitiera establecer una identificación basada en la región anterior. Sin embargo, para las hembras las flexiones vaginales fueron el elemento más robusto para discernir entre especies ya que la forma es particular para cada especie. En el caso de los machos, la cantidad de papilas caudales es la característica que permite distinguir entre las especies ($Ss \pm 49-50$, $Rw \pm 70$, $Rc = 98$, $Ri \pm 98$). Por otra parte Ross y Smith encontraron una variabilidad notable en el número de las papilas caudales de Rc a diferencia de Jagdale y Gordon quienes en los especímenes analizados el número fue constante. uno número similar sin indicar el rango exhiben el Ri en el reporte de Galloway y Brust dificultando establecer un criterio para discernir los machos de Rc y Ri.

A continuación la tabla con parámetros seleccionados de la revisión de género (Galloway y Brust, 1979) complementada con Rw y Ss.

Tabla 9 parámetros selectos.

	<i>Romanomermis</i>							Ss	
	Rc.	Rc2	Ri,	Rw	Rc,	Ri	Rw	Ss	Ss
Lt m	10000	10700	12500	12100	7922	9096	9477	9000	11023
Lt h	16800	18600	17000	20700	11490	9861	15028	19000	14900
V%	48	48	49	-----	45	46	48	51	46
Les	397	393	478	339	370	364	391	94	94
IS	25.2	27.4	26.2	35.7	21	24.9	24.2	95	117
Pca to	31	29	29	29*	29-33	30-33	25-28	19*	16
Anterior cloaca	23	20	22	17	24	20	20	9**	11
Posterior cloaca	8	9	8	12	8	10	8	10*	5
Pca lat	21	29	20	15				15-16	
Lan m	214	229	245	207	190	191	205	176	190
Lan h	245	278	209	246	199	193	225	200	156
lan m	.021	.021	.019	.017	.023	.020	.021	.019	.017
lan h	.015	.015	.013	.011	.017	.019	.014	.028	.010

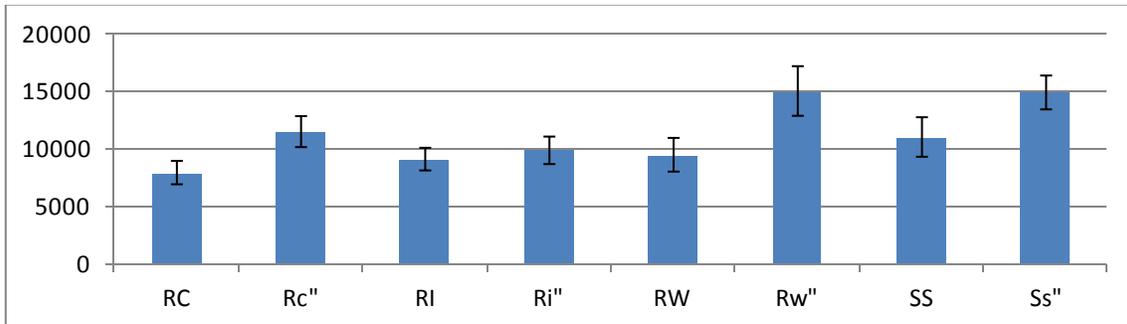
Nota: Lt m= longitud total machos; Lt h=longitud total hembra; Les= longitud espicular; IS= Lt/Les;Pca to= total de Papilas caudales en línea media; Pca lat= papilas caudales total; Lan h= longitud anillo nervioso; lan= longitud anillo nervios/ Lt.

Nota2: Rc= descripción original; Rc2= dato de 1979; Rx= género *Romanomermis*.

Nota3: Los datos sombreados corresponden al presente estudio.

Al comparar los datos resultantes con las descripciones es evidente la reducción en tamaños que presentan los organismos Rx producidos en la bioplanta, así también las hembras aun que conservaron el dimorfismo sexual fueron de talla menor comparada con las descritas (gráfica 4).

La media longitudinal de Ss machos fue superior en 20%; sin embargo las hembras Ss fueron en promedio 25% menor en longitud a las descritas originalmente. Caso destacado el de Ss machos quienes mostraron una longitud espicular idéntica con lo reportado, sin embargo dado su incremento en tamaño longitudinal el índice resultante fue mayor 22 % y en las hembras el índice vulvar tuvo una disminución 5%.



Gráfica 4 Longitudes machos y hembras.

Los datos más conservadores lo presentaron las espículas y la posición vulvar. Las espículas en cuanto a tamaño fueron muy similares a los datos reportados originalmente.

Rc la hembras mostraron una disminución de 3 % en la ubicación de la vulvar mientras que los machos una disminución de al menos 20 micras en la longitud espicular lo cual resulto en un índice espicular de alrededor de 6 unidades. .

Ri la diferencia entre machos y hembras fue apenas notoria caso único entre las especies analizadas. En general los resultados muestran una disminución en 27 % en machos y 42 % en las hembras respecto a los datos previos para esta especie. La longitud de las espículas fueron similares en las tres especies, descandose la disminución de Ri al presentar una disminución de 114 micras en promedio.

En Rw la longitud de la espícula fue mayor en 52 micras sin embargo, el índice espicular resultó menor en 11.5 puntos al involucrar organismos de menor tamaño.

De manera similar el índice De de manera inversa los índices del anillo nervioso se vio afectada debido al incremento o disminución en la talla de los organismo.

Del análisis de datos de la tabla anterior se desprende lo siguiente:

Curran en 1981 publicó datos morfométricos de Rc, producidos según la técnica de Petersen, en ese estudio, evaluó la variación intraespecifica de la progenie de una sola hembra con temperatura (20 y 27° c), intensidad de parasitismo (1 y 2 nematodos por larva) y dos especies de hospedero . Todos los parámetros evaluados presentaron diferencias estadísticas excepto el ancho

al final del trofosoma. Los datos combinados de la longitud en hembras fluctuaron entre 167571 ± 2981 (10710-24390) y para machos fue 10207 ± 1524 (5800-14950). Las fluctuaciones no fueron constantes entre sexos.

Los datos descriptivos de Rc fueron realizados en base a ejemplares colectados en ambientes naturales sin considerar el número de nematodos por larvas mientras que los reportes posteriores fueron en base a producciones artificiales; para el caso de Ri este fue encontrando parasitando *Anopheles subpictus*; Rw en *Culex tritaeniorhynchus* y Ss parasitaba *Aedes albifasciatus*.

Los resultados morfométricos obtenidos de las poblaciones de la bioplanta muestran una talla pequeña, esto es posiblemente debido a diferencias durante la producción como especie del hospedero, índice parasitario mayor (5:1) y/o densidad de cultivo.

Los efectos del cultivo masivo han sido estudiados con anterioridad por (Petersen, 1980) teniendo como consecuencias organismos con malformaciones teratológicas (ausencia o aparición de características poco usuales). El hiperparasitismo deriva en una proporción mayor de machos respecto a hembras y organismos de menor talla (Curran, 1981). Una alimentación deficiente en proteínas o en la calidad de estas tuvo como efecto la sincronía con el hospedero, resultando en una emergencia prematura por lo tanto una recuperación menor de postparasíticos así también afecta la talla del nematodo (Gordon, 1981)

Las especies del género *Romanomermis* en estudios taxonómico moleculares han mostrado una distancia menor al taxón género, es decir se encuentran estrechamente relacionados (Wang, 2007) pudiéndose tratar de especies alopátricas (Ross & Smith, 1976). El fenómeno de la hibridación en el género *Romanomermis* fue analizado al intentar hibridar *R. nielsenii* (Tsa y Grundman) y *R. culicivorax* (Ross y Smith) sin observar desarrollo ni ovoposición de las hembras. Posteriormente se analizó la factibilidad del cruzamiento de *R. communensis* con *R. culicivorax* llegando a observar hembras grávidas, ovoposición y una generación de preparasíticos. (Galloway y Brust, 1982) aunque no se consideró un éxito y tampoco se especificó características morfológicas de los descendientes si se hizo énfasis en los retos taxonómicos (morfológicos)(Galloway & Brust, 1982) que implica el cruzamiento de dos especies emparentadas y con escasos rasgos morfológicos distintivos.

Fuera del género *Romanomermis* la hibridación de dos especies emparentadas tuvo consecuencias alternas como el caso de *Cooperia oncophora* y *Cooperia pectinata* donde el resultado de la hibridación fue la mezcla de caracteres y la aparición de un único carácter propio, el cual fue una singular espícula. Las generaciones posteriores a F1 fueron infértiles (Isenstein, 1971). De presentarse un caso de hibridación en los especímenes analizados, estos podría con mayor probabilidad presentar rasgos sutiles difícilmente discernibles por morfología tradicional, lo cual implicaría el uso de técnicas como las moleculares para el elucidar taxonómico de los especímenes.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los huevos de las distintas especies no presentan características particulares en la superficie por lo cual no parecen ser un estadio de importancia taxonómica dentro de las especies estudiadas.

Los diámetros y disposición del espécimen permiten distinguir entre géneros.

Reportes anteriores señalan diferencias en el grosor de la cutícula de Rc y Ri por lo que un análisis del grosor o de las capas presentes podría resultar de interés.

Los especímenes J2 pueden ser diferenciados mediante el cálculo del índice A. sin embargo, dado que los rangos se traslapan en el género *Romanomermis*. En trabajos de campo el empleo de especies de géneros distintos podría simplificar la identificación de especímenes en campo.

Para establecer la identidad especímenes hembras adultas solo es necesario la visualización de la parte vulvar e identificar las flexiones y vestíbulo del canal vulvar. Para el caso de los machos adultos el número de papilas caudales permite separar las distintas especies con la excepción de Rc y Ri haciendo necesario en análisis del sexo complementario.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Baker, G. L., & Poinar Jr., G. O. 1995. *Agamermis catadecaudata* n. sp. (Nematoda; Mermithidae) a parasitoid of Orthoptera in south-eastern Australia. *Fundamental and Applied Nematology*. 18 (2),139-148.
- Bao, X. *et al.* 1985 . A new Species of the Genus *Romanomermis* (Nematoda: Mermithidae), *Romanomermis wuchangensis*, sp. nov. *Journal of Cetral China Normal University*. 3.
- Bozzola, J. J. 1991. *Electron microscopy: principles and techniques for biologists*. U.S.A: Jones and Bartlett, 660 p..
- Camino, N. B. 1991. *Octomyomermis arecoensis* n. sp. (Nematoda, Mermithidae),Parasitizing Midges (Diptera; Quironomidae) in Argentina, With Some Observations on its Bionomics. *Revue de Nématologie* , 14 (3) : 375-379.
- Canseco Pinacho, M. Caracterización del nematodo *Strelkovimermis spiculatus* parásito de larvas de mosquito. Tesis de maestria, CIIDIR-Oaxaca, 2006.
- Curran. 1980. Effect of Mounting Methods on Taxonomic Characters of Adult Male Mermithids (Nematoda: Mermithidae). *Nematologica*, 26 (4): 455-466.
- Curran, J. 1981. Morphometrics of *Romanomermis culicivorax* Ross and Smith, 1976 (Nematoda: Mermithidae). *Canadian Journal of Zoology* , 59 (12):2365-2374.
- Foster, W., and Walker, E. (2009). Mosquitoes (Culicidae). In M. Gary (Ed.), *Medical and Veterinary Entomology* (pp. 203-263). Burlington: Elsevier.
- Galloway, T. D. & Brust, R. A. 1979. Review of the Genus *Romanomermis* (Nematoda: Mermithidae) with a description of *R. communensis* sp. n. from Canada. *Canadian Journal of Zoology* , 57 (2): 281-289.
- Galloway, T.D. & Brust, R. 1982. Cross-mating of *Romanomermis culicivorax* and *R. communensis* (Nematoda: Mermithidae). *Journal of Nematology*, 14(2): 274-276.
- Gordon, R. *et al.* 1981. Effects of Host Diet on *Romanomermis culicivorax*, a Mermithid Parasite of Mosquitoes. *Journal of Nematology*, 13 (3); 285-290.
- Isenstein, R. 1971. Hybridization of two species of nematodes parasitic in ruminants *Cooperia oncophora* (Railliet, 1898) Ramson 1907, and *Cooperia pectinata* Ransom. *The Journal of Parasitology* , 57(2): 320-326.
- Jagdale, G. & Gordon, R. 1994. Caudale Papillae in *Romanomermis culicivorax*. *Journal of Nematology* , 26 (2): 235-237.

- Johnson, A. and Kleeve, M. 2002. *Strelkovimermis rubtsovi*, n. sp. y *Strelkovimermis ozawindibi* n. sp. The Journal of Parasitology , 88 (5): 942-946.
- Káiser, H. 1991. Terrestrial and Semiterrestrial Mermithidae. En W. Nickle, Manual of Agricultural Nematology. New York: Marcel Dekker, pp. 889-996.
- Molloy, D. 1979. Description and Bionomics of *Mesomermis camdenensis* n. sp. (Mermithidae), a Parasite of Black Flies (Simuliidae). Journal of Nematology , 11(14) 321-328.
- National Center for Biotechnology Information. (09 de 11 de 2011). Centro Nacional para la Información Biotecnológica. Recuperado el 09 de 11 de 2011, de NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=13657>
- Nickle, W. 1972. A Contribution to our Knowledge of the Mermithidae (Nematoda). Journal of Nematology , 4 (2): 113–146.
- Nickle, W. R., & Högger, C. H. (1974). Scanning Electron Microscopy of the Mosquito Parasite *Reesimermis nielsenii* (Nematoda; Mermithidae). Helmithological Society of Washington , 41 (12): 173-177.
- Pérez-Pacheco Rafael, Rodríguez-Hernández Cesáreo, Lara-Reina Joel, Montes-Belmonte Roberto, Ramírez-Valverde Gustavo y Martínez-Martínez Laura. 2004. Parasitism of *Romanomermis iyengari* in larvae of three species of mosquito in the laboratory and in *Anopheles pseudopunctipennis* in the field. Agrociencia , 38 (4): 413-421.
- Petersen, J. 1980. Mass Production of the Mosquito Parasite *Romanomermis culicivorax*: Effect of Density. Journal of Nematology , 12 (1) 45-48.
- Petersen J. 1984. Nematode Parasites of Mosquitoes. En W. R. Nickle, Plant and Insect Nematodes (págs. pp. 797–820.). New York.: Marcel Dekker Inc..
- Platzer, E. G. 2007. Mermithid Nematodes. In "Biorational Control of Mosquitoes". AMCA Bulletin No. 7. Journal of the American Mosquito Control Association 23 (Supplement):58-64.
- Poinar, Jr O. G. 1994. Nematoda and Nematomorpha. En Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates (págs. 237-276). Oxford: Elsevier.
- Poinar jr., O. G. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. En R. a. Gaugler, Taxonomy and Biology of Steinemematidae and Heterorhabditidae. Boca Raton, Florida: CRC Press. 23-61.
- Poinar Jr, G. y Camino N. 1986. *Strelkovimermis spiculatus* n. sp. (Mermithidae: Nematoda) Parasitizing *Aedes albifasciatus* Mac. Journal of Nematology , 18 (3): 317-319.
- Poinar jr, O. G. & Hess, R. 1974. Anatomy of the Pre-Parasitic Stage of *Hydromermis conopophaga* (Mermithidae; Nematoda). Journal of Nematology , 6 (12): 67-74.

Ross, J. F., & Smith, S. M. 1976. A review of the mermithid parasites (Nematoda: Mermithidae) described from North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) with descriptions of three new species. *Canadian Journal of Zoology* , 54 (7): 1184-1102.

Samanidou-Voyadjoglou, Anna. 2007. Biological Control of Mosquito Populations: An applied aspect of pest control by means of natural enemies. En A. Elewa, Predation in organism: a distinct phenomenon. (pág. 312). Springer.

Santamarina M. y Perez-Pacheco R. (1997). Reduction of mosquitos larval densities in natural sites after introduction of *Romanomermis culivorax* (nematoda, mermithidae) in Cuba . *Journal of medical entomology* . 34 (1): 1-4

Seinhorst J. W. 1962. On the Killing Fixation and Transferring to Glycerin of Nematodes. *Nematologica* , 4: 29-32.

Siddiqui M. 2000. Tylenchida: parasite of plants and insects. Uk. CABI, pp.835.

Shamseldean, M. 2004. Mass Rearing of Mermithid Nematode Parasitoids of Mosquito Larvae in Egypt. *International Journal of Nematology* , 14 (1): 19-22.

Tang Y., Hominick W., Killick-Kendrick R., Killick-Kendrick M, Page A. 1993. *Didilia ooglypta* n. gen., n. sp. (Tetradonematidae: Mermithoidea, Nematode) a parasite of phelobotomine sandflies in Afganistan. *Fundamental of Applied Nematology*, 16 (4): 325-331 .

Wang, J. *et al.* 2007. Molecular Phylogeny of Entomopathogenic Nematodes (Mermithidae) Inferred from DNA Sequences of 18S rDNA, 28S rDNA and COI genes. *Acta Zoologica Sinica*, 53(5): 835 - 844.

Welch, H. 1964. *Romanomermis iyengari* species nov. *Pilot Register of Zoology* , Card 4, 209.

Wright, K. & Richter, S. 1982. Teratological Development in the Cephalic Anatomy of the Nematode *Romanomermis culivorax*. *Journal of Nematology* , 14 (12):232-237.