

Laboratorio de Fisiología Comparada. — Universidad de Barcelona
(Profesor F. Ponz)

Las papilas anales de las larvas de los culícidos y la absorción de tóxicos

por Ramón Margalef

(Recibido para publicar el día 2 de noviembre de 1949)

Las papilas anales de las larvas de los culícidos son órganos de superficie más permeable que la del resto del cuerpo de la larva; su importancia en la absorción de agua y sales ha sido reconocida, lo mismo que su significado en la regulación del equilibrio osmótico entre la hemolinfa y el medio externo (BEADLE, 1939, 1943; KOCH, 1934, 1938; KROGH, 1939; WIGGLESWORTH, 1933, 1938). La función respiratoria de las papilas tiene relativamente menor importancia (SAUTET & AUDIBERT, 1946).

Dentro de un mismo orden de ideas, la interpretación de la función exacta de las papilas varía algo según los autores. Para WIGGLESWORTH su principal misión residiría en la absorción de agua, que luego sería eliminada a través de los tubos de Malpighi y halla una confirmación de ello ligando larvas entre los segmentos abdominales 5 y 6, de manera que quede obstruida la salida de los expresados tubos; entonces, en *Aedes aegypti* sumergido en agua dulce, los tubos de Malpighi y todo el extremo posterior de la larva se hinchan¹. KOCH (1934) se inclina más bien a acentuar la importancia de la función absorbente de iones, para lo cual existen células especializadas, similares a las que se observan en las branquias de diversos crustáceos, y que pueden reconocerse gracias a su gran afinidad por la plata. Aceptando este punto de vista, es natural que, para hacer frente a una excreción más o menos uniforme por parte de los tubos de Malpighi, la absorción de iones deba ser más intensa en las aguas dulces que en las saladas, lo cual explica que en las primeras el desarrollo de las papilas anales sea siempre mayor. Naturalmente, ambos puntos de vista no se contradicen, sino que se complementan en la descripción de la función de las papilas anales.

¹ He repetido las experiencias de este autor con *Theobaldia longiareolata* y *Aedes Mariae*, siempre con resultado negativo; únicamente se observa una disminución del turgor de la parte posterior del cuerpo en larvas de *Theobaldia* ligadas y sumergidas luego en agua salada.

MARTINI (1923) hizo ver la correlación existente entre el grado de desarrollo de las papilas y la salinidad; las papilas son mayores en las especies que viven en agua dulce, mientras que en las propias de agua muy saladas o, mejor que muy saladas, de salinidad muy variable, como *Aedes detritus* y *Aedes Mariae*, las papilas anales están reducidas a un vestigio abombado, con gruesa cutícula, probablemente impermeable (BEADLE, 1939). Incluso se observa variabilidad del tamaño de las papilas de individuos de una misma especie cultivados en diferentes concentraciones, en el mismo sentido, lo cual se ha comprobado en *Aedes aegypti* (WIGGLESWORTH) y en *Theobaldia annulata* (CALLOT, 1946).

Los culicidos cuyas larvas tienen las papilas atrofiadas y prácticamente inabsorbentes se han independizado, en realidad, de la concentración salina del medio externo. Como dice KROGH (1939) estos animales son, desde el punto de vista osmótico, animales tan terrestres como los coleópteros acuáticos y son independientes como ellos de la salinidad del agua. La diferencia se pone de manifiesto en la comparación de *Aedes aegypti*, especie de agua dulce, con el mosquito litoral *Aedes detritus*, de larvas muy eurihalinas, cuyo comportamiento osmótico ha sido estudiado por BEADLE (1939). La presión osmótica de la hemolinfa de las larvas de *A. detritus* es similar a la de otras larvas dulciacuícolas; en medios de elevada concentración, la larva posee gran capacidad de regulación hipotónica, gracias a tener atrofiadas las papilas absorbentes. En cambio, *A. aegypti*, de papilas absorbentes muy desarrolladas, puesto en un medio muy salado, es incapaz de regular la presión osmótica de su hemolinfa y muere.

En la idea de que las papilas anales son órganos destinados a la absorción de sales o, por lo menos, zonas del cuerpo dotadas de mayor permeabilidad que el resto, se hizo un ensayo para ver si esta permeabilidad, útil en la adaptación de las diferentes especies a aguas de distinta salinidad, se manifestaba también en la absorción de iones de metales pesados y aun de otros tóxicos.

Experiencias

Se hicieron dos series de experiencias: (1) Sumergir larvas de especies con diferente desarrollo de las papilas en soluciones tóxicas, observar el tiempo que tardaban en morir y ponerlo en relación con el respectivo desarrollo de las papilas, y (2) Comprobar si los individuos en los que se había separado por una ligadura la parte posterior del cuerpo con las papilas, mostraban una mayor resistencia a morir.

1) Para la primera serie de experiencias se usaron larvas de *Culex pipiens*, *Theobaldia longiareolata*, *Anopheles sp.* y

Aedes Mariae, todos ellos culícidos. Se compararon con ellos, además, larvas de otros dípteros, de un quironómido (*Chironomus sp.*), provisto de papilas muy desarrolladas en los últimos segmentos del cuerpo, y de un ceratopogónido, que carece de papilas, pero que presenta, probablemente, una superficie permeable entre las uñas del último segmento abdominal. Todos los ejemplares proceden de Blanes (Gerona). Las larvas, de 5-8 mm. de largo, lavadas con agua dulce, se colocaban en cubetas con 10 ml. de la solución tóxica, preparada siempre con agua destilada, para dar uniformidad al experimento. Cada ensayo se hacía colocando en una misma cubeta un par de larvas de cada especie (en total de 4 a 12 larvas). La mayoría de las experiencias se repitieron de 2 a 6 veces. Se contaba el tiempo, en minutos, hasta que las larvas no reaccionaban al ser tocadas en la boca. Los resultados se exponen en la tabla I; se dan los valores extremos y, entre ellos, el término medio de todos los valores anotados. Cuando sólo figura una cifra, debe entenderse que todas las larvas murieron aproximadamente al mismo tiempo.

T A B L A I

Acción letal de diversas soluciones tóxicas sobre las larvas de diversas especies de dípteros. Se da el tiempo, en minutos, que transcurre hasta que ya no reaccionan; el valor medio de todas las observaciones hechas figura entre los valores extremos. Temperatura: 24-27° C.

Solución	Chironomus sp.	Culex pipiens	Ceratopogonidae	Theobaldia longiareolata	Anopheles sp.	Aedes Mariae
A						
MnCl ₂ N/5	—	—	—	190—213—240	—	370—372—375
CuSO ₄ N/5	—	—	—	102—104—107	—	195—215—223
AgNO ₃ N/5	4—5,5—7	5—5,8—7	15—27—33	6—7,1—12	30—30—31	53—56—60
AgNO ₃ N/10	—	—	—	9—10—11	—	—
AgNO ₃ N/15	—	13—16—20	—	—	—	—
AgNO ₃ N/20	—	18	103	18	—	—
HgCl ₂ N/4 (sat.)	1,5	1,5—2,3—3	8,5—10—11	3,5—4,9—7	62—73—85	66—72—82
HgCl ₂ N/16	—	4	30	5	—	—
B						
K ₂ CrO ₄ N/5	—	—	—	140	—	122
KMnO ₄ N/5	—	—	—	50	—	40
KI N/5	—	—	—	240—323—440	—	90—245—400
NaOH N/2	—	11	—	9	—	15
ClH aprox 3N	—	2,5	—	0,3	—	6,5
CH ₃ COOH N/2	—	4	—	4	—	230
Etanol 70%	—	3	—	3	—	7
Formol 7%	—	5,5	—	5,5	—	11
Tolueno, emuls. 1.2000	—	20-75-130	5-170-300	20-87-155	—	340
Glemla preparado	—	5	—	12	—	130

Los resultados de la tabla I muestran que los tiempos de muerte están aproximadamente en razón inversa del desarrollo de las papilas anales, como era de esperar. La morfología de las papilas de algunas especies se esquematiza en la figura 1. De una manera más clara se perciben estos resultados haciendo, en la tabla I, igual a 100 el tiempo de muerte de las larvas

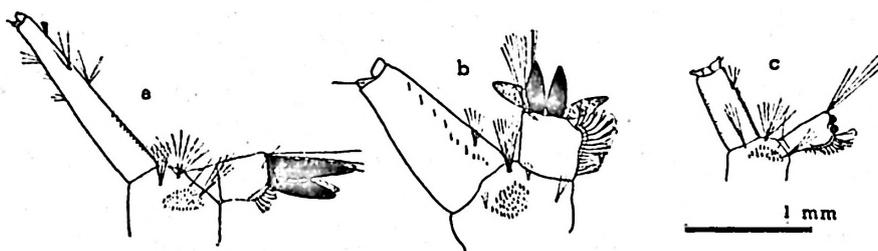


Fig. 1 — Extremo posterior de los larvas de tres especies de culicidos, dibujadas a la misma escala. Las papilas anales han sido marcadas en negro. a, de *Culex pipiens* de 6 mm; b, de *Theobaldia longiareolata* de 9 mm.; c, de *Aedes Mariae* de 5 mm. Para simplificar el dibujo, las largas sedas del último segmento aparecen cortadas.

de *Aedes Mariae* y sacando los valores proporcionales para las otras especies y cada tóxico separadamente. Luego para cada especie se suman los coeficientes correspondientes a los distintos tóxicos ensayados con ella y se saca el promedio, que será, naturalmente, 100 para *Aedes Mariae*. En la tabla II se resumen los resultados, que muestran una clara correlación inversa entre el desarrollo de las papilas, apreciado como la relación entre su longitud y la de cuerpo, y los tiempos de muerte relativos.

En la tabla II se han tabulado, separadamente, los datos para las sales de metales pesados (A) y otros diversos "tóxicos" (B). Llama la atención, al considerar las tablas, que la

TABLA II

Tiempos de muerte proporcionales para las larvas de diferentes especies de mosquitos y de otros dípteros para diversos tóxicos. Datos deducidos de la tabla I.

	Chironomus sp.	Culex pipiens	Cerato- pogo- nidae	Theobaldia longiareo- lata	Anopheles sp.	Aedes Mariae
Relación $\frac{\text{long. papilas}}{\text{long. larva}}$	0,6	0,11	—	0,05	0,05	0,01
Cationes de metales pesados (A)	6	7,6	30,7	24	66	100
Otros tóxicos (B) ²	—	38,3	49	62,7	—	100

² Dada la heterogeneidad de las sustancias ensayadas y la diversidad de reacciones obtenidas, estas cifras tienen valor muy limitado.

desigualdad de los tiempos de muerte es mayor y más regular en el caso de los cationes de metales pesados que para las otras sustancias tóxicas, muy heterogéneas. La explicación de esta diferencia, más acorde con la estructura de las papilas, es que conviene hacer una distinción entre la absorción de la superficie de las papilas, en general, y el número de células especializadas en la absorción de metales, que pueden seguir otra distribución. Además, en el caso de diversos compuestos orgánicos que actúan como tóxicos, se sabe que pueden ser absorbidos más o menos por toda la superficie del cuerpo, lo cual enmascara, en parte, las diferencias debidas a una absorción preferente a través de papilas de desigual tamaño.

2) La función de las papilas anales puede ser también puesta de manifiesto por medio de ligaduras. Se usaron larvas de *Aedes Mariae* y de *Theobaldia longiareolata*, ligadas por medio de un cabello o de un hilo de seda, entre los segmentos 6 y 7. La ligadura debe hacerse pasar exactamente por el límite de los segmentos y apretarla bien; después de ligadas y antes de emplearlas en las experiencias, las larvas han de tenerse en observación unos 5 minutos, para desechar el elevado porcentaje de las que, a consecuencia de traumatismos o de deficiencias en la ligadura, muestran una excesiva disminución de la vitalidad.

Se experimentó sumergiendo las larvas de las especies indicadas, ligadas y sin ligar, en soluciones N/5 de AgNO_3 y de $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Para las larvas sin ligar y para las de *Aedes* ligadas, los tiempos de muerte eran del orden de los consignados en la tabla I. En cambio, para una parte⁸ de las *Theobaldia* ligadas se observó una pervivencia extraordinaria, reaccionando mucho tiempo después — hasta el doble — de haber muerto las larvas testigo de la misma especie que no fueron ligadas.

Dejando larvas ligadas y sin ligar, hasta su muerte, en solución de Giemsa diluida al 1:5, se observa que las larvas no ligadas y las de *Aedes* ligadas quedan uniformemente coloreadas; en cambio, las larvas ligadas de *Theobaldia* suelen mostrar la parte posterior de la ligadura mucho más intensamente coloreada que la que le precede.

Los resultados de las dos series de experiencias descritas confirman que la función absorbente de las papilas anales de las larvas de culicidos se extiende a sustancias muy diversas, y que la extensión superficial de las papilas es la que determina

⁸ El resto de las larvas ligadas no sobrevivió más tiempo que las testigo sin ligar, lo cual puede atribuirse a una disminución de la vitalidad o a lesiones de importancia causadas por la ligadura, que no se manifestaron en los primeros minutos.

principalmente la capacidad de absorción, en general, de toda la larva, es decir, la cutícula del resto del cuerpo debe ser impermeable para muchas de las substancias ensayadas, y, en todos los casos, menos permeable que la superficie de las papilas, excepto, probablemente, en *Aedes Mariæ*, cuyas papilas, reducidas y con la quitina más gruesa que en las otras especies, deben ser, correspondientemente, de permeabilidad mucho más limitada.

Como norma de aplicación práctica, interesa poner de relieve, que los mosquitos que viven en las aguas saladas, por tener las papilas anales reducidas y menos permeables, muestran una menor capacidad para la absorción de los tóxicos en general que las larvas de las especies de agua dulce dotadas de grandes papilas. La destrucción de las larvas de culícidos en aguas saladas requiere, por tanto, dosis especialmente concentradas del insecticida que se emplee.

Resumen

Las papilas anales de las larvas de los mosquitos desempeñan un papel importante en el mantenimiento del equilibrio osmótico de la hemolinfa. Por tratarse de órganos absorbentes, el desarrollo de dichas papilas condiciona también la capacidad de absorción de la larva con respecto a las sales de metales pesados y otros tóxicos. Las larvas con papilas de gran tamaño mueren antes que las de papilas pequeñas, cuando se colocan en las mismas soluciones tóxicas. Separando, por ligadura, la parte posterior del cuerpo de larvas con papilas desarrolladas, se consigue aumentar su pervivencia en soluciones tóxicas. En general, las larvas de los mosquitos de aguas salobres y salinas, que tienen las papilas reducidas, necesitan dosis más elevadas de insecticidas que los mosquitos que viven en el agua dulce.

Summary

The anal papillae of the mosquito larvae play an important rôle in the maintenance of the osmotic equilibrium of haemolymph. As absorbent surfaces, the shape of the anal papillae control too the power of absorption of the larvae upon heavy metal salts and upon other toxics. Larvae with great sized papillae die sooner in the toxic solutions than the larvae of species with little or reduced papillae. Separation, by ligature, of the tail of the larvae, delays death in larvae with developed papillae immersed in toxic solutions. In general, brackish-water larvae have reduced papillae and exiges higher amounts of insecticides.

Bibliografía

- BEADLE, L. C. — 1939. Regulation of the haemolymph in the saline water mosquito larva of *Aedes detritus*. *J. Exp. Biol.* 16:346-362.
- BEADLE, L. C. — 1943. Osmotic regulation and the faunas of inland waters. *Biol. Rev.*, 18:172-183.
- CALLOT, J. — 1946. Les papilles anales des larves de Culicidés dans les conditions naturelles et expérimentales. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 39:201-206.
- KOCH, H. — 1934. Essai d'interprétation de la soi-disant "reduction vitale" des sels d'argent par certains organes d'Arthropodes. *Ann. Soc. Sci. méd. nat. Bruxelles.*, ser. B., 54:346-361.
- KOCH, H. — 1938. The absorption of chloride ions by the anal papillae of diptera larvae. *J. Exp. Biol.*, 15:152-160.
- KROGH, A. — 1939. *Osmotic regulation in aquatic animals*. Cambridge Univ. Press, 242 págs.
- MARTINI, E. — 1923. Ueber die Beeinflussung der Kiemenlänge von Aëdeslarven durch das Wasser. *Verh. Int. Ver. theoret. u. angew. Limnologie*, 1:235-259.
- SAUTET, J. & AUDIBERT, Y. — 1946. Etudes biologiques et morphologiques sur certaines larves de moustiques en vue d'applications pratiques pour leur destruction. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 39:137-158.
- WIGGLESWORTH, V. B. — 1933. The adaptation of mosquito larvae to salt water. *J. Exp. Biol.*, 10:27-37.
- WIGGLESWORTH, V. B. — 1938. The regulation of osmotic pressure and chloride concentration in the haemolymph of mosquito larvae. *J. Exp. Biol.*, 15:235-247.

