



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Veterinarias-Programa de Doctorado en Ciencias
Veterinarias

**El complejo *Ornithonyssus bacoti* (Acari: Mesostigmata) de roedores de Chile:
diversidad genética, variaciones morfológicas y patógenos asociados.**

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias

MARÍA CAROLINA SILVA DE LA FUENTE
CHILLÁN-CHILE
2019

Profesor Guía: Daniel Alfonso González Acuña
Dpto. de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Concepción

Profesora Co-guía: Lucila del Carmen Moreno Salas
Dpto. de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

EL COMPLEJO *Ornithonyssus bacoti* (ACARI: MESOSTIGMATA) DE
ROEDORES DE CHILE: DIVERSIDAD GENÉTICA, VARIACIONES
MORFOLÓGICAS Y PATÓGENOS ASOCIADOS.

Aprobada por:

Dr. Daniel González Acuña
Med. Veterinario, Dr.

Profesor guía

Dra. Lucila Moreno Salas
Med. Veterinario, Dr.



Profesora co-guía

Dr. Carlos Landaeta Aqueveque
Med. Veterinario, Dr.

Evaluador interno

Dr. Claudio Verdugo
Med. Veterinario, Dr.

Evaluador externo

Dr. Fidel Ovidio Castro
Ing. Zootecnista, Dr.

Director de programa

AGRADECIMIENTOS

A la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT) por la oportunidad y el financiamiento completo del programa de Doctorado en Ciencias Veterinarias a través de la Beca Folio 21140780. Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) proyectos N° 1100695, 11150875, 1130948 y 1170972 por el financiamiento y obtención de muestras de esta investigación y a FONDEQUIP (Programa de Equipamiento Científico y Tecnológico) proyecto EQM170124, que permitió obtener las fotos en microscopía electrónica. A la Corporación Nacional Forestal (CONAF) por el apoyo logístico prestado en algunos puntos de muestreo. Al Servicio Agrícola y Ganadero por los permisos de captura. A la Dra. María Eugenia Casanueva y a la Dra. Marcela Lareschi por ser parte fundamental en mi formación como acaróloga. A la Dra. Lucila Moreno y Dr. Daniel González–Acuña por su paciencia en cada una de las correcciones de este trabajo, el continuo apoyo y por compartir sus conocimientos, dejando grandes lecciones para el futuro. A todos los que participaron durante las capturas: Karen Ardiles, Iván Torres, Nicolás Fernández, Sebastián Muñoz, Fabián Beltrán, Daniela Doussang, Carolina Araya, Cecilia Figueroa, Danny Fuentes, Nicolás Fernández, Pablo Olmedo, Julio San Martín, Camila Cifuentes, Juan Navarrete, Andrés González, María Ignacia Najle, Sofi (Chanchulita), etc. Agradecer el apoyo incondicional de amigos, que estuvieron en tanto el los momentos buenos y malos del desarrollo de esta investigación: Diana Echeverry, Felipe Peña, Cecilia Portillo, Maira Suárez, Milagros Ginebra, Cecilia Contreras (Pilu). Agradecer a Matías Urquiza quien hace poco tiempo apareció en mi vida, pero que poco a poco se ha vuelto indispensable, acompañándome y entregando todo su comprensión y apoyo en la parte final de esta tesis, una de las más duras. Finalmente, agradecer a mis padres, quienes permanentemente me hay apoyado y alentado en estas nuevas aventuras.

Dedica a mi padre Edmundo Silva Riveros y madre Gloria de la Fuente Orlandi.

RESUMEN

Un complejo de especies corresponde a especies morfológicamente indistinguibles, pero que presentan distintos linajes evolutivos. Estos complejos serían más frecuentes de encontrar en animales invertebrados, los que utilizan principalmente medios químicos o táctiles para el apareamiento, no así diferenciaciones morfológicas. En el caso de artrópodos vectores, es relevante resolver estos complejos de especies debido a que la incorrecta identificación de una especie, podría ocasionar graves problemas relacionados con salud pública. La presente investigación utilizó como modelo de estudio a los ácaros del género *Ornithonyssus* s.l. (Acari: Mesostigmata), actualmente constituido por 13 especies, y considerado un complejo de especies, principalmente producto de su similitud morfológica, lo que genera continuos cambios en su clasificación. Tanto el género *Ornithonyssus* como *O. bacoti* son reconocidas por parasitar principalmente roedores, sin embargo, *O. bursa*, *O. sylviarum*, *O. wernecki*, *O. aridus* y *O. bacoti* parasitan al humano, siendo consideradas como potenciales vectores mecánicos y/o biológicos de patógenos. En Chile solo se ha reportado la especie *O. bacoti* en roedores silvestres y sinantrópicos, sin embargo, reconociendo la diversidad geográfica y diversidad de roedores presentes, se espera encontrar más de una especie de ácaro del género *Ornithonyssus* a través de la distribución de sus hospedadores en Chile, los que a su vez albergaran diferentes especies de patógenos asociados a estos. El objetivo principal de este estudio es evaluar el estatus taxonómico de los ácaros *Ornithonyssus* presentes en roedores de Chile y determinar la presencia de bacterias del género *Rickettsia*, *Borrelia* y/o *Bartonella*, potencialmente patógenas para hospedadores silvestres y/o humanos. Para ello se visitaron 14 localidades a lo largo de Chile ($18^{\circ}19'34,08''\text{S}$ - $70^{\circ}00'31,86''\text{O}$ a $47^{\circ}07'41,00''\text{S}$ - $72^{\circ}30'18,50''\text{O}$) y se capturaron roedores desde los cuales se extrajeron los ácaros, los que se sometieron a análisis moleculares (Inferencia Bayesiana y Red de Haplotipos), morfológicos y morfométricos, comparando 40 medidas anatómicas. Se identificaron dos nuevas especies para el género *Ornithonyssus*, *Ornithonyssus* nov. sp. 2 y *Ornithonyssus* nov. sp. 3 con un 8,4% y un 7,2% de distancia genética con respecto a *O. bacoti*, respectivamente, y una

especie afín a *O. bacoti* con un 4% de distancia genética en relación a *O. bacoti*. Dentro de los caracteres morfométricos que las distinguen destaca el largo del peritrema, largo de pata I, largo de pata IV, largo de placa dorsal y la forma del epistome. Por lo tanto, se descarta la existencia de un complejo de especies *Ornithonyssus* en Chile, debido a que las especies propuestas en este estudio pueden ser diferenciadas por caracteres morfométricos y morfológicos, además de los moleculares. Respecto a las bacterias, se identificó sólo una genoespecie de *Bartonella* (con gen 16S ARNr) presente a lo largo de los puntos de muestreo. De este modo, la presente investigación proporciona caracteres útiles de las especies de *Ornithonyssus* presentes en Chile e indica el eventual rol de estas especies en la mantención de bacterias que posiblemente pueden estar asociadas a agentes patógenos.

Palabras claves: especie críptica, ácaro, vector, roedores, especiación.



ABSTRACT

A complex of species corresponds to morphologically indistinguishable species, but which have different evolutionary lineages. These complexes would be more frequent to find in invertebrate animals, which mainly use chemical or tactile means for mating, but not morphological differentiations. In the case of arthropod vectors, it is relevant to solve these species complexes because the incorrect identification of a species could cause serious problems related to public health. The present investigation used as a study model the mites of the genus *Ornithonyssus* s.l. (Acari: Mesostigmata), currently constituted by 13 species, and considered a complex of species, mainly due to its morphological similarity, which generates continuous changes in its classification. Both the genus *Ornithonyssus* and *O. bacoti* are recognized for parasitizing mainly rodents, however, *O. bursa*, *O. sylviarum*, *O. wernecki*, *O. aridus* and *O. bacoti* parasitize the human, being considered as potential biological and/or mechanical vectors pathogens. In Chile, only the species *O. bacoti* has been reported in wild and sinantropic rodents, nevertheless, recognizing the geographic diversity and diversity of rodents present, it is expected to find more than one species of mite of the genus *Ornithonyssus* through the distribution of its hosts in Chile, which in turn will house different species of pathogens associated with them. The main objective of this study is to evaluate the taxonomic status of *Ornithonyssus* mites present in rodents in Chile and determine the presence of bacteria of the genus *Rickettsia*, *Borrelia* and/or *Bartonella*, potentially pathogenic for wild and/or human hosts. For this, 14 locations were visited throughout Chile ($18^{\circ}19'34.08''\text{S}-70^{\circ}00'31.86''\text{O}$ at $47^{\circ}07'41.00''\text{S}-72^{\circ}30'18,50''\text{O}$) and rodents were captured from which the mites were extracted, which were subjected to molecular analysis (Bayesian Inference and Haplotype Network), morphological and morphometric, comparing 40 anatomical measurements. Two new species were identified for the genus *Ornithonyssus*, *Ornithonyssus* nov. sp. 2 and *Ornithonyssus* nov. sp. 3 with 8.4% and 7.2% of genetic distance with respect to *O. bacoti*, respectively and a species *Ornithonyssus* aff *bacoti* with 4% of genetic distance in relation to *O. bacoti*. Among the morphometric characters that distinguish them, the peritrema length,

leg length I, leg length IV, dorsal plate length and the shape of the epistome stand out. Therefore, the existence of a complex of *Ornithonyssus* species in Chile is ruled out, because the species proposed in this study can be differentiated by morphometric and morphological characters, in addition to the molecular ones. With respect to bacteria, only one *Bartonella* genospecies (with 16S rRNA gene) present along the sampling points was identified. Thus, the present investigation provides useful characteristics of the *Ornithonyssus* species present in Chile and indicates the possible role of these species in the maintenance of bacteria that may possibly be associated with pathogens.

Keywords: cryptic specie, mite, vector, rodents, speciation.



TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	iv
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1. Chile, un posible hotspot de nuevas especies de ácaros.....	3
1.2. Generalidades de la subclase Acari	9
II. REFERENCIAS.....	17

CAPÍTULO I

EL COMPLEJO DE ESPECIES *Ornithonyssus bacoti* (HIRST, 1913): DETERMINACIÓN DE LAS ESPECIES PRESENTES EN CHILE A PARTIR DE ANÁLISIS MOLECULARES, MORFOMÉTRICOS Y MORFOLÓGICOS.

I. INTRODUCCIÓN	24
II. HIPÓTESIS DE TRABAJO	29
III. OBJETIVOS.....	29
Objetivo general:.....	29
Objetivos específicos:	29
IV. METODOLOGÍA.....	30
1.1 Área de muestreo.....	30
1.2 Captura y procesamiento de roedores.....	32
1.3 Identificación de las especies de ácaros <i>Ornithonyssus</i>	34
1.3.1 Análisis moleculares de las especies <i>Ornithonyssus</i>	34
1.3.2 Morfometría y morfología.....	37
1.3.3. Análisis estadístico	42
V. RESULTADOS.....	44
1.– Variaciones genéticas de <i>Ornithonyssus</i> sp. en Chile.	49
2.– Variaciones morfométricas y morfológicas de <i>Ornithonyssus</i> en Chile.....	56
3. Relación entre análisis moleculares, morfométricos y morfológicos	73
VI. DISCUSIÓN	75
VIII. REFERENCIAS	89

CAPÍTULO II

DESCRIPCIÓN DE TRES NUEVAS ESPECIES DEL GÉNERO *Ornithonyssus* ASOCIADAS A ROEDORES DE CHILE.

I. INTRODUCCIÓN	100
II. MATERIALES Y MÉTODOS	101
III. RESULTADOS	103
SISTEMÁTICA	105
<i>Ornithonyssus</i> aff. <i>bacoti</i> (Figuras 1–8; medidas tabla 1).....	106
<i>Ornithonyssus</i> sp. 2 sp. nov. (Figuras 9–14; medidas tabla 1).....	113
<i>Ornithonyssus</i> sp. 3 sp. nov. (Figuras 15–20; medidas tabla 1).....	121
IV. REFERENCIAS	129

CAPÍTULO III

Rickettsia, *Bartonella* y *Borrelia* EN *Ornithonyssus* spp. (ACARI: MACRONYSSIDAE) DE ROEDORES DE CHILE.

I. INTRODUCCIÓN	131
<i>Rickettsia</i>	133
<i>Bartonella</i>	136
<i>Borrelia</i>	139
II. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	142
III. OBJETIVOS.....	142
Objetivo general:	142
Objetivos específicos:	142
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	143
Detección de patógenos en ácaros <i>Ornithonyssus</i> mediante PCR.....	143
V. RESULTADOS.....	145
VI. DISCUSIÓN	151
VII. CONCLUSIONES	157
VIII. REFERENCIAS	158

ÍNDICE DE FIGURAS EN INTRODUCCIÓN GENERAL

PÁGINA

Figura 1. Provincias biogeográficas de Chile y localidades de muestreo. Fuente: Modificado de Morrone, 2015. **5**

Figura 2. Anatomía de los ácaros Mesostigmata (ventral). Figura según Lindquist & Evans (1965). Fuente: Lindquist *et al.* (2009b). **10**

Figura 3. Detalle del gnatosoma de los ácaros Mesostigmata. Fuente: Lindquist *et al.* (2009b). **10**



ÍNDICE DE FIGURAS DE CAPÍTULO I

PÁGINA

Figura 1. Localidades de muestreo de roedores con presencia de *Ornithonyssus* spp. en Chile. Fuente: Elaboración propia. **31**

Figura 2. Uso de respirador de rostro completo y filtros P100 (3M™). Fuente: Elaboración propia. **33**

Figura 3. Vista dorsal con microscopio electrónico de barrido de *Ornithonyssus*. 1. Largo de placa dorsal; 2. Ancho de placa dorsal; 3. Largo microseta entre Z4. Fuente: Elaboración propia. **40**

Figura 4. Vista ventral de *Ornithonyssus* fotografiada con microscopio electrónico de barrido. 4. Ancho placa esternal; 5. Largo placa esternal; 6. Largo primera seta esternal; 7. Largo segunda seta esternal; 8. Largo tercera seta esternal; 9. Largo placa genital; 10. Ancho placa genital; 11. Largo seta metaesternal; 12. Largo seta genital; 13. Largo y forma de la seta coxal I, II, III y IV. Fuente: Elaboración propia. **41**

Figura 5. Vista ventral en microscopía electrónica de barrido de placa anal de *Ornithonyssus*. 14. Largo placa anal; 15. Ancho placa anal; 16. Largo seta adanal; 17. Largo seta postanal; 18. Forma del cribum. Fuente: Elaboración propia. **42**

Figura 6. Reconstrucción filogenética Bayesiana de algunas de las especies pertenecientes al género *Ornithonyssus* ectoparásitos de roedores. Grupo externo *Dermanyssus gallinae*. Valores de soporte son entregados en cada nodo. Fuente: Elaboración propia. **50**

Figura 7. Diferencias en pares de bases de las secuencias de A. *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, B. *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3 de Chile. Fuente: Elaboración propia. **53**

Figura 8. Red de haplotipos de las secuencias obtenidas para *Ornithonyssus*. Rojo: *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Verde: *Ornithonyssus* sp. 2 (*Ornithonyssus* sp. 2). Anaranjado: *Ornithonyssus* sp. 3 (*Ornithonyssus* sp. 3). Amarillo: *O. vitzthumi*. Azul: *O. wernecki*, Verde oscuro: *O. pereirai*. Morado: *O. brasiliensis*. Gris: *O. monteiroi*. Fucsia: *O. bacoti*. **56**

Figura 9. Porcentajes de variación total según componentes principales. Fuente: Elaboración propia. **60**

Figura 10. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile, componentes 1 y 2. En rojo *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, verde *Ornithonyssus* sp. 2 y anaranjado *Ornithonyssus* sp. 3. Fuente: Elaboración propia. **61**

Figura 11. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile, componentes 1 y 3. En rojo *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, verde *Ornithonyssus* sp. 2 y anaranjado *Ornithonyssus* sp. 3. Fuente: Elaboración propia. **62**

Figura 12. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile, componentes 1 y 4. En rojo *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, verde *Ornithonyssus* sp. 2 y anaranjado *Ornithonyssus* sp. 3. Fuente: Elaboración propia. **63**

Figura 13. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile y las localidades de recolección, componentes 1 y 2. Fuente: Elaboración propia. **65**

Figura 14. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile y sus hospedadores, componentes 1 y 2. Fuente: Elaboración propia. **66**

Figura 15. Análisis de Componentes Principales de las medidas por especies de *Ornithonyssus* spp. de Chile y sus hospedadores. A. *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. B. *Ornithonyssus* sp. 2. C. *Ornithonyssus* sp. 3. Fuente: Elaboración propia. **67**

Figura 16. Análisis Discriminante de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile. Contornos corresponden a elipses de predicción del 95%. En rojo *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, verde *Ornithonyssus* sp. 2 y anaranjado *Ornithonyssus* sp. 3. Fuente: Elaboración propia. **69**

Figura 17. Análisis Discriminante de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile por localidades. Contornos corresponden a polígonos de predicción. Fuente: Elaboración propia. **70**

Figura 18. Análisis Discriminante de todas las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile por hospedadores. Contornos corresponden a elipses de predicción. Fuente: Elaboración propia. **71**

Figura 19. Variación morfológica entre *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 2. A. *Ornithonyssus* aff. *bacoti* Valle de Lluta. B. *Ornithonyssus* aff. *bacoti* P. N. Llanos de Challe. C. *Ornithonyssus* sp. 2 P. N. Llanos de Challe. Flecha señala peritremas. Imagen a 400x Fuente: Elaboración propia. **74**

Figura 20. A. Distribución de las subespecies de *Abrothrix olivacea* en Chile (mapa de Rodríguez–Serrano *et al.*, 2006). B. Distribución de las sub especies de *Abrothrix longipilis* en Chile (mapa de Palma *et al.*, 2010). C. Distribución de *Ornithonyssus* sp. en Chile y regiones biogeográficas de Chile según Morrone (2015). Fuente: Elaboración propia. **86**

ÍNDICE DE FIGURAS DE CAPÍTULO II

PÁGINA

Figura 1. A. Vista dorsal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. B. Vista ventral de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Localidades de P. N. Pan de Azúcar y P. N. Llanos de Challe. Fuente: Elaboración propia. **109**

Figura 2. A. Vista dorsal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. B. Vista ventral de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Localidad Valle de Lluta. Fuente: Elaboración propia. **109**

Figura 3. Placa dorsal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. Letras y números corresponden a los nombres de las setas de la placa dorsal. Seta en recuadro resalta las características setas de *Ornithonyssus* con una ramificación simple. Fuente: Elaboración propia. **110**

Figura 4. Placa esternal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. Setas esternales st1, st2 y st3. Fuente: Elaboración propia. **110**

Figura 5. Placa genital de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. st5 seta genital presente en placa genital. Fuente: Elaboración propia. **111**

Figura 6. Placa anal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. Setas paa (seta adanal) y poa (seta anal). Fuente: Elaboración propia. **111**

Figura 7. Comparación de setas coxales entre los ejemplares de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. coxII (C II; coxa II) y coxIII (C III; coxa III). Fuente: Elaboración propia. **112**

Figura 8. Epistome de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Fuente: Elaboración propia. **112**

Figura 9. *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. A. Vista dorsal. B. Vista ventral. Fuente: Elaboración propia. **115**

Figura 10. Variación morfológica de la placa dorsal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. en distintas localidades. A. P. N. Llanos de Challe. B. P. N. Bosque Fray Jorge. C. R. N. Altos de Lircay. D. La Mina. E. P. N. Chiloé. F. R. N. Cerro Castillo. G. Parque Patagonia. Fuente: Elaboración propia. **116**

Figura 11. Variación morfológica de la placa esternal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. en distintas localidades. A. P. N. Llanos de Challe. B. P. N. Bosque Fray Jorge. C. R. N. Altos de Lircay. D. La Mina. E. P. N. Chiloé. F. R. N. Cerro Castillo. G. Parque Patagonia. Fuente: Elaboración propia. **117**

Figura 12. Variación morfológica de la placa genital de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. en distintas localidades. A. P. N. Llanos de Challe. B. P. N. Bosque Fray Jorge. C. R. N. Altos de Lircay. D. La Mina. E. P. N. Chiloé. F. R. N. Cerro Castillo. G. Parque Patagonia. Fuente: Elaboración propia. **118**

Figura 13. Variación morfológica de la placa anal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. en distintas localidades. A. P. N. Llanos de Challe. B. P. N. Bosque Fray Jorge. C. R. N. Altos de Lircay. D. La Mina. E. P. N. Chiloé. F. R. N. Cerro Castillo. G. Parque Patagonia. Fuente: Elaboración propia. **119**

Figura 14. A y B Epistome de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. Foto: Ma. Carolina Silva de la Fuente. Imagen en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Fuente: Elaboración propia. **120**

Figura 15. A. Vista dorsal (A) y ventral (B) de *Ornithonyssus* sp. 3. sp. nov. Fuente: Elaboración propia. **123**

Figura 16. Variación morfológica de la placa dorsal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. en distintas localidades. A. Cobquecura. B. R. N. Nonguén. C. R. N. Isla Mocha. Fuente: Elaboración propia. **124**

Figura 17. Variación morfológica de la placa esternal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. en distintas localidades. A. Cobquecura. B. R. N. Nonguén. C. R. N. Isla Mocha. Fuente: Elaboración propia. **124**

Figura 18. Variación morfológica de la placa genital de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. en distintas localidades. A. Cobquecura. B. R. N. Nonguén. C. R. N. Isla Mocha. Fuente: Elaboración propia. **125**

Figura 19. Variación morfológica de la placa anal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. en distintas localidades. A. Cobquecura. B. R. N. Nonguén. C. R. N. Isla Mocha. Fuente: Elaboración propia. **125**

Figura 20. A y B Epistome de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. B. Imágenes en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Fuente: Elaboración propia. **126**

Foto 21. A. Zona sensorial tarso I. B. Palpo con proceso medio lateral. Fecha blanca señala las respectivas estructuras señaladas. *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. de P. N. Bosque Fray Jorge. Imágenes en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Fuente: Elaboración propia. **126**

Figura 22. Comparación de epistomes. A. *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. B. *Ornithonyssus* sp. 2 nov. sp. C. *Ornithonyssus* sp. 3 nov. sp. Imágenes en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Fuente: Elaboración propia. **127**

Figura 23. Distribución de las especies de *Ornithonyssus* en Chile. Puntos rojos: *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Puntos verdes: *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. Puntos anaranjados: *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. Fuente: Elaboración propia. **128**

ÍNDICE DE FIGURAS DE CAPÍTULO III

PÁGINA

Figura 1. Mapa con la distribución de *Bartonella* sp. en ácaros *Ornithonyssus* asociados a roedores de Chile. Puntos verdes: localidades con ácaros positivos con ADN de *Bartonella*. Puntos rojos: localidades con ácaros negativos con ADN de *Bartonella*. Fuente: Elaboración propia. **146**



ÍNDICE DE TABLAS EN INTRODUCCIÓN GENERAL

PÁGINA

Tabla 1. Géneros pertenecientes al grupo J según la última clasificación de la familia Macronyssidae. Características y hospedadores. Adaptación de Radovsky (2010). Fuente: Elaboración propia. **13**



ÍNDICE DE TABLAS DE CAPÍTULO I

PÁGINA

Tabla 1. Especies válidas dentro del género *Ornithonyssus*. Se indica la localidad tipo y hospedadores. Fuente: Elaboración propia. **24**

Tabla 2. Sitios de muestreo y coordenadas geográficas. Fuente: Elaboración propia. **30**

Tabla 3. Estructuras anatómicas utilizadas en el estudio morfológico y morfométrico de *Ornithonyssus* presentes en roedores de Chile. Fuente: Elaboración propia. **38**

Tabla 4. Significancia de los índices de agregación (I.A.), índice de discrepancia de Paulin (D) y binomial negativo (K) de la distribución de los parásitos. Fuente: Elaboración propia. **44**

Tabla 5. Parámetros de ecología parasitaria para *Ornithonyssus* e diferentes hospedadores de Chile. Fuente: Elaboración propia. **45**

Tabla 6. Abundancias de *Ornithonyssus* según hospedadores por localidades y zonas geográficas de Chile. Fuente: Elaboración propia. **47**

Tabla 7. Localidades, hospedadores y número de ácaros analizados. Entre paréntesis se indica el número de muestras que amplificaron para el gen 16S ADNr mitocondrial de *Ornithonyssus*. Fuente: Elaboración propia. **49**

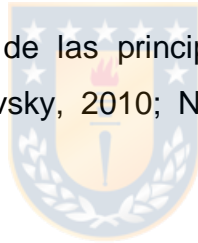
Tabla 8. Matriz de distancias genéticas entre las especies de *Ornithonyssus*. Valores en azul corresponden a las desviaciones estándar. Fuente: Elaboración propia. **52**

Tabla 9. Medidas anatómicas que presentan diferencias estadísticamente significativas entre las especies de *Ornithonyssus* presentes en Chile. Asteriscos señalan diferencias significativas entre especies. Detalle en pie de tabla. Fuente: Elaboración propia. **57**

Tabla 10. Matriz de similitud obtenida desde el ANOSIM de las especies de *Ornithonyssus* spp. de Chile con respecto a la variable largo del peritrema. Fuente: Elaboración propia. **59**

Tabla 11. Valores de autovectores del Análisis de Componentes Principales. Número en negrita corresponden a los caracteres que más contribuyen a la variabilidad de los datos en el reconocimiento de las especies de *Ornithonyssus* de Chile. Fuente: Elaboración propia. **64**

Tabla 12. Rangos de medidas de las principales placas de las especies de *Ornithonyssus* de Brasil (Radovsky, 2010; Nieri-Bastos *et al.*, 2011) y Chile. Fuente: Elaboración propia. **72**



ÍNDICE DE TABLAS DE CAPÍTULO II

PÁGINA

Tabla 1. Resumen de medidas anatómicas (μm) de las tres especies del género *Ornithonyssus* presentes en Chile. Entre paréntesis rangos de medidas. Fuente: Elaboración propia. **103**



ÍNDICE DE TABLAS DE CAPÍTULO III

PÁGINA

Tabla 1. Partidores utilizados para detectar bacterias asociadas a *Ornithonyssus* de Chile. Fuente: Elaboración propia. **144**

Tabla 2. Localidades y hospedadores donde se detectó ADN de *Bartonella* en *Ornithonyssus* en Chile. Abreviación corresponde a localidad/hospedador. Fuente: Elaboración propia. **145**

Tabla 3. Porcentaje de similitud de *Bartonella* sp. detectadas en *Ornithonyssus* spp. de Chile con las secuencias depositadas en Genbank. Fuente: Elaboración propia. **148**

Tabla 4. Secuencias de especies de *Bartonella* extraídas desde GenBank y las analizadas en este estudio, indicando la localidad de origen y hospedador desde donde fueron aisladas. Abreviación para Chile en Tabla 2 (Localidad_Hospedador). Fuente: Elaboración propia. **149**

Tabla 5. Matriz de distancia entre las especies de *Bartonella* obtenidas desde GenBank y las secuencias obtenidas en *Ornithonyssus* de Chile utilizando el gen 16S ARNr. Fuente: Elaboración propia. **150**

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

A nivel mundial se han descrito alrededor de 55.000 especies de Acari (Krantz & Walter, 2009), sin embargo se estima que existirían unas 20 veces más especies por descubrir, por lo que el conocimiento global de la acarofauna mundial se considera poco explorado (Dhooria, 2016). La tendencia hasta hace algunos años era realizar descripciones basadas sólo en caracteres morfológicos (concepto morfológico de especie), por lo que aquellas especies con características morfológicas muy similares, han sido históricamente adscritas a una sola especie, generando una subestimación de especies. Actualmente no sólo existe el concepto morfológico de especie; sino que además de este existen otros 35 conceptos (Zachos, 2016; Zachos, 2018). De esta forma, hay conceptos de especies que abarcan: aislamiento reproductivo, linaje, fenotipo y conceptos unificadores (Shanker *et al.*, 2017), siendo este último el más aceptado en el último tiempo. El concepto de linaje general (GLC, *general lineage concept*) fue propuesto por de Queiroz (1998; 2007), el que señala que si se analizan los conceptos de especie entregados por diversos autores, serían parcialmente incompatibles entre sí, ya que fallarían en distinguir claramente entre los conceptos de especies y criterios que definen una especie. Por lo tanto, de Queiroz (2007), propone una unificación del concepto de especie, la cual radica en el concepto fundamental, donde la especie evoluciona por separado de otros linajes, mientras que para poder comprobar esta evolución, existen criterios operacionales o líneas de evidencia que sirven para evaluar la separación de linajes, como lo es la fenética, la monofilia, el aislamiento reproductivo, identificación morfológica, etc. Estas son propiedades que los linajes adquieren a medida que se separan y divergen. De esta manera, se continúa abarcando todas las propiedades dadas por los autores en las definiciones de especies, pero no se trataría a ninguna de esas propiedades como propiedades exclusivas de las especies. De esta manera, según lo planteado por de Queiroz (2007), bajo este criterio unificado de especie, ya no deberían existir desacuerdos sobre los límites y el número de especies, si no que los desacuerdos para delimitar una especie estarían dados por diferencias en las líneas de evidencia para inferir la separación

de linajes (e.g.: relevancia de los datos usados, escalas temporales, perspectivas—prospectivas versus retrospectivas, etc.). De este modo, cualquier criterio operacional que proporcione evidencia de separación de linajes, es relevante para inferir los límites y números de especies (de Queiroz op. cit). Por otra parte, algunos investigadores hacen énfasis en algo muy certero, y es que a pesar de todos los esfuerzos por generar los límites claros que delimitan una especie, los límites de la naturaleza siguen siendo confusos, por lo que tal vez nunca exista una forma totalmente objetiva de clasificación y delimitación de especies (Zachos, 2018).

En directa relación con lo planteado anteriormente, es importante recordar que dentro de los procesos de especiación, vale decir, la formación de las especies, encontramos tres mecanismos principales de especiación: la alopátrica, simpátrica y parapátrica (Bush, 1975; Freeman & Herron, 2002). Dentro de la especiación alopátrica destacan dos tipos: **Especiación alopátrica por subdivisión**, es un tipo de especiación a largo plazo, donde una especie ampliamente distribuida se divide en dos o más poblaciones relativamente grandes. Las poblaciones pueden volver a encontrarse, el aislamiento reproductivo puede ser incompleto, pero los mecanismos de aislamiento suelen mejorar en las zonas de contacto; **Especiación alopátrica por efecto fundador o peripátrica**, este tipo de especiación puede ocurrir rápidamente y se produce cuando se establece una nueva colonia a partir de un pequeño número de colonizadores. Existe alta endogamia y presentan un rápido aumento de la población en el que la selección natural no es tan evidente. **Especiación parapátrica**, ocurre cuando las especies evolucionan como poblaciones contiguas en un continuo cambio gradual de rasgos fenotípicos debido a bajo flujo de genes productos de condiciones medioambientales, la especiación se produce en la periferia de la población y además las poblaciones siempre están en contacto, ya que no existe aislamiento geográfico. Por otra parte, estas poblaciones presentan poca diferenciación genética incluso después de que se haya completado la especiación. **Especiación simpátrica**, el aislamiento reproductivo se genera antes de que una población cambie a un nuevo nicho, la especiación ocurre en el centro de los rangos de la

especie, surgiendo muchas especies simpátricas gemelas. Además, en todos estos procesos de especiación están presentes procesos de microevolución como deriva genética, selección natural, mutación y migración (Freeman & Herron, 2002).

En relación a lo anterior Shanker *et al.* (2017), propone que las especies hermanas, gemelas o complejos de especies, serían muy buenos modelos para comprender los procesos que impulsan la especiación, lo que permitiría generar nuevos conocimientos sobre los límites de las especies. Estas especies denominadas crípticas, especies gemelas o complejos de especies, corresponden a aquellas especies que presentan características morfológicas idénticas o que son morfológicamente indistinguibles, pero que presentan distintos linajes evolutivos, lo que genera una clasificación errada como una sola especie nominal (Sáez & Lozano, 2005; Bickford *et al.*, 2007). Estos complejos de especies serían más frecuentes de encontrar en animales invertebrados, como por ejemplo insectos, crustáceos, arañas, moluscos, nemátodos, ácaros, entre otros, los que utilizan principalmente medios químicos o táctiles para el apareamiento, no así diferenciaciones morfológicas (Mayr, 1963; Bickford *et al.*, 2007). En relación a los ácaros, existen escasos estudios en los que las descripciones iniciales han sido basadas sólo en caracteres morfológicos. Este grupo de artrópodos presenta una gran cantidad de complejos de especies, lo que genera una subestimación de la diversidad de los ácaros en el mundo (Dhooria, 2016; Skoracka *et al.*, 2015), ya que las especies hermanas sólo pueden ser reconocidas a través de análisis moleculares (Radovsky, 2010).

1.1. Chile, un posible hotspot de nuevas especies de ácaros

Chile es un país que presenta características geográficas que le otorga una condición de insularidad (Desierto de Atacama, Cordillera de los Andes, Océano Pacífico y Campos de Hielo Sur) y además ha resistido glaciaciones e interglaciaciones durante el Pleistoceno (La Edad de Hielo) (Santibáñez *et al.*, 2008). Así como también, presenta latitudes y altitudes extremas, posee la

Cordillera de la Costa, grandes valles, ríos, fiordos y canales marinos, con un territorio próximo al océano en toda su extensión, de temperaturas variables e inconstantes regímenes de lluvia (di Castri & Hacked, 1976; Ormazabal, 1993; Santibáñez *et al.*, 2008). Debido a estas características, Chile se divide en ocho provincias biogeográficas: (1) Atacama; (2) Coquimbo (23–33°S); (3) Santiago (33–37°S); (4) Maule (37–39°S); (5) Bosque Valdiviano (39–47°S); (6) Bosque Magallánico (47°S hasta Cabo de Hornos); (7) Páramo Magallánico (Limita con el Bosque Magallánico hacia el este) y (8) Juan Fernández (Islas de Masatierra o Robinson Crusoe, Masafuera o Alejandro Selkirk y Santa Clara), cada una de estas áreas presenta características climatológicas y geográficas que favorecen la presencia de taxones endémicos de flora y fauna, principalmente artrópodos y vertebrados (Morrone, 2015) (Figura 1). Estas características geográficas pueden originar aislamiento de los organismos, que puede llevar a que se produzcan cambios morfológicos, conductuales, ecológicos, fisiológicos y genéticos, lo que se denomina "síndrome insular" (Monard *et al.*, 2006). En Chile continental, existen aproximadamente 2.036 especies de vertebrados, de las cuales 18% son endémicas. Destacan los altos niveles de endemismo dentro de algunos taxones de vertebrados como en los anfibios (59,7%), peces de aguas dulces continentales (54,5%), reptiles (45,1%). En cuanto a los micromamíferos se describen 69 especies y de ellas un 15,9% corresponden a especies nativas y/o endémicas (Asuntos Públicos y de Políticas Públicas, 2016). Se considera que la fauna de mamíferos presentes en Chile, es el resultado de factores históricos, como el surgimiento de la Cordillera de los Andes en el Mioceno, las glaciaciones en el Pleistoceno, ecológicos y climatológicos en distintas escalas temporales (Contreras & Torres–Mura, 2009), dando como resultado procesos de especiación peripátrica como el observado en varios roedores de Chile (Palma *et al.*, 2005; Rodríguez–Serrano *et al.*, 2006; Palma *et al.*, 2010).

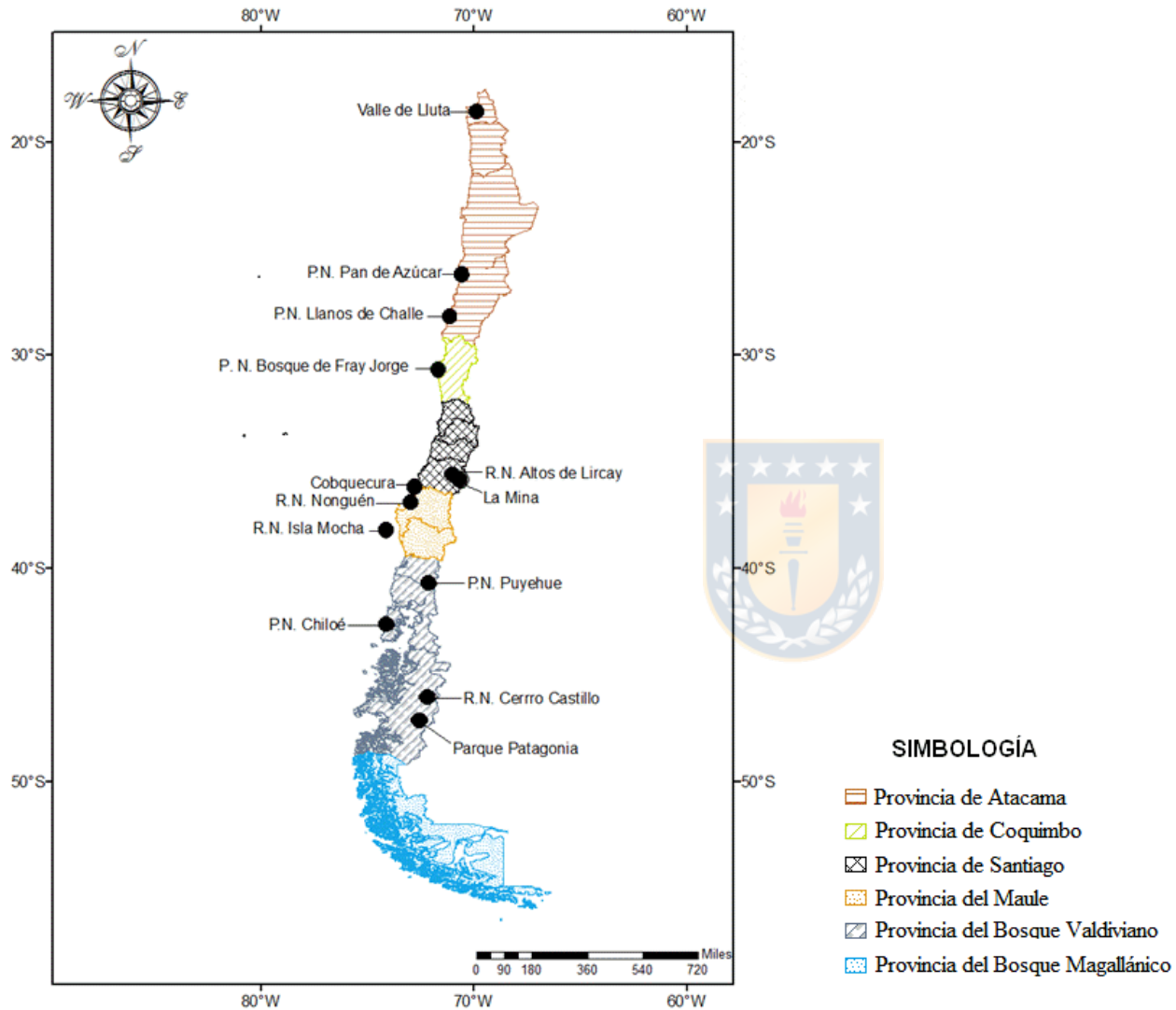


Figura 1. Provincias biogeográficas de Chile y localidades de muestreo. Fuente: Modificado de Morrone, 2015.

Por lo que es de esperar, que el grado de endemismo observado en diversos taxones de vertebrados, se vea reflejado también en la diversidad de parásitos que éstos albergan, sobre todo si se considera que cada hospedador actúa como un nicho para cada parásito. Con relación a lo anterior, hasta la fecha se describen sólo 14 especies de ácaros parásitos en roedores de Chile (Acari: Trombidiformes–Sarcoptiformes–Mesostigmata) (Brennan & Goff, 1978; Webb *et al.*, 1986; Goff & Webb, 1989a; Goff & Webb, 1989b; Lareschi & González Acuña, 2010, Sikora & Bochkov, 2012; Silva–de la Fuente, 2014; Silva–de la Fuente *et al.*, 2014). Este bajo número de especies contrasta con los cientos de especies identificadas en otros países como Colombia, México, Trinidad y Tobago, Brasil, Venezuela, entre otros (Boshell & Kerr, 1942; Brennan & Jones, 1960; Brennan, 1968; Furman, 1972; Brennan & Reed, 1975; Hoffmann, 1990; Castro *et al.*, 2018). Por lo tanto en Chile, los roedores son sujetos interesantes para realizar estudios parasitológicos, debido al proceso de especiación peripátrica con posterior recolonización de territorio que éstos sufrieron (Rodríguez–Serrano *et al.*, 2006; Palma *et al.*, 2010). Debido a la estrecha relación con sus parásitos, se podría esperar que éstos hayan sufrido este mismo modo de especiación. Otro aspecto importante es la amplia distribución y simpatria que presentan algunas especies de roedores a lo largo de su distribución en el país (Muñoz–Pedreros & Gil, 2009). Esta distribución geográfica generalizada hace que los hospedadores tiendan a albergar más especies de parásitos que hospedadores con rangos geográficos restringidos (Gregory *et al.*, 1990). Esto convirtiere a los roedores de Chile, en buenos modelos al momento de probar como los factores geográficos pueden afectar a las especies que los parasitan.

En relación a los ácaros, Skoracka *et al.* (2015), menciona que la diversidad ambiental a la que están expuestos estos organismos, daría como resultado una mayor cantidad de nichos ecológicos con un incremento del número de especies por unidad de área. Sin embargo, y como se mencionaba anteriormente, el grupo de los ácaros todavía presenta problemas relacionados con la clasificación y delimitación de especies, sobre todo si hablamos de especies crípticas o complejos de especies. Algunos autores postulan que la similitud en las

características morfológicas observadas en ácaros es producto de un éstasis morfológico (Bickford *et al.*, 2007; Skoracka *et al.*, 2015), es decir, casi no existen cambios en sus rasgos fenotípicos a través del tiempo. Estos autores señalan que la gran mayoría de los ácaros al ser ciegos, no pueden reconocer a su pareja reproductiva por características morfológicas visuales, por lo tanto utilizarían medios químicos o táctiles para el apareamiento. Esto provocaría que las diferenciaciones morfológicas pasen a un segundo plano, favoreciendo el desarrollo de caracteres no visuales (químicos, táctiles, comportamiento, etc.), los que no son utilizados por los taxónomos al momento de realizar una clasificación de estos organismos (Bickford *et al.*, 2007). Algo similar plantea Mayr (1963), quien menciona que las especies crípticas son más frecuentes de encontrar en animales que utilizan en mayor medida mecanismos químicos (olfato, gusto) que la vista. Es así como en el último tiempo, la gran mayoría de las especies que alguna vez fueron consideradas crípticas y que posteriormente fueron descritas como especies diferentes, hayan sido identificadas mediante caracteres no visuales como feromonas, sonidos de apareamiento, reproducción, etológicos, patogenicidad, fisiológicos, genética, etc. (Mayer, 1963; Bickford *et al.*, 2007; Funk *et al.*, 2008). En cuanto a los ácaros, un ejemplo es el caso del ácaro *Aceria tosichella* (Acari: Trombidiformes) de Australia, donde se determinó mediante análisis genéticos la existencia de dos especies con una amplia distribución y simpatría en las localidades analizadas (Carew *et al.*, 2009). Por ejemplo, *Varroa jacobsoni* (Acari: Mesostigmata) considerada un complejo de especies, a través análisis moleculares y morfométricos, se determinó la existencia de una nueva especie denominada *Varroa destructor* (Anderson & Trueman, 2000).

Otra particularidad de los complejos de especies es que presentan una amplia distribución. Un ejemplo es el caso de *Astrartes fuligator* Walch, 1775 (Lepidoptera: Hesperidae), mariposa que por mucho tiempo fue considerada una especie con amplia distribución en el Neotrópico. Sin embargo, Hebert *et al.* (2004), revisando especies de museo mediante análisis moleculares, además de evaluar aspectos morfológicos y ecológicos, lograron establecer que esta mariposa es un complejo que incluye 10 especies, simpátricas y diferenciadas

principalmente en etapa de oruga y en el tipo de alimentación. Esta amplia distribución podría provocar que al estar una especie sometida a diversas presiones ambientales, finalmente genere cambios que lleven a una mejor adaptación y finalmente a un proceso de especiación. Sin lugar a dudas para Shanker *et al.* (2017), la asociación entre la geografía con las relaciones filogenéticas, desempeñan un papel importante en el descubrimiento de un gran número de linajes desconocidos. Gran parte de estos ejemplos demuestran que los caracteres morfológicos utilizados para delimitar especies no son efectivos, teniendo que recurrir a otros caracteres como ecológicos, geográficos y ontológicos para poder establecer diferencias entre las especies. De todos modos, existe acuerdo por una gran mayoría que la última palabra está dada por la distancia genética entre especies (Fouquet *et al.*, 2007), mientras existe otra tendencia que señala que realizar una delimitación de especies basada sólo en filogenia y distancias genéticas sería sólo una herramienta más que ayuda al proceso de delimitación (Linkem *et al.*, 2010). De este modo, es importante resaltar la importancia de la taxonomía integrativa, que permite encontrar nuevos caracteres morfométricos o morfológicos que estén siendo omitidos, y a la vez obtener datos moleculares que permitan generar mejores reconstrucciones filogenéticas.

Es de importancia identificar correctamente una especie, ya que inicialmente permite ampliar la biodiversidad de un grupo de especies o de un determinado lugar. Al no resolver los complejos de especies se podría limitar el desarrollo tecnológico, herramientas médicas o de agricultura, ya que no se podría establecer una real asociación entre una especie y sus características únicas, ya sean epidemiológicas, patológicas o rangos de distribución asociado a su hospedador (Skoracka *et al.*, 2015). Además de limitar estudios de coevolución e interacción de especies (e.g. hospedador–parásito) (Bickford *et al.*, 2007).

Sin lugar a dudas, los análisis de secuenciación molecular en conjunto con información morfológica, contribuyen a desarrollar mejores filogenias (Bickford *et al.*, 2007; Dhooria, 2016).

1.2. Generalidades de la subclase Acari

Según la última clasificación dada por Lindquist *et al.* (2009a), los ácaros se clasifican dentro del orden Chelicerados, subclase Acari, y se dividen en dos superórdenes, (1) Parasitiformes con los órdenes Opilioacarida, Holothyrida, Ixodida y Mesostigmata y (2) Acariformes con los órdenes Trombidiformes y Sarcoptiformes. Dentro de estos seis órdenes, con excepción de Opiolacarida y Holothyrida, todos tienen importancia médica, tanto humana como animal (Walter & Proctor, 2013).

El origen de los Chelicerados se remonta al periodo Cámbrico, unos 530 – 550 millones de años atrás. Sin embargo, el primer fósil de un Acariforme se registró en el periodo Devónico (hace 408 millones de años) (Walter & Proctor, 2013), mientras que en el caso de los Parasitiformes, el registro fósil sólo comienza en el Cretácico tardío (Krantz, 2009). Un ejemplo de ello, es la descripción de una larva de garrapata dura (*Cornupalpatum burmanicum*) encontrada en ámbar en el Valle de Hukawng en Birmania (Poinar & Brown, 2003). En cuanto a los registros fósiles de los ácaros del orden Mesostigmata (Gamasida), éstas han sido escasos (Krantz, 2009; Walter & Proctor, 2013) y corresponden a un representante del género extinto *Uroobovella* Berlese (Urodinychidae) y algunos representantes de la superfamilia Microgynioidea (Microgyniina) y de la familia Ascidae (Gamasina), todos asociados a un escarabajo longicorneo (Coleoptera: Cerambycidae) (Dunlop *et al.*, 2013) correspondientes al periodo del Eoceno (hace 55,8 millones de años). Los ácaros del orden Mesostigmata, destacan por tener tamaños que van desde los 0,2 a los 4,5 mm de largo (Dhooria, 2016). Además, presentan algunas características morfológicas especiales, como la presencia de placas dorsales y ventrales esclerotizadas (Byford & Craig, 2007). Estas placas aumentan el grado de esclerotización y sufren procesos de unión y fragmentación a medida que los ácaros van llegando a la adultez. Por otra parte, destaca la presencia de órganos respiratorios compuestos de estigmas (entre la tercera y cuarta coxa) y sus prolongaciones llamados peritremas (Lindquist *et al.*, 2009b) (Figuras 2 y 3).

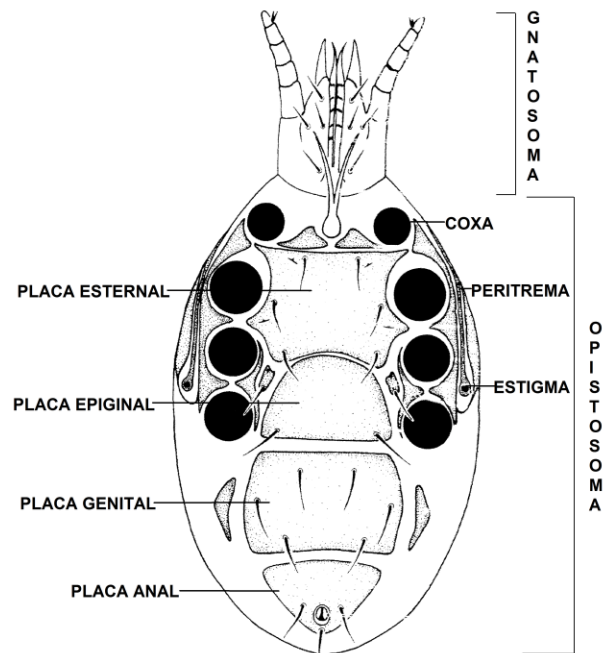


Figura 2. Anatomía de los ácaros Mesostigmata (ventral). Figura según Lindquist & Evans (1965). Fuente: Lindquist *et al.* (2009b).

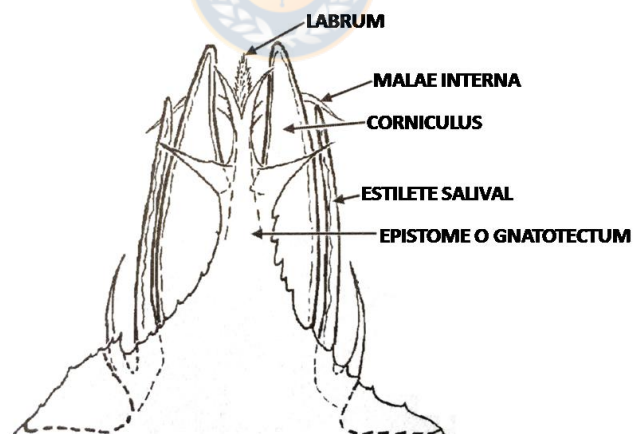


Figura 3. Detalle del gnatosoma de los ácaros Mesostigmata. Fuente: Lindquist *et al.* (2009b).

Otra particularidad de los ácaros Mesostigmata es que reúnen una gran variedad de especies con diferentes estilos de vida y hábitat (Lindquist *et al.*, 2009b). Una de estas formas de vida es la ectoparasitaria, ya que realizan parte de su ciclo de vida o su ciclo de vida completo ligado a un hospedador, obteniendo alimento de él (Strandtmann & Wharton, 1958; Radovsky, 1994; Lindquist *et al.*, 2009b). Una familia con vida estrictamente parásita son los ácaros de la familia Macronyssidae, los cuales son ectoparásitos hematófagos nidícolas de mamíferos y aves, además de endo y ectoparásitos de lepidosaurios (lagartos con escamas) (Evans & Till, 1966; Dowling & O'Connor, 2010). A través de análisis filogenéticos, se ha planteado que los primeros macronísidos habrían sido parásitos de murciélagos y posteriormente habrían parasitado otros taxones como lepidosaurios, roedores y aves (Dowling & O'Connor, 2010). Otros autores postulan que los macronísidos evolucionaron desde los laelápidos, principalmente de los géneros *Neolaelaps* y *Notolaelaps* (Mesostigmata: Laelapidae), únicos géneros dentro de los laelápidos parásitos de murciélagos (Megachiroptera) (Radovsky, 1966, Radovsky, 2010). Finalmente, Radovsky (2010), plantea que existe una gran evidencia de que la radiación de macronísidos tanto de Europa, Asia y África como de América y Oceanía data del Cenozoico o antes.

El ciclo de vida de los macronísidos comprende: huevo, una larva que no se alimenta, dos estadios ninfales (tritoninfa que se alimenta y deutoninfa que no se alimenta de su hospedador) y finalmente el estadio adulto, donde el macho puede o no alimentarse de su hospedador, pero la hembra debe alimentarse para producir huevos, desarrollando solo un huevo a la vez (Radovsky, 2010). Los periodos inactivos (larva y deutoninfa) son muy breves y se conocen con el nombre de estados quiescentes. Su función es optimizar el ciclo biológico, permitiendo que este se acorte, siendo más eficiente la reproducción (Saunders, 1975).

Con respecto a este grupo de ectoparásitos hematófagos, se señala que a pesar de la gran diversidad que poseen, el número de especies que pueden tener un impacto en la salud pública es menor (Dowling & O'Connor, 2010). Principalmente, debido a que no todas las especies pueden ser vectoras de

enfermedades, ya que para cumplir una función vectora debe ser reservorio de un patógeno, estar en contacto con una población susceptible y en el caso de los ácaros, transmitir el patógeno a través de su mordedura (Walter & Proctor, 2013). Además, estos parásitos pueden causar en la piel de sus hospedadores traumas por retención de las piezas bucales, alergias por contacto con sus secreciones o sus cuerpos (Baker & Warton, 1952). Uno de los géneros de ácaros con importancia en salud pública, por ser un reconocido vector de patógenos es *Ornithonyssus* Sambon, 1928 (Furman & Radovsky, 1963). El género *Ornithonyssus* sensu lato (s.l.) fue considerado un complejo de especies por Evans & Till (1966), señalando que este género debiese ser revisado debido a las grandes diferencias morfológicas observadas entre especies del Nuevo y Viejo Mundo, concluyendo que estas especies no serían congéneres. La revisión esperada por Evans y Till (op. cit.), fue realizada por Radovsky (2010), sin embargo, esta revisión sólo incluyó morfología y no análisis moleculares. Radovsky (2010), divide en 15 grupos (A a la N) a la familia Macronyssidae, dejando a *Ornithonyssus* en el grupo J, junto con los géneros *Lepidodorsum*, *Lepronyssoides*, *Draconyssus*, *Endophionyssus* y *Thigmonyssus* (Tabla 1). Esta clasificación está basada en caracteres taxonómicos compartidos, apoyando su origen común, como es la presencia de setas con una rama subterminal o en ocasiones con varias ramas. Además, todos estos géneros corresponden a especies exclusivas de América, Oceanía y del Neártico, a excepción de tres especies de *Ornithonyssus* (*O. bacoti*, *O. sylviarum* y *O. bursa*) que han sido dispersadas por efecto humano, considerándose cosmopolitas. De estas especies, *O. bacoti* está ligada principalmente a roedores, mientras que *O. sylviarum* y *O. bursa* están asociadas a aves (Evans & Till, 1966). Para Radovsky (2010), la mayoría de los *Ornithonyssus* en Sudamérica e India Occidental (islas Bahamas y Antillancas), están asociados a roedores caviomorfos antiguos. Además, en este trabajo, se reclasifican muchas especies anteriormente pertenecientes al género *Ornithonyssus* en nuevos géneros (24 especies) y varias especies del género fueron sinonimizadas a *O. bacoti* (8 especies).

Tabla 1. Géneros pertenecientes al grupo J según la última clasificación de la familia Macronyssidae. Características y hospedadores. Adaptación de Radovsky (2010).

Género	Caracteres taxonómicos diagnósticos	Hospedadores
<i>Ornithonyssus</i>	seta j3 ausente; setas esternales todas presentes en placa; st4 presente; proceso ventral del trocanter del palpo presente; fuerte reducción de placa dorsal en porción podonotal dejando gran parte del opistosoma descubierto.	Mamíferos Aves
<i>Lepidodorsum</i>	seta j3 ausente; st3 ausente; st4 presente; sin proceso ventral en trocanter del palpo; placa dorsal ancha con marcada reducción en la mitad posterior.	Roedores
<i>Lepronyssoides</i>	seta j3 presente; placa esternal con órganos infundibuliformes; setas esternales todas presentes en placa; st4 presente; proceso ventral del trocanter del palpo presente; moderada reducción de placa dorsal en porción posterior.	Roedores Otros mamíferos
<i>Draconyssus</i>	seta j3 ausente; st3 presente, pero fuera de placa esternal; st4 ausente; proceso del trocanter del palpo ausente; placa dorsal muy reducida con pequeña placa pigidial.	Saurios
<i>Endophionyssus</i>	seta j3 presente; setas esternales todas presentes en placa; st4 presente; proceso del trocanter presente; amplia placa dorsal que cubre casi todo el idiosoma, a nivel de j5 se estrecha.	Serpientes
<i>Thigmonyssus</i>	seta j3 presente; setas j1 y j2 insertas fuera de placa dorsal; setas esternales todas presentes en placa; st3 y st4 presente fuera de placa esternal; proceso ventral del trocanter del palpo presente; placa dorsal en margen anterior es amplia con una gran reducción solo en porción final.	Xenartros

Fuente: Elaboración propia

El último estudio publicado que trata del género *Ornithonyssus* fue realizado por Nieri–Bastos *et al.* (2011). En esta investigación los autores analizaron tanto morfológica como molecularmente las especies de este género en Brasil, corroborando el estado taxonómico de seis especies presentes en este país: *Ornithonyssus brasiliensis* (Fonseca, 1939), *Ornithonyssus wernecki* (Fonseca, 1935), *Ornithonyssus matogrosso* (Fonseca, 1954), *Ornithonyssus monteiroi* (Fonseca, 1941), *Ornithonyssus pereirai* (Fonseca, 1935) y *Ornithonyssus vitzthumi* (Fonseca, 1941). De estas especies, *O. monteiroi*, *O. brasiliensis* y *O. vitzthumi* habían sido anteriormente sinonimizadas con *O. bacoti* (Micherdzinski, 1980) producto de sus similitudes morfológicas, mientras que *O. pereirai* y *O. matogrosso*, había sido trasladadas a un género nuevo (Radovsky, 2010). Por otras parte, dentro del género *Ornithonyssus*, la especie *O. bacoti*, presenta una alta variabilidad morfológica a través de su amplia distribución, sin embargo aún no se han establecido claramente los caracteres diagnósticos adecuados para clasificar a esta especie (Micherdzinski, 1980; Radovsky, 2010). Debido a los antecedentes presentados, es probable que *O. bacoti* sea un complejo de especies y que presente una distribución mas restringida que la actualmente descrita.

Dado la importancia en salud pública que presenta *O. bacoti*, debido a que es considerada vectora de patógenos (Dove & Shelmire, 1931; Furman & Radovsky, 1963; Azad & Beard, 1998; Lopatina, 1999; Choi *et al.*, 2007; Jofré *et al.*, 2009) y que además genera dermatitis en humanos (Barriga & Donckaster, 1965; Engel *et al.*, 1998; Rosen *et al.*, 2002; Beck 2008; Rahdar & Vazirianzadeh, 2009), la identificación correcta de esta especie es fundamental para determinar su distribución y potencial contacto con la población humana, y además evaluar las especies de patógenos que puede transmitir. Un ejemplo de lo anterior, es la investigación realizada por Roy *et al.* (2008), quienes estudian molecular y morfológicamente el complejo de especies *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata: Dermanyssidae), un ácaro considerado plaga y que afecta aves de corral. Dichos autores hacen énfasis en que al resolver este tipo de complejos de especies, se pueden realizar tratamientos parasitológicos correctos a los hospedadores

afectados por este tipo de ácaros y que hasta la fecha siguen siendo consideradas como *D. gallinae*, a pesar de su alta variabilidad morfológica. En el caso del complejo de especies de *Ixodes ricinus* (Ixodida: Ixodidae), se postula que 14 especies de garrapatas serían incluidas en este complejo, siendo alguna de ellas vectoras de la enfermedad de Lyme a los humanos como *Ixodes pacificus*, *Ixodes scapularis*, *Ixodes ricinus* e *Ixodes persulcatus*. Mientras que existen otras especies de este complejo que no parasitan al humano como *Ixodes affinus*, *Ixodes minor*, *Ixodes spinipalpis* e *Ixodes angustus*, sin embargo, mantienen el ciclo enzoótico de *Borrelia* en la naturaleza. De este modo, es de suma importancia reconocer de forma inequívoca el rol que cumple cada especie dentro de un ciclo parasitario (Xu *et al.*, 2003). Algo similar ocurre para el complejo de especies *Amblyomma cajennense* (Ixodida: Ixodidae), compuesto por seis especies: *Amblyomma cajennense* s.s., *Amblyomma interandinum*, *Amblyomma mixtum*, *Amblyomma patinoi*, *Amblyomma sculptum* y *Amblyomma tonelliae*, pudiendo ser reconocidas por un conjunto de caracteres morfológicos, geográficos y moleculares. Esta subdivisión en el complejo *Cajennense* generó nuevas asociaciones garrapata-patógeno (Nava *et al.*, 2014). Por su parte, *Rhipicephalus microplus* (Ixodida: Ixodidae), garrapata considerada plaga del ganado, genera pérdidas económicas cuantiosas. Un reciente estudio sugiere que esta especie sería un complejo de especies, y la correcta identificación de estos entes biológicos, podría generar cambios en los tiempos de cuarentena, nuevos estudios en el control parasitario, mayor conocimiento sobre los ciclos de vida y distribución geográfica de las potenciales nuevas especies (Burger *et al.*, 2014). Por lo tanto, teniendo en cuenta los nuevos conocimientos que se originan al resolver estos complejos de especies, el estudio de *O. bacoti* presente en Chile en distintos hospedadores y localidades ayudará a determinar si corresponde a un complejo de especies y evaluar los potenciales patógenos que portan y/o transmiten a roedores y que potencialmente podrían estar vinculados a humanos.

En Chile, un potencial complejo de especies podría estar asociado a la variada geografía y la historia palioclimática de este país, eventos que contribuyeron a la especiación de los roedores (peripátrica), dando como resultado la diversidad de

especies endémicas y/o nativas presente en Chile (15,9%), además estos eventos que afectaron a los roedores también podrían haber afectado a los ácaros parásitos, produciéndose eventos de especiación similares en ambos taxones.

En resumen, teniendo en consideración el aislamiento geográfico característico de Chile, los procesos de especiación presentes en los roedores de Chile que podrían replicarse en los ácaros, los cuales podrían portar bacterias propias del país al haber evolucionado de manera aislada y considerando además la existencia del complejo *O. bacoti*, es relevante resolver este complejo y determinar las especies de *Ornithonyssus* presentes en Chile y sus bacterias asociadas.



II. REFERENCIAS

1. Asuntos Públicos, I. y de Políticas Públicas, C. (2016). Informe país Estado del medio ambiente en Chile: Comparación 1999–2015. *Universidad de Chile*, Santiago de Chile, Chile. 605 pp. Disponible en <http://www.libros.uchile.cl/648>.
2. Anderson, D. L. & Trueman, J. W. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, 24(3), 165–189.
3. Baker, E. W. & Wharton, G. W. (1952). *An Introduction to Acarology*. Macmillan Co., New York y Toronto.
4. Bickford, D., Lohman, D., Sodhi, N., Ng, P., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. & Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(3), 148–155.
5. Boshell, J. & Kerr, J. A. (1942). Veinticinco especies nuevas de Trombidídeos de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*, 5, 110–127.
6. Brennan, J. M. (1968). A Collection of Chiggers (Acarina: Trombiculidae) from Rodents in Southwestern Colombia. *The Journal of Parasitology*, 54, 679–685.
7. Brennan, J. M. & Jones, E. K. (1960). Chiggers of Trinidad, b.w.i. (Acarina: Trombiculidae). *Acarologia*, 2(4), 493–540.
8. Brennan, J. M. & Goff, M. L. (1978). Three new monotypic genera of chiggers (Acari: Trombiculidae) from South America. *Journal of Medical Entomology*, 14, 541–544.
9. Brennan, J. M. & Reed, J. T. (1975). A list of Venezuela chiggers, particularly of small mammalian hosts (Acarina: Trombiculidae). *Brigham Young University Science Bulletin, Biological Series*, 20(1), 2.
10. Burger, T., Shao, R. & Barker, S. (2014). Phylogenetic analysis of mitochondrial genome sequences indicates that the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, contains a cryptic species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 76, 241–253.

11. Bush, G. L. (1975). Modes of Animal Speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 6, 339–364.
12. Byford, R. & Craig, M. (2007). Chapter 6: Biology of Arthropods. En: Baker, D. (Ed.). *Flynn's parasites of laboratory animals*. (pp. 4). Blackwell Publishing, Iowa, USA.
13. Contreras, L. & Torres–Mura, J. (2009). Biogeografía. En: Muñoz–Pedreros, A. & J. Yañez (Eds.). *Mamíferos de Chile*. (pp. 21–31). CEA, Valdivia, Chile.
14. Carew, M., Schiffer, M., Umina, P., Weeks, A. & Hoffmann, A. (2009). Molecular markers indicate that the wheat curl mite, *Aceria tosichella* Keifer, may represent a species complex in Australia. *Bulletin of entomological research*, 99(5), 479–486.
15. Castro, F., Bassini–Silva, R., Mendoza–Roldan, J. A., Pepato, A. R., Ochoa, R., Welbourn, C. & Barros–Battesti, D. (2018). A checklist of chiggers from Brazil, including new records (Acari: Trombidiformes: Trombiculidae and Leeuwenhoekiidae). *ZooKeys* 743, 1–41.
16. de Queiroz, K. (1998). The General Lineage Concept of Species, Species Criteria, and the Process of Speciation: A Conceptual Unification and Terminological Recommendations. En: Wilson, R. A. (Ed.). *Chapter: 3. Species: New Interdisciplinary Essays*. pp. 49–89. MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
17. de Queiroz, K. (2007). Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology*, 56(6), 879–886.
18. Dhooria, M. S. (2016). *Fundamentals of Applied Acarology*. Springer Science+Business Media Singapore, Gateway East, Singapore.
19. di Castri, F. & Hajek, E. R. (1976). Bioclimatología de Chile. *Pontificia Universidad Católica de Chile*, Santiago, Chile. 163 pp.
20. Dowling, A. P. & O'Connor, B. M. (2010). Phylogeny of Dermanyssoidea (Acari: Parasitiformes) suggests multiple origins of parasitism. *Acarologia*, 50(1), 113–129.

21. Dunlop, J. A., Kotschán, J. & Zwanzig, M. 2013. Fossil mesostigmatid mites (Mesostigmata: Gamasina, Microgyniina, Uropodina), associated with longhorn beetles (Coleoptera: Cerambycidae) in Baltic amber. *Naturwissenschaften*, 100(4), 337–344.
22. Evans, G. O. & Till, W. M. 1966. Studies on the British Dermanyssidae (Acari: Mesostigmata I. Part II, Classification. *Bulletin of The British Museum (Natural History) Zoology*, 14(17), 8–370.
23. Freeman, S. & Herron, J. C. 2002. *Análisis evolutivo*. Pearson Educación, S. A. Madrid, España. 703 pp.
24. Fouquet, A., Vences, M., Salducci, M. D., Meyer, A., Marty, C., Blanc, M. & Gilles, A. (2007). Revealing cryptic diversity using molecular phylogenetics and phylogeography in frogs of the *Scinax ruber* and *Rhinella margaritifera* species groups. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2), 567–582.
25. Funk, W. C., Angulo, A., Caldwell, J. P., Ryan, M. J. & Cannatella, D. C. 2008. Comparison of morphology and calls of two cryptic species of *Physalaemus* (Anura: Leiuperidae). *Herpetologica* 64(3), 290–304.
26. Furman, D. P. 1972. Laelapid mites (Laelapidae: Laelapinae) of Venezuela. *Brigham Young University Science Bulletin, Biological series*, 17(3), 2.
27. Furman, D. P. & Radovsky, F. J. 1963. A new species of *Ornithonyssus* from the White-tailed Antelope Squirrel with a rediagnosis of the genus *Ornithonyssus*. *The Pan-Pacific Entomologist*, 39(2), 75–79.
28. Gregory, R. D., Keymer, A. E. & Clarke, J. R. (1990). Genetics, Sex and Exposure: The Ecology of *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda) in the Wood Mouse. *Journal of Animal Ecology*, 59(1), 363–378.
29. Goff, M. & Webb, J. R. (1989a). A new genus and species of Leeuwenhoekiinae (Acari: Trombiculidae) from rodents collected in Chile, and a key to the new world genera of Leeuwenhoekiinae. *International Journal of Acarology*, 15(2), 75–78.
30. Goff, M. & Webb, J. R. (1989b). A new species of *Paraguacarus* (Acari: Trombiculidae) from a degu (Mammalia: Rodentia) collect in Chile. *Bulletin of the Society for Vector Ecology*, 14(1), 93–94.

31. Hebert, P. D., Penton, E. H., Burns, J. M., Janzen, D. H. & Hallwachs, W. (2004). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 101(41), 14812–1417.
32. Hoffmann, A. (1990). *Los trombicúlidos de México (Acarida: Trombiculidae)*. Publicaciones especieales 2, Universidad Autónoma de México, D. F., México. pp. 275
33. Krantz, G. H. (2009). Origins and phylogenetic relationships. En: Krantz, G.H. & D.E., Walter (Eds.). *A manual of Acarology*. pp. 3–4. *University Press*. Texas, EE.UU.
34. Lareschi, M. & González–Acuña, G. (2010). Acari, Laelapidae (ectoparasitic mites), central and southern Chile. *Check List*, 6(4), 546–548.
35. Lindquist, E. E., Krantz, G. H. & Walter, D. E. (2009a). Classification. En: Krantz, G.H. & D.E., Walter (Eds.). *A manual of Acarology*. pp. 97–103. *University Press*, Texas, EE.UU.
36. Lindquist, E. E., Krantz, G. H. & Walter, D. E. (2009b). Order Mesostigmata. En: Krantz, G. H. & D. E., Walter (Eds.). *A manual of Acarology*. pp. 124–232. *University Press*, Texas, EE.UU.
37. Linkem, C. W., Hesed, K. M., Diesmos, A. C. & Brown, R. M. (2010). Species boundaries and cryptic lineage diversity in a Philippine forest skink complex (Reptilia; Squamata; Scincidae: Lygosominae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(2), 572–585.
38. Mayr, E. (1963). *Especies animales y evolución*. Ediciones Ariel, S. A. España.
39. Micherdzinski, W. (1980). *Eine taxonomische analyse der Familie Macronyssidae Oudemans, 1936. I. Subfamilie Ornithonyssinae Lange, 1958 (Acarina, Mesostigmata)*. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, Kraków.

40. Monard, S., Krasnov, B., Poulin, R. & Degen, A. (2006). Micromammals and macroparasites: Who is who and how do they interact?. En: Morand S., B. R., Krasnov & Poulin, R. (Eds.). *Micromammals and Macroparasites from Evolutionary Ecology to Management*. pp. 227. Springer-Verlag, Tokyo, Japan.
41. Morrone, J. J. (2015). Biogeographical regionalisation of the Andean region. *Zootaxa*, 3936(2), 207–236.
42. Muñoz-Pedreros, A. & Gil, C. (2009). Importancia de los mamíferos silvestres chilenos. En: Muñoz-Pedreros, A. & Yañez, J. (Eds.). *Mamíferos de Chile*. pp. 21-31. CEA, Valdivia, Chile.
43. Nava, S., Beati, L., Labruna, M., Caceres, A., Mangold, & A., Guglielmone, A. (2014). Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5, 252–276.
44. Nieri-Bastos, F. A., Labruna, M. B., Marcili, A., Durden, L. A., Mendoza-Uribe, L. & Barros-Battesti, D. M. (2011). Morphological and molecular analysis of *Ornithonyssus* spp. (Acari: Macronyssidae) from small terrestrial mammals in Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, 55(4), 305–327.
45. Ormazabal, C. S. (1993). The conservation of biodiversity in Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 66, 383–402.
46. Palma, R. E., Marquet, P. A. & Boric-Bargetto, D. (2005). Inter- and intraspecific phylogeography of small mammals in the Atacama Desert and adjacent areas of northern Chile. *Journal of Biogeography*, 32(11), 1931–1941.
47. Palma, R. E., Cancino, R. & Rodríguez-Serrano, E. (2010). Molecular systematics of *Abrothrix longipilis* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) in Chile. *Journal of Mammalogy*, 91(5), 1102–1111.

48. Poinar, G. & Brown, A. E. (2003). A new genus of hard ticks in Cretaceous Burmese amber (Acari: Ixodida: Ixodidae). *Systematic Parasitology*, 54(3), 199–205.
49. Radovsky, F. J. (1966). Revision of the macronyssid and laelapid mites of bats: outline of classification with descriptions of new genera and new type species. *Journal of Medical Entomology*, 3(1), 93–99.
50. Radovsky, F. J. (1994). The evolution of parasitism and the distribution of some Dermanyssoid mites (Mesostigmata) on vertebrate hosts. En: Marilyn, A.H. (Ed.). *Mites Ecological and evolutionary analyses of life–history patterns*. pp. 186–217. Chapman & Hall, New York, USA.
51. Radovsky, F. J. (2010). Revision of genera of the parasitic mite family Macronyssidae (Mesostigmata: Dermanyssoidea) of the world. *Indira publishing house*, West Bloomfield, USA. 171 pp.
52. Rodríguez–Serrano, E., Cancino, R. & Palma, R. E. (2006). Molecular phylogeography of *Abrothrix olivaceus* (Rodentia: Sigmodontinae) in Chile. *Journal of Mammalogy*, 87(5), 971–980.
53. Sáez, A. G. & Lozano, E. (2005). Cryptic species: as we discover more examples of species that are morphologically indistinguishable, we need to ask why and how they exist. *Nature*, 433(13), 111.
54. Santibáñez, F., Roa, P. & Santibáñez, P. (2008). Capítulo I: El medio físico. En: Rovira, J., J. Ugalde & M. Stutzi (Eds.). *Biodiversidad de Chile Patrimonio y desafío*. pp. 21–42. Ocho libros, Santiago, Chile.
55. Saunders, R. C. (1975). Venezuelan Macronyssidae (Acarina: Mesostigmata). *Brigham Young University Science Bulletin, Biological Series*, 20(2), 75–90.
56. Shanker, K. Vijayakumar, S. P. & Ganeshiah, K. N. (2007). Unpacking the species conundrum: philosophy, practice and a way forward. *Journal of Genetics*, 96(3), 413–4303.
57. Sikora, B. & Bochkov, A. (2012). Fur mites of the family Listrophoridae (Acariformes: Sarcoptoidea) associated with South American sigmodontine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). *Acta Parasitologica*, 57(4), 388–396.

58. Skoracka, A., Magalhaes, S., Rector, B. & Kuczynski, L. (2015). Cryptic speciation in the Acari: a function of species lifestyles or our ability to separate species?. *Experimental and applied Acarology*, 67(2), 165–182.
59. Silva–de la Fuente, M.C. (2014). Ecología de ácaros Mesostigmata asociados a roedores del norte de Chile. *Tesis de Magíster*. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
60. Silva–de la Fuente, M. C. Casanueva, M. E., Moreno–salas, L. & González–acuña, D. (2014). A new genus and species of chigger mite (Trombidiformes: Trombiculidae) from *Loxodontomys pikumche* (Rodentia: Cricetidae) in Chile. *Zootaxa*, 4092(3), 426–430.
61. Strandtmann, R.W. & G.W. Wharton. (1958). *A manual of mesostigmatid mites parasitic on vertebrates*. Institute of Acarology. Meryland, USA.
62. Walter, D. E. & Proctor, H. C. (2013). *Mites: ecology, evolution, and behaviour: life at a microscale*. Springer, NY, USA.
63. Webb Jr. J., Bennett, S. & Loomis, R. (1986). A new genus and species of trombiculid mite (Acari) from a chilean rodent (Mammalia: Cricetidae). *International Journal of Acarology*, 12(2), 83–85.
64. Xu, G., Fang, Q. Q., Keirans, J. E. & Durden, L. A. (2003). Molecular phylogenetic analyses indicate that the *Ixodes ricinus* complex is a paraphyletic group. *Journal of Parasitology*, 89(3), 452–457.
65. Zachos F. E. (2016). Species concepts in biology. Historical development, theoretical foundations and practical relevance. *Springer*, Switzerland.
66. Zachos F. E. (2018). (New) Species concepts, species delimitation and the inherent limitations of taxonomy. *Journal of Genetics*, 97(4), 811–815.

CAPÍTULO I

EL COMPLEJO DE ESPECIES *Ornithonyssus bacoti* (HIRST, 1913): DETERMINACIÓN DE LAS ESPECIES PRESENTES EN CHILE A PARTIR DE ANÁLISIS MOLECULARES, MORFOMÉTRICOS Y MORFOLÓGICOS.

I. INTRODUCCIÓN

El género *Ornithonyssus* fue descrito por primera vez en 1928 por Sambon. A nivel mundial este género está constituido por 13 especies válidas, todas presentes en América, las cuales se muestran en la tabla 1 (Furman & Radovsky, 1963; Yunker & Radovsky, 1967; Micherdzinski, 1980; Radovsky, 2007; Radovsky, 2010 y Nieri-Bastos *et al.*, 2011).

Tabla 1. Especies válidas dentro del género *Ornithonyssus*. Se indica la localidad tipo y hospedadores.

Espece	Autor de la especie	Distribución	Hospedador
<i>O. sylviarum</i>	(Canestrini & Fanzago, 1877)	Cosmopolitas	Generalmente aves
<i>O. bursa</i>	(Berlese, 1888)	Cosmopolitas	Generalmente aves
<i>O. bacoti</i>	(Hirst, 1913)	Cosmopolitas	Generalmente roedores
<i>O. wernecki</i>	(Fonseca, 1935)	Brasil, Venezuela, Panamá	<i>Didelphis albiventris</i> (Didelphimorphia: Didelphidae)
<i>O. pereirai</i>	(Fonseca, 1935)	Brasil	Roedores
<i>O. brasiliensis</i>	(Fonseca, 1939)	Sudamérica	Roedores
<i>O. vitzthumi</i>	(Fonseca, 1941)	Sudamérica	Roedores

Continuación tabla 1.

Especie	Autor de la especie	Distribución	Hospedador
<i>O. monteiroi</i>	(Fonseca, 1941)	Sudamérica	Roedores
<i>O. matogrosso</i>	(Fonseca, 1954)	Sudamérica, Mato Grosso, Brasil	Ratas silvestres
<i>O. aridus</i>	Furman & Radovsky, 1963	Mecca, Condado de Riverside, California	<i>Ammospermophilus leucurus</i> (Rodentia: Sciuridae)
<i>O. coendou</i>	Yunker & Radovsky, 1967	Río Pedro Miguel, Panamá	<i>Coendou rothschildi</i> (Rodentia: Erethizontidae)
<i>O. longisetosus</i>	Micherdzinski, 1980	Brasil	<i>Marmosa murina</i> (Didelphimorphia: Didelphidae)
<i>O. hypertrichus</i>	Radovsky, 2007	Baja California, México	<i>Peromyscus eremicus</i> (Rodentia: Cricetidae)

Nómina formada por revisiones de Furman & Radovsky (1963); Yunker & Radovsky (1967); Micherdzinski (1980); Radovsky (2007); Radovsky (2010) y Nieri-Bastos *et al.* (2011). Fuente: Elaboración propia

El género *Ornithonyssus* ha sufrido algunas modificaciones en su diagnóstico. Strandtmann & Wharton (1958), en la identificación del género *Ornithonyssus* destacan que las hembras presentan un estrechamiento de la placa dorsal, con una placa epiginal estrecha y puntiaguda, el trocanter del palpo puede o no presentar una espina y todas las coxas de las patas están desprovistas de setas espinosas. Posteriormente, Furman & Radovsky (1963) señalan que los 20 pares de setas del idiosoma son delgadas y puntiagudas, con algunas setas con ligeras barbas. Ninguna de las coxas presentan espinas o crestas, además la seta proximal de la coxa I rara vez está montada en un pedicelo y la coxa II presenta una pequeña espina en el margen anterior. Radovsky (2007), señala que la hembra de *Ornithonyssus* posee una placa dorsal completa, excepto en la especie *O. aridus* Furman & Radovsky, 1963. Además, las hembras no presentan las setas j3 y J5, tienen 3 o 4 pares de setas en el margen posterior de la placa dorsal (Z3–Z5; S5; Z4 muy pequeña cuando está presente). La placa esternal de la hembra tiene un tamaño moderado, nunca muy corta y con forma de correa o tira, presenta tres pares de setas. La placa epiginal de la hembra sólo presenta un par de setas genitales, descartando la ausencia de setas accesorias y ausencia de un

proceso medio anterior. En la parte anterior de la coxa II destaca una seta espinosa bien desarrollada o ausente, crestas ventrales ausentes en las coxas, excepto en *O. wernecki*. Adicionalmente, el trocanter palpal tiene un pequeño proceso anterior. Finalmente Radovsky (2010), destaca que la hembra en la coxa II tiene una pequeña cresta espinosa anteriormente (espolón), rara vez ausente (solo en *O. sylviarum*) o muy desarrollada y en forma triangular como en *O. wernecki*. La coxa I puede tener un espolón donde se sostiene la seta proximal. Radovsky (2010) en su última revisión de la familia Macronyssidae cree resuelta la problemática con el género *Ornithonyssus*, clasificando algunas especies de este género dentro de otros géneros y sinonimizando otras. Sin embargo, Nieri–Bastos *et al.* (2011), invalida algunas especies de *Ornithonyssus* que Radovsky (op. cit.) había transferidas a otros géneros y otras sinonimizadas con *O. bacoti*. De este modo, Nieri–Bastos *et al.* (2011) establecen la presencia de seis especies de *Ornithonyssus* en Brasil: *O. brasiliensis*, *O. matogrosso*, *O. monteiroi*, *O. pereirai*, *O. vitzhumi* y *O. wernecki*. Además, elimina la sinonimia realizada por Micherdzinski (1980) de *O. monteiroi*, *O. brasiliensis* y *O. vitzhumi* con *O. bacoti*, reasigna especies dentro del género, como *O. matogrosso* y *O. pereirai* ubicadas por Radovsky (2010) dentro del género *Lepronyssoides*. Sin embargo, existen más especies sinonimizadas con *O. bacoti* y que requieren ser analizadas tanto molecular como morfológicamente, tal es el caso de *O. eruditus*, *O. hirsti*, *O. lutzi* y *O. simulatus*, así como también especies como *O. garridoi* y *O. noeli* que fueron reasignadas al género *Lepronyssoides* (Radovsky, 2010). Estos resultados evidencian que aun no está resuelta la sistemática de este género. *Ornithonyssus bacoti*, comúnmente conocido como ácaro de la rata tropical (Evans & Till, 1966), también se ha vinculado a roedores de laboratorio y al humano (Strandtman & Wharton, 1958; Evans & Till, 1966; Yunker & Radovsky, 1966; Beck, 2008; Beck & Fölster–Holst, 2009). Esta especie fue descrita por Hirst en 1913 sobre la base de cinco hembras encontradas parasitando a la rata noruega *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae) en Asyut, Egipto (Hirst, 1913). *Ornithonyssus bacoti* se registra en todos los continentes excepto Antártica y regiones árticas (Strandtman & Wharton, 1958). Mide cerca de 1 mm o más cuando está ingurgitada, pudiendo

ser visto a simple vista (Walter & Proctor, 2013). El ciclo biológico comprende los estadios de huevo, larva, ninfas (protoninfa – deutoninfa) y adulto, pudiendo oviponer hasta 12 huevos y completar su ciclo entre 11 a 16 días, lo que le permite generar grandes poblaciones en un corto periodo de tiempo (Jofré *et al.*, 2009; Walter & Proctor, 2013).

Aunque, *O. bacoti* se describió parasitando ratas de Egipto, todavía existe la disyuntiva sobre cuál habría sido el origen real de esta especie de ácaro. Strandtman & Wharton (1958), postulan que *O. bacoti* se habría originado en América (Nuevo Mundo), basándose en la gran afinidad y poder vectorial que tiene este ácaro con el nemátodo *Litomosoides carinii* (Travassos, 1911) (Nematoda: Filiarioidea), endoparásito vinculado principalmente a *Sigmodon hispidus* Say & Ord, 1825 (Rodentia: Cricetidae), roedor originario de América. Por lo tanto, *O. bacoti* se habría adaptado secundariamente a *Rattus*, especie hospedador tipo del ácaro y de este modo se habría dispersado por el mundo, siendo la principal vía de diseminación el transporte (comercialización de productos), que sirvió para dispersar tanto los hospedadores como los ácaros (Walter & Proctor, 2013). Sin lugar a dudas, estudios con relojes moleculares se deberían llevar a cabo para resolver finalmente el origen de *O. bacoti*.

En Chile, la presencia de *O. bacoti* ha sido reportada en ratas de laboratorio (*Rattus rattus* Linnaeus, 1758) (Barriga, 1965) y más tarde sobre diferentes roedores: Muridae: *Mus musculus* Linnaeus, 1758, *R. rattus* (Rodentia: Muridae); Cricetidae: *Phyllotis darwini* (Waterhouse, 1837), *Phyllotis xanthopygus* (Waterhouse, 1837), *Phyllotis magister* (Thomas, 1912), *Auliscomys boliviensis* Waterhouse, 1846, *Eligmodontia puerulus* Philippi, 1896, *Abrothrix olivacea* Waterhouse, 1837, *Abrothrix longipilis* (Waterhouse, 1837), *Akodon albiventer* Thomas, 1897, *Akodon berlepschii* (Spotorno) y *Oligoryzomys longicaudatus* Bennett, 1832 (Rodentia: Cricetidae). También se ha registrado en marsupiales de la familia Didelphidae *Thylamys elegans* (Waterhouse, 1839) (Didelphimorphia: Didelphidae) (Silva–de la Fuente, 2014).

Por lo tanto, teniendo el antecedente de la presencia de *O. bacoti* en Chile, país con características insulares, con una amplia distribución geográfica de sus

hospedadores (roedores), la diversidad de roedores nativos que presenta Chile y los antecedentes de la discutida clasificación de este ácaro en otros países, se proponen que *O. bacoti* constituye un complejo de especies en Chile, pudiendo encontrar la especie *O. bacoti* s.s. y nuevas especies del género *Ornithonyssus* a lo largo del país, las cuales producto de su similitud morfológica, no sea posible identificarlas, pero sí puedan ser linajes genéticos diferentes. Para resolver lo anteriormente planteado, es necesario integrar caracteres morfológicos y moleculares que puedan determinar con mayor certeza la identidad de las especies, pudiendo relacionar las características morfométricos y/o morfológicas con las características genotípicas de las especies, descartando simples variaciones fenotípicas (plasticidad) producto de factores ambientales, desarrollo del ácaro o cambios inducidos por el hospedador (Adamski *et al.*, 2008; Silva– de la Fuente, 2014).



II. HIPÓTESIS DE TRABAJO

1.– Determinación de especies del género *Ornithonyssus* en Chile

La especie descrita a lo largo de Chile como *Ornithonyssus bacoti* constituye un complejo de especies.

III. OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar el estado taxonómico de los ácaros *Ornithonyssus* presentes en roedores de Chile.

Objetivos específicos:

1.1– Evaluar diferencias genéticas entre individuos del género *Ornithonyssus* presentes en distintas especies de roedores y localidades en Chile.

1.2.– Establecer las relaciones filogenéticas entre las especies del género *Ornithonyssus* descritas para Sudamérica y Chile.

1.3.– Evaluar variaciones morfométricas y morfológicas entre individuos del género *Ornithonyssus* presentes en roedores de Chile.

1.4. Correlacionar (si corresponde) caracteres genéticos, morfométricos y morfológicos diagnósticos para las especies del género *Ornithonyssus* en Chile.

IV. METODOLOGÍA

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 Área de muestreo

Entre los años 2010 a 2016 se realizaron 24 campañas de muestreo de roedores en 14 localidades a lo largo de Chile (Figura 1, Tabla 2). En cada sitio de captura se permaneció aproximadamente 3 días.

Las localidades de captura fueron seleccionadas por representar sitios con alta abundancia y diversidad de roedores, además por ser lugares protegidos por la Comisión Nacional Forestal (CONAF), donde se pueden obtener muestras tanto de roedores silvestres como de roedores vinculados a las poblaciones humanas (roedores múridos).

Las capturas de los roedores fueron autorizadas por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG resoluciones 8082; 1095; 3936; 2988), Comisión Nacional Forestal (CONAF resoluciones 011; 002; 03; 019; XI-19-15) y el Comité de Bioética de la Universidad de Concepción (resoluciones CE 03-2009; CER-18-2012).

Tabla 2. Sitios de muestreo y coordenadas geográficas.

Número	Localidad	Coordenadas
1	Valle de Lluta	18°19'34,08"S – 70°00'31,89"O
2	Socoroma	18°15'00,49"S – 69°36'20,00"O
3	P. N. Pan de Azúcar	26°10'39,23"S – 70°32'58,34"O
4	P. N. Llanos de Challe	28°08'35,33"S – 71°06'51,87"O
5	P. N. Bosque Fray Jorge	30°39'07,07"S – 71°41'09,44"O
6	R. N. Altos de Lircay	35°36'34,89"S – 70°57'58,68"O
7	La Mina	35° 59'14,06"S – 70° 24'06,88"O
8	Cobquecura	36°08'19,02"S – 72°47'40,28"O
9	R. N. Nonguén	36° 53'53,79"S – 72° 58'53,36"O
10	R. N. Isla Mocha	38°21'32,75"S – 73°55'27,21"O
11	P. N. Puyehue	40°40'42,68"S – 72°06'43,17"O
12	P. N. Chiloé	42°37'31,26"S – 74°06'29,91"O
13	R. N. Cerro Castillo	46°03'00,00"S – 72°11'00,00"O
14	Parque Patagonia	47°07'41,00"S – 72°30'18,50"O

Fuente: Elaboración propia.

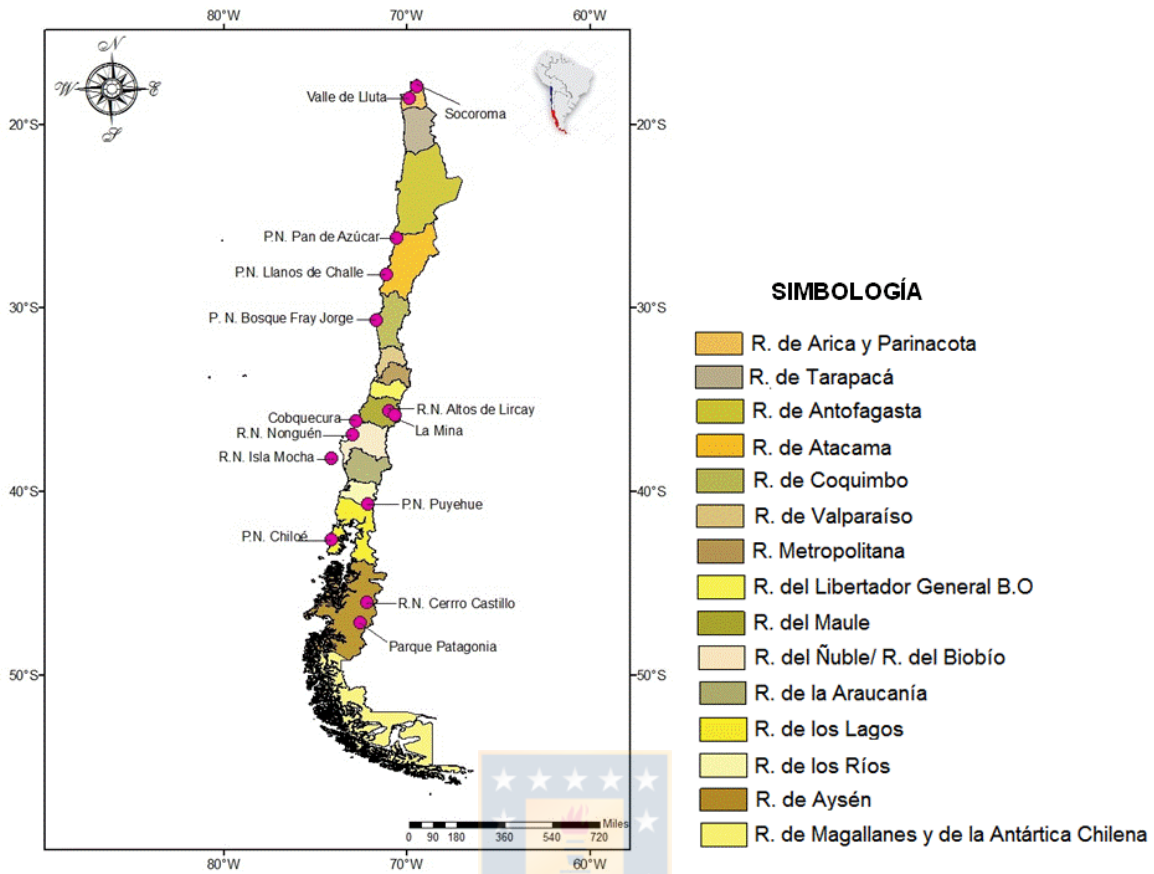


Figura 1. Localidades de muestreo de roedores con presencia de *Ornithonyssus* spp. en Chile. Fuente: Elaboración propia.

1.2 Captura y procesamiento de roedores

Las capturas de los roedores se realizaron con trampas tipo Sherman (Ancho 7,5 cm; Largo 18,5 cm; Alto 9 cm), las que fueron ubicadas en sitios donde se detectó la presencia de heces y madrigueras de roedores. Las trampas fueron cebadas con avena machacada, considerado uno de los cebos más eficaces para atraer micromamíferos (Jiménez *et al.*, 1992). Las trampas fueron activadas al atardecer, permaneciendo toda la noche activas para ser revisadas a la madrugada siguiente. Una vez que las trampas fueron recogidas, cada roedor capturado fue anestesiado con una solución de Ketamina 0,044 mg/g y Xilacina 0,006 mg/g vía intramuscular (Kreeger & Arnemo, 2012). Una vez anestesiados, los roedores fueron medidos (mm), por medio de un pie de metro digital (Mitutoyo, error instrumental: $\pm 0,2$ mm/ $\pm .008$) y pesados (Pesola®, error instrumental: $\pm 0.3\%$). Posteriormente, el pelaje de cada ratón fue revisado minuciosamente por un período de 10 minutos con pinzas finas en busca de ácaros. Los ácaros fueron almacenados en microtubos de 1,5 mL (Biologix, USA) en alcohol al 96%, para su posterior análisis morfométrico y molecular. Una vez terminada la inspección de los roedores, estos fueron marcados con un crotal metálico seriado en su oreja derecha para posteriormente, una vez finalizado el efecto de la sedación, ser liberados en el mismo sitio de captura. Un punto importante a considerar en la manipulación de los roedores es la exposición a patógenos como el virus Hanta, siendo el principal reservorio *O. longicaudatus*, no obstante, otras especies de roedores en Chile son seropositivos incluyendo los Akodontinos *Ab. olivacea*, *Ab. longipilis* y *Abrothrix sanborni* (Osgood, 1943) y los Phylotinos *Loxodontomys micropus* Waterhouse, 1837 y *P. darwini* (Padula *et al.*, 2004; Murúa, 1999). Se tomaron las medidas de bioseguridad establecidas por la Organización Panamericana de la Salud (O.P.S., 1999), que recomiendan el uso de guantes de látex para la manipulación de los roedores. Además, antes de la extracción de los guantes, es necesario lavarse con una solución de hipoclorito (3 cucharadas de cloro en 4,5 litros de agua) y posteriormente lavar directamente las manos con abundante agua y jabón. Cuando los roedores fueron extraídos de las trampas o

durante la toma de muestras, se usó un respirador de rostro completo (Serie 6000 3M™) equipado con filtros de partículas ultra finas P100 (Serie 2000 3M™) (Figura 2). Las trampas diariamente fueron limpiadas con desinfectante comercial o con solución de hipoclorito.

En total se capturaron 4.000 roedores, representados por 24 especies: *Abrocoma bennetti* Waterhouse, 1837, *Ak. albiventer*, *Akodon andinus* (Philippi, 1858), *Ak. berlepschii*, *Ab. longipilis*, *Ab. olivacea*, *Ab. sanborni*, *Abrothrix xanthorhinus* (Waterhouse, 1837), *Au. boliviensis*, *Chelemys macronyx* (Thomas, 1894), *Loxodontomys micropus*, *Octodon degus* (Molina, 1782), *Octodon lunatus* Osgood, 1943, *Octodontomys gliroides* (Gervais & D'Orbigny, 1844), *O. longicaudatus*, *P. darwini*, *P. xanthopygus*, *P. magister*, *Lagidium viscacia* Molina, 1782, *E. puerulus*, *Geoxus valdivianus* (Philippi, 1858), *Reithrodon physodes* (Olfers, 1818), *R. rattus*, *R. norvegicus* y *M. musculus*.



Figura 2. Uso de respirador de rostro completo y filtros P100 (3M™). Fuente: Elaboración propia.

1.3 Identificación de las especies de ácaros *Ornithonyssus*.

Del total de especies de roedores capturadas, ocho fueron positivas a *Ornithonyssus*: *Ab. longipilis*, *Ab. olivacea*, *Ab. hirta*, *Ab. sanborni*, *Ch. macronyx*, *L. micropus*, *P. darwini* y *R. rattus*, de ellas se recolectó un total de 1.586 *Ornithonyssus* hembras. Del total de ácaros se seleccionaron 221 ejemplares, de los cuales 75 se destinaron para análisis moleculares y 150 para análisis morfométricos y morfológicos. Para estimar las cantidades de ácaros necesarios y representativos para los análisis moleculares y morfométricos se tomaron como referencia los trabajos de Nieri–Bastos et al. (2011) y Gettinger & Owen (2000), respectivamente. Los ácaros recolectados en los roedores a lo largo de Chile fueron contados y clasificados en machos, hembras e inmaduros. Sólo fueron utilizadas las hembras, ya que sólo el 5% de las especies conocidas de macronísidos han sido criadas, por lo que muchos estadíos intermedios o machos se desconocen (Radovsky, 2010), dificultando de este modo su comparación entre especies. Además, las hembras son más frecuentes de encontrar sobre los roedores (4 hembras versus 1 macho) (Silva–de la Fuente, 2014).

Los ácaros fueron procesados en el Laboratorio de Parásitos y Enfermedades en Fauna Silvestre, UdeC, Chillán (36°35'40.68" S – 72°05'01.01"O).

El proceso de identificación de las especies de *Ornithonyssus* contó con tres etapas: **1.** Extracción de ADN y secuenciación para determinar la posición filogenética de las especies presentes en Chile; **2.** Análisis morfológicos y morfométricos de los ácaros *Ornithonyssus* recolectados a lo largo de todo Chile; **3.** Descripción de nuevas especies para el género *Ornithonyssus* asociadas a roedores de Chile. De estas etapas sólo las dos primeras serán abordadas en este capítulo.

1.3.1 Análisis moleculares de las especies *Ornithonyssus*

Para el análisis molecular se trabajó con 75 ácaros (5 por hospedador y localidad). A cada ácaro se le realizó extracción de ADN. Se utilizó la técnica descrita por Roy et al. (2009), quienes describen que la proteinasa K utilizada para disolver tejidos, previo a la extracción de ADN, no afecta la cutícula de los ácaros y todos los

caracteres morfológicos permanecen intactos, facilitando su identificación al ser montados en una preparación.

La extracción de ADN se realizó con el Kit de tejido y sangre DNeasy (Qiagen, Alemania). Para optimizar la extracción de ADN, se realizaron tres ciclos de shock térmicos de la siguiente manera: A cada muestra se le agregó 30 uL de proteinasa K y con agujas estériles (una por muestra) se procede a macerar las muestras, luego son llevadas a -80°C (Sanyo MDF-U54V) por 5 min, para luego ser sometidas a baño seco a $+80^{\circ}\text{C}$ (Aosheng MK2000-1) por 30 min. Como las muestras pasan tres veces por el baño seco, cada vez se vuelven a moler con agujas estériles (una aguja para cada muestra). Luego se continúa con el proceso de extracción descrito por el fabricante, exceptuando que la velocidad de centrifugación se realizó a 15.000 rpm con tiempos de 5 minutos. En el proceso de elución se usó un total de 30uL del buffer AE, con dos eluciones de 15 uL de buffer, seguido de 5 minutos de incubación a temperatura ambiente con centrifugación de 3 minutos a 10.000 rpm.

Para el master mix se utilizó GoTaq® Green Master Mix (Promega) con las siguientes concentraciones: GoTaq Green Master Mix 2x (12, uL), partidor F 10uM (2 uL) (CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT), partidor R 10uM (2 uL) (GCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGT), ADN templado $< 250\text{ng}$ (7 uL) y agua libre de nucleasa 1,5 uL. Se trabajó con el gen 16S ADNr mitocondrial, el cual genera un amplicón de 400 pb, siguiendo el protocolo de termociclado propuestos por Mangold *et al.* (1998), y posteriormente fueron corridos en geles de agarosa al 1%. Se seleccionó un marcador mitocondrial debido a que la tasa de mutaciones es más alta que en marcadores nucleares, siendo estos marcadores mitocondriales muy informativos en Acari a nivel de género y especie, no así a nivel de familia y subfamilia (Klompen *et al.*, 2000; Roy *et al.*, 2008). Adicionalmente, este marcador había sido empleado anteriormente para delimitar especies del género *Ornithonyssus* por Nieri-Bastos *et al.* (2011). La purificación de los productos de PCR se hizo mediante el kit de purificación PureLink® (Invitrogen). Las muestras que amplificaron ADN de *Ornithonyssus* fueron secuenciadas en Austral-omics usando un ABI 3500 (Universidad Austral de Chile). Una vez obtenidas las

secuencias genéticas, fueron editadas y alineadas con 14 secuencias homólogas de seis especies obtenidas desde GenBank en el programa CodonCode© (2003–2007). Luego del alineamiento, se obtuvieron fragmentos de 324 pb del fragmento del gen 16S ADNr mitocondrial de *Ornithonyssus* ssp. de 13 localidades de Chile. Para seleccionar el mejor modelo evolutivo se utilizó el software jModelTest 2 (Darriba *et al.*, 2012). El mejor modelo de sustitución de nucleótidos que se ajustó a los datos, según los criterios de información de Akaike (CIA) y Bayesiano (CIB), fue el modelo evolutivo GTR+I+G. Como grupo externo se utilizó la especie *Dermanyssus gallinae*, debido a que corresponde a un género cercano a *Ornithonyssus*. Dentro de los análisis moleculares sólo se utilizaron secuencias de *Ornithonyssus* disponibles en GenBank: *O. bacoti*, *O. wernecki*, *O. vitzthumi*, *O. brasiliensis*, *O. monteiroi* y *O. pereirai*, depositadas por Nieri–Bastos *et al.* (2011). Las relaciones filogenéticas entre las especies de *Ornithonyssus* se estimaron mediante filogenia de Inferencia Bayesiana (IB), utilizando el software Mr. Bayes 3.2.6. Para el análisis de Inferencia Bayesiana, se ejecutaron dos análisis independientes de 2.000.000 iteraciones de la Cadena de Markov Monte Carlo (CMMC), manteniendo el último árbol cada 1000 generaciones que realiza la cadena de CMMC, evitando seudoréplicas. Del análisis de inferencia Bayesiana se obtuvo un PSRF+ (Factor de reducción de escala potencial) (Gelman *et al.*, 2003) de 1, lo que advierte que no existe un submuestreo, un DS < 0,01 y un PSRF (Gelman op. cit.) de 1, lo que indica que las CMMC convergieron. Además, se quemó el 25% de los valores generados.

Las distancias genéticas de las secuencias de nucleótidos intra e interespecies se calcularon en el programa MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013), mediante el modelo Tamura–Nei con 10.000 bootstrap, considerando transiciones, transversiones y distribución gamma. Con el programa DnaSP v.5 (Librado & Rozas, 2009) se graficó las diferencias de pares de bases existentes entre las secuencias de *Ornithonyssus* de Chile. Con este mismo programa también se calculó la diversidad genética que fue estimada a partir de la riqueza de haplotipos, la diversidad haplotípica (H_d) y la diversidad nucleotídica (π) existentes en las secuencias de *Ornithonyssus* de Chile. Se construyó una red de haplotipos con el

programa Network 5 © Copyright Fluxus Technology.

1.3.2 Morfometría y morfología

Para realizar los análisis morfológicos y morfométricos, por cada hospedador y localidad muestreada fueron preparados 10 ejemplares de *Ornithonyssus* sp. (total 150). Los ácaros destinados para los análisis taxonómicos en microscopía óptica fueron aclarados en hidróxido de potasio (KOH) al 10% por 15 minutos a 75°C en baño seco (Aosheng MK2000–1), este tiempo fue suficiente para que los ácaros se aclararan. Luego del proceso de limpieza, los ácaros fueron trasladados a un nuevo vial con agua destilada, por 24 horas, para eliminar el KOH restante y no formar burbujas al contacto con el medio Berlese. Finalmente fueron montados en portaobjetos individuales en medio Berlese (Krantz & Walter, 2009), para luego ser observados bajo microscopio óptico 400x (Leica DM 1000 LED).

Cuatro *Ornithonyssus* hembras fueron separados por hospedador y localidad, y fotografiados en un microscopio electrónico de barrido (Hitachi, SU3500). Este equipo permite tomar imágenes sin la necesidad de bañar la muestra en oro.

La identificación a nivel de género se realizó utilizando la clave de Radovsky (2010), la cual es la más actual propuesta para el género *Ornithonyssus*. Para la identificación a nivel de especie se utilizaron las descripciones y clave propuesta por Nieri–Bastos *et al.* (2011) para especies de *Ornithonyssus* presentes en Brasil principalmente, las que incluyen a *O. bacoti*. Para evaluar las variaciones morfométricas de los ácaros *Ornithonyssus* previamente montados, se seleccionaron 40 caracteres taxonómicos (Figuras 3–5 y Tabla 2), utilizados habitualmente en las claves y descripciones del género *Ornithonyssus*. Para evaluar los caracteres morfológicos, también fueron considerados caracteres usados habitualmente por los especialistas, los que corresponden a presencia o ausencia de microseta entre las setas Z4 y Z5, presencia o ausencia de setas j3 y J5, prolongación del proceso anterior de la placa epiginal, forma de setas coxales I, II, III y IV, presencia o ausencia de crestas en las coxas, presencia o ausencia de proceso anterior en trocanter del palpo. Sumado a los caracteres anteriores, se evaluó la forma del epistome, un carácter que si bien ha sido utilizado

anteriormente para describir especies, ha quedado relegado en algunos géneros, como el género *Ornithonyssus*. Todos los caracteres fueron medidos bajo microscopio óptico (Leica DM 1000 LED) con un micrométrico (0,01mm) y aumento 400x. Todas las medidas fueron expresadas en μm .

Tabla 3. Estructuras anatómicas utilizadas en el estudio morfológico y morfométrico de *Ornithonyssus* presentes en roedores de Chile.

Número	Caracteres	Abreviación	Abreviación inglés
1	Largo de placa dorsal	LPD	dr.sh.
2	Ancho de placa dorsal altura seta J1	APD J1	dr.sh.
3	Ancho de placa dorsal altura seta S5	APD S5	dr.sh.
4	Ancho de placa dorsal (parte más ancha)	APD	–
5	Largo seta j1	j1	j1
6	Largo seta z5	z5	z5
7	Largo seta J1	J1	J1
8	Largo seta Z4	Z4	Z4
9	Largo seta Z5	Z5	Z5
10	Largo microseta placa dorsal entre setas Z4 y S5	MPD	–
11	Largo peritrema	L. Per.	per.
12	Ancho peritrema	A. Per.	per.
13	Largo seta palpocoxal	Lpcx	pcx
14	Largo seta hipostomática externa	Lh2	hyp.s
15	Largo seta hipostomática interna	Lh3	hyp.s
16	Ancho de placa esternal	APE	st.sh
17	Largo de placa esternal	LPE	st.sh
18	Distancia entre setas st1	st1–st1	st1–st1
19	Largo de seta st1	Lst1	st1
20	Distancia entre setas st2	st2–st2	st2–st2

Continuación tabla 3.

Número	Caracteres	Abreviación	Abreviación inglés
21	Largo de seta st2	Lst2	st2
22	Distancia entre setas st3	st3–st3	st3–st3
23	Largo de seta st3	Lst3	st3
24	Ancho de placa genital	APG	gen.sh
25	Largo de placa genital	LPG	gen.sh
26	Ancho de placa anal	APA	an.sh
27	Largo de placa anal	LPA	an.sh
28	Largo seta adanal	ad	ad
29	Largo seta postanal	pa	pa
30	Largo cribum	Lcr	cr
31	Largo seta coxa I	Lscox I	–
32	Largo seta coxa II	Lscox II	–
33	Largo seta coxa III	Lscox III	–
34	Largo seta coxa IV	Lscox IV	–
35	Largo espina coxa II	LECOx II	–
36	Ancho espina coxa II	AECOx II	–
37	Largo pata I	LP I	–
38	Largo pata II	LP II	–
39	Largo pata III	LP III	–
40	Largo pata IV	LP IV	–

Fuente: Elaboración propia.

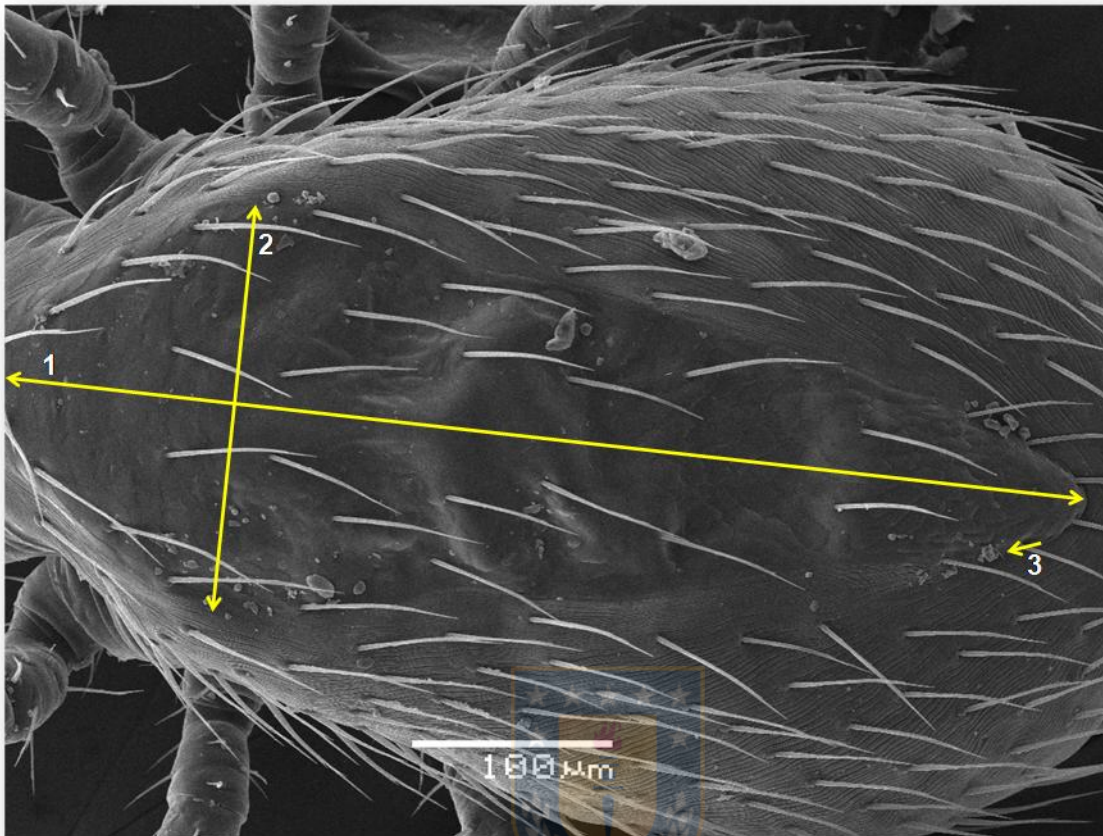


Figura 3. Vista dorsal con microscopio electrónico de barrido de *Ornithonyssus*. 1. Largo de placa dorsal; 2. Ancho de placa dorsal; 3. Largo microseta entre Z4. Fuente: Elaboración propia.

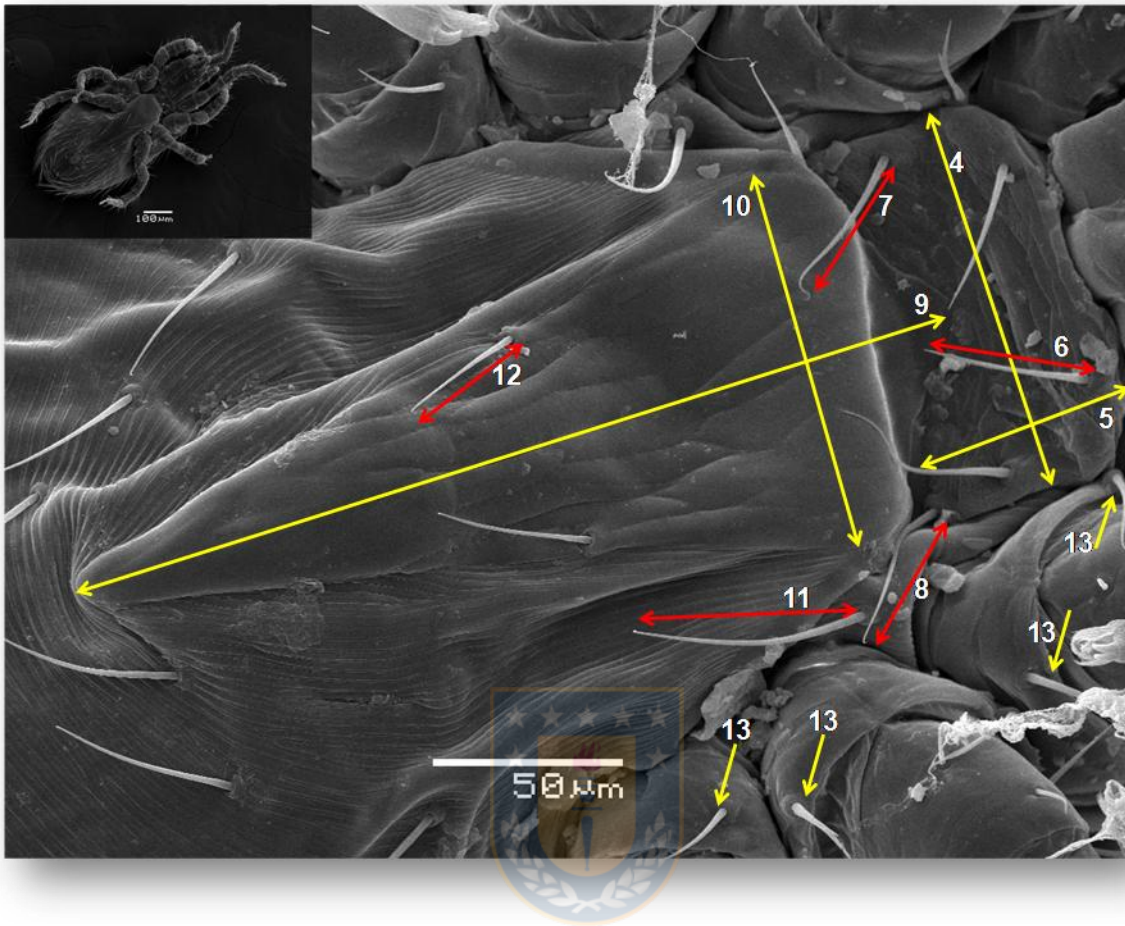


Figura 4. Vista ventral de *Ornithonyssus* fotografiada con microscopio electrónico de barrido. 4. Ancho placa esternal; 5. Largo placa esternal; 6. Largo primera seta esternal; 7. Largo segunda seta esternal; 8. Largo tercera seta esternal; 9. Largo placa genital; 10. Ancho placa genital; 11. Largo seta metaesternal; 12. Largo seta genital; 13. Largo y forma de la seta coxal I, II, III y IV. Fuente: Elaboración propia.

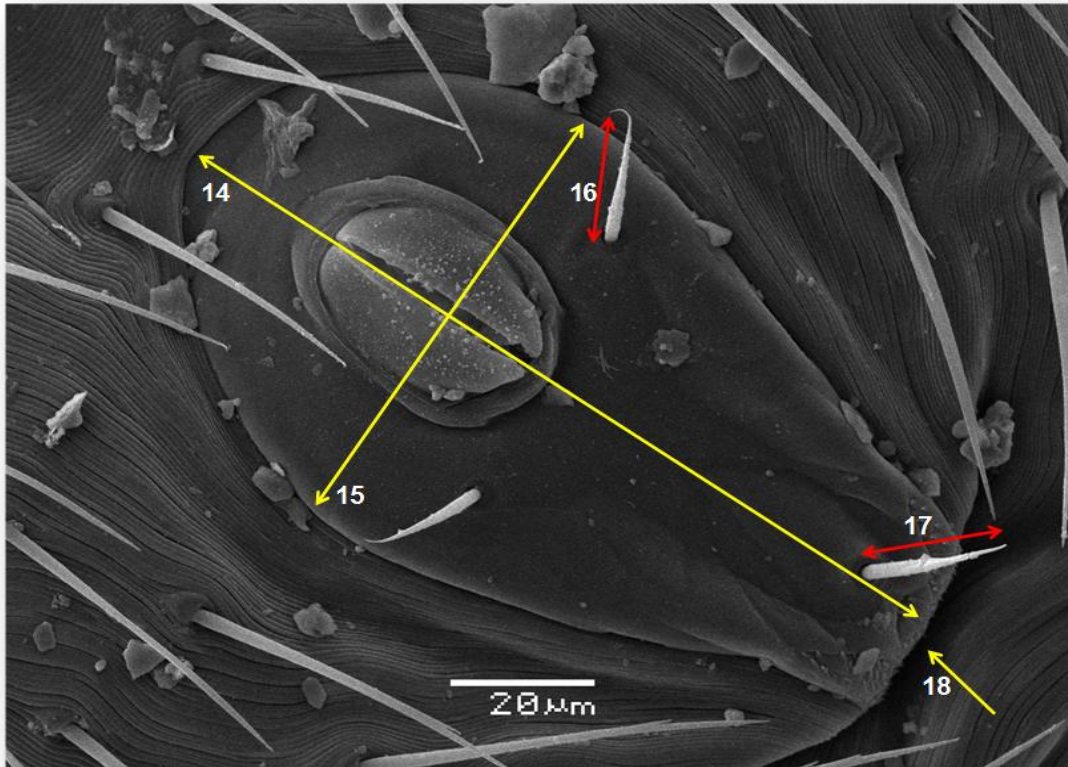


Figura 5. Vista ventral en microscopía electrónica de barrido de placa anal de *Ornithonyssus*. 14. Largo placa anal; 15. Ancho placa anal; 16. Largo seta adanal; 17. Largo seta postanal; 18. Forma del cribum. Fuente: Elaboración propia.

1.3.3. Análisis estadístico

Se determinaron los parámetros de ecología parasitaria siguiendo a Bush *et al.* (1997) y Rozsa *et al.* (2000). La prevalencia [$P = (\text{n}^\circ \text{ de hospedadores infestados} / \text{n}^\circ \text{ de hospedadores prospectados}) \times 100$], intensidad media (I.M. = $\text{n}^\circ \text{ de parásitos de una especie determinada} / \text{n}^\circ \text{ de hospedadores infestados con esa especie}$) y abundancia media (A.M. = $\text{número de parásitos} / \text{n}^\circ \text{ de hospedadores prospectados}$). Todos estos parámetros fueron calculados con intervalos de confianza (95%) y 2.000 permutaciones. Además de los índices de agregación (I.A. = $\text{relación entre la varianza} / \text{abundancia media}$), índice de discrepancia de Paulin (I.D.) y binomial negativa (K) (Tabla 4), los que evalúan cómo se distribuyen los parásitos en la población de hospedadores. Para determinar estos parámetros fue utilizado el programa Quantitative Parasitology 3.0 (Rozsa *et al.*, 2000). A través de estos análisis se puede conocer la cantidad y distribución de los parásitos en sus hospedadores.

Se utilizó la prueba de normalidad Shapiro – Wilks ($p > 0,05$), para determinar si las variables se ajustan o no a una distribución normal. Se realizó un análisis no paramétrico (Kruskal Wallis), para evaluar las diferencias estadísticas entre los caracteres taxonómicos elegidos, utilizando el programa InfoStat (2014). Se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando $p \leq 0,05$. Se evaluó la similitud del carácter largo del peritrema (L. Per.) entre las tres especies de *Ornithonyssus* del presente estudio mediante el análisis de similitud ANOSIM, utilizando el índice de similitud de Bray–Curtis (Knee *et al.*, 2012a,b). Estos análisis fueron realizados en el programa PAST 3.22. ANOSIM es una prueba no paramétrica que evalúa si existen diferencias significativas entre dos o más grupos, en función de cualquier medida (Clarke, 1993). Los valores de p fueron corregidos mediante Bonferroni secuencial. Se realizó un Análisis de Componentes Principales en el programa PAST 3.22 para tratar de reducir el número de variables morfométricas perdiendo la menor cantidad de información posible y evaluar cuáles son los caracteres que contribuirán más en la variabilidad en cada componente principal. Se realizó un Análisis Discriminante (AD) en el programa PAST 3.22 para evaluar si existen diferencias significativas entre las "especies" de *Ornithonyssus*, localidades y hospedadores. PAST utiliza la distancia mínima de Mahalanobis a la media del grupo. Esta distancia se calcula a partir de la matriz de covarianza agrupada dentro del grupo, lo que da una clasificación discriminante lineal. Además, proporciona una matriz de clasificación corregida mediante Jackknife (técnica de muestreo especialmente útil para la varianza y el sesgo de estimación, ayudando a validar los grupos de clasificación). Adicionalmente, se llevó a cabo la prueba de Mantel en el programa PAST 3.22 con 9.999 permutaciones. Esta prueba se utiliza para calcular la correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson's) entre dos matrices de proximidad y en este caso se utilizó para evaluar si existe una correlación entre las distancias genéticas de las especies de *Ornithonyssus* sp. 2 y sp. 3 de Chile y las localidades (km) involucradas en su distribución.

Tabla 4. Significancia de los índices de agregación (I.A.), índice de discrepancia de Paulin (I.D) y binomial negativo (K) de la distribución de los parásitos.

Índice de agregación	Acrónimo	Distribución		
		Uniforme	Agregada	Aleatoria
Índice de dispersión	ID	< 1	> 1	1
Índice de Discrepancia de Poulin	D	0	1	± 0,5
Binomial Negativa	K	> 8	< 2	2 a 8

V. RESULTADOS

PARÁMETROS DE ECOLOGÍA PARASITARIA.

Se analizó un total de 4.000 roedores, de los cuales 1.343 roedores presentaban ácaros *Ornithonyssus* en algún estadio, de ellos 248 (18,46%) roedores resultaron positivos a ejemplares hembras de *Ornithonyssus* spp. Ocho de 24 especies de roedores fueron positivas a *Ornithonyssus* en distintos estadios de desarrollo, totalizando 1586 ácaros. Las mayores prevalencias de ácaros están presentes en las especies de roedores *A. sanborni* (35,7%), *A. longipilis* (33,3%), *A. olivacea* (26,8%), *A. hirta* (26,2%) y *L. micropus* (22,2%). Del mismo modo estos hospedadores son los que presenten las mayores intensidades y abundancias medias. Cabe destacar que si bien la cantidad de *Ch. macronyx* prospectada en este estudio es baja, concentra las mayores prevalencias e intensidad y abundancia media de *Ornithonyssus* (57,1%; 53,8 y 30,7 respectivamente). Todos los índices de agregación (I.D., D y K) sugieren que los *Ornithonyssus* presentan una agregación parasitaria sobre sus hospedadores (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros de ecología parasitaria para *Ornithonyssus* en diferentes hospedadores de Chile.

Hospedador	N° de hosp. analizados	N° hosp. infectados	Prevalencia (%) (I.C.)	Intensidad Media (I.C.)	Abundancia Media (I.C.)	Índice de Agregación	Índice de Discrepancia	Binomial negativo
<i>A. hirta</i>	325	85	26,2 (0,215-0,312)	5,81 (4,16-9,14)	1,52 (1,05-2,51)	24,46	0,9	0,1
<i>A. longipilis</i>	42	14	33,3 (0,199-0,488)	2,36 (1,5 -3,79)	0,8 (0,405-1,45)	3,45	0,8	0,3
<i>A. olivacea</i>	246	66	26,8 (0,215-0,327)	6,3 (4,3-10,5)	1,7 (1,12-2,96)	25,43	0,9	0,1
<i>A. sanborni</i>	28	10	35,7 (0,193-0,554)	12,0 (3,9-35)	4,3 (1,14-15,5)	49,7	0,9	0,1
<i>L. micropus</i>	72	16	22,2 (0,137-0,333)	11,88 (5,62-29,1)	2,64 (1,04-7,44)	41,0	0,9	0,06
<i>Ch. macronyx</i>	7	4	57,1 (0,225-0,871)	53,8 (10,8-92,4)	30,7 (5,86-67,4)	61,4	0,6	NA
<i>P. darwini</i>	556	52	9,4 (0,072-0,121)	1,9 (1,6-2,27)	0,1 (0,126-0,243)	2,52	0,9	0,09
<i>R. rattus</i>	67	1	1,5 (0,001-0,080)	20,0	0,3 (0-0,896)	20,0	0,9	NA

NA: No aplica ya que son muy pocos datos. Fuente: Elaboración propia.

Según la zona geográfica de Chile, diferentes especies actúan como principales reservorios de *Ornithonyssus*. De este modo en la zona norte, *P. darwini* es el roedor más abundante, en la zona centro *A. hirta* y *A. olivacea* son los más representativos y en la zona sur es *A. olivacea*. Sin embargo, en el área sur existe alta abundancia de *Ornithonyssus* en *A. sanborni*, *L. micropus* y *Ch. macronyx*, independiente a su baja abundancia en las capturas (Tabla 6).



Tabla 6. Abundancias de *Ornithonyssus* según hospedadores por localidades y zonas geográficas de Chile.

Zona	Localidad	Hospedador	Cantidad	Positivos a <i>Ornithonyssus</i> (prevalencia)	Abundancia de <i>Ornithonyssus</i>	Abundancia total <i>Ornithonyssus</i> por hospedador
Norte	Valle de Lluta	<i>R. rattus</i>	5	1 (20%)	20	20
	P. N. Pan de Azúcar	<i>P. darwini</i>	114	13 (11,4%)	25	97
	P. N. Ll. de Challe		203	20 (9,9%)	37	
	R. N. Las Chinchillas		95	4 (4,2%)	4	
	P. N. Bosque Fray Jorge		103	15 (14,6%)	31	
	P. N. Ll. de Challe	<i>A. olivacea</i>	13	0 (0%)	0	16
	P. N. Bosque Fray Jorge		55	11 (20%)	16	
	P. N. Ll. de Challe	<i>A. longipilis</i>	9	1(11,1%)	3	33
P. N. Bosque Fray Jorge	33		13 (39,4%)	30		
Centro	R. N. Altos de Lircay	<i>A. hirta</i>	85	30 (25,3%)	383	475
	La Mina		4	0 (0%)	0	
	Cobquecura		4	4 (100%)	20	
	R. N. Nonguén		20	8 (40%)	9	
	R. N. Isla Mocha		160	33 (20,6%)	63	
	R. N. Altos de Lircay	<i>A. olivacea</i>	15	2 (13,3%)	2	242
	La Mina		46	26 (56,5%)	198	
	Cobquecura		2	2 (100%)	35	
	R. N. Nonguén		6	1 (16,7%)	1	
	R. N. Isla Mocha		25	2 (8%)	6	
	R. N. Altos de Lircay	<i>L. micropus</i>	36	0 (0%)	0	0
	R. N. Altos de Lircay	<i>P. darwini</i>	2	0(0%)	0	1
	La Mina		38	0 (0%)	0	
Cobquecura	1		1	1		

Continuación tabla 6.

Zona	Localidad	Hospedador	Cantidad	Positivos a <i>Ornithonyssus</i> (prevalencia)	Abundancia de <i>Ornithonyssus</i>	Abundancia total <i>Ornithonyssus</i> por hospedador
Centro	R. N. Altos de Lircay	<i>R. rattus</i>	7	0 (0%)	0	0
	La Mina		2	0 (0%)	0	
	R. N. Nonguén		3	0 (0%)	0	
	R. N. Isla Mocha		16	0 (0%)	0	
Sur	P. N. Puyehue	<i>A. hirta</i>	24	0 (0%)	0	19
	P. N. Chiloé		4	3 (75%)	5	
	R. N. Cerro Castillo		12	3 (25%)	4	
	Parque Patagonia		12	4 (33,3%)	10	
	P. N. Puyehue	<i>A. olivacea</i>	7	0 (0%)	0	158
	P. N. Chiloé		136	19 (14%)	152	
	R. N. Cerro Castillo		8	2 (25%)	5	
	Parque Patagonia		1	1 (100%)	1	
	P. N. Chiloé	<i>A. sanborni</i>	28	10 (35,7%)	120	120
	P. N. Chiloé	<i>L. micropus</i>	1	0 (0%)	0	190
	R. N. Cerro Castillo		8	0 (0%)	0	
	Parque Patagonia		27	16 (59,3%)	190	
	P. N. Puyehue	<i>R. rattus</i>	1	0 (0%)	0	0
	R. N. Cerro Castillo	<i>Ch. macronyx</i>	7	4 (57,1%)	215	215

Fuente: Elaboración propia.

1.- Variaciones genéticas de *Ornithonyssus* sp. en Chile.

De los 75 ejemplares de *Ornithonyssus* analizados, 34 amplificaron para el gen 16S ADNr mitocondrial (Tabla 7).

Tabla 7. Localidades, hospedadores y número de ácaros analizados. Entre paréntesis se indica el número de muestras que amplificaron para el gen 16S ADNr mitocondrial de *Ornithonyssus*.

Localidad	Hospedador	Nº muestras (+)
Valle de Lluta	<i>R. rattus</i>	5 (1)
P. N. Llanos de Challe	<i>P. darwini</i> Morfo 1	5 (1)
P. N. Llanos de Challe	<i>P. darwini</i> Morfo 2	5 (5)
P. N. Bosque Fray Jorge	<i>P. darwini</i>	5 (2)
P. N. Bosque Fray Jorge	<i>A. olivacea</i>	5 (2)
P. N. Bosque Fray Jorge	<i>A. longipilis</i>	5 (2)
R. N. Altos de Lircay	<i>L. micropus</i>	5 (2)
La Mina	<i>A. olivacea</i>	5 (2)
Cobquecura	<i>A. olivacea</i>	5 (4)
R. N. Nonguén	<i>A. hirta</i>	5 (4)
R. N. Isla Mocha	<i>A. hirta</i>	5 (4)
P. N. Puyehue	<i>A. sanborni</i>	5 (0)
P. N. Chiloé	<i>A. olivacea</i>	5 (2)
R. N. Cerro Castillo	<i>Ch. macronyx</i>	5 (2)
Parque Patagonia	<i>L. micropus</i>	5 (1)

Fuente: Elaboración propia.

La reconstrucción filogenética Bayesiana muestra que las especies analizadas de *Ornithonyssus* de Sudamérica corresponde a un grupo monofilético (Figura 6). De las muestras obtenidas en Chile, se observan tres clados monofiléticos bien constituidos: *Ornithonyssus* sp. aff. *bacoti* en el norte de Chile, que reúne individuos del Valle de Lluta y P. N. Llanos de Challe. *Ornithonyssus* sp. 2 con una amplia distribución, iniciando su presencia desde P. N. Llanos de Challe hasta Parque Patagonia: *Ornithonyssus* sp. 3, presente en áreas costeras de las regiones de Ñuble y Biobío. Cabe destacar que tanto *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3 forman clados independientes, mientras que *Ornithonyssus* sp. aff. *bacoti* comparte ancestros en común con *O. bacoti* sensu stricto (s.s) (Figura 21).

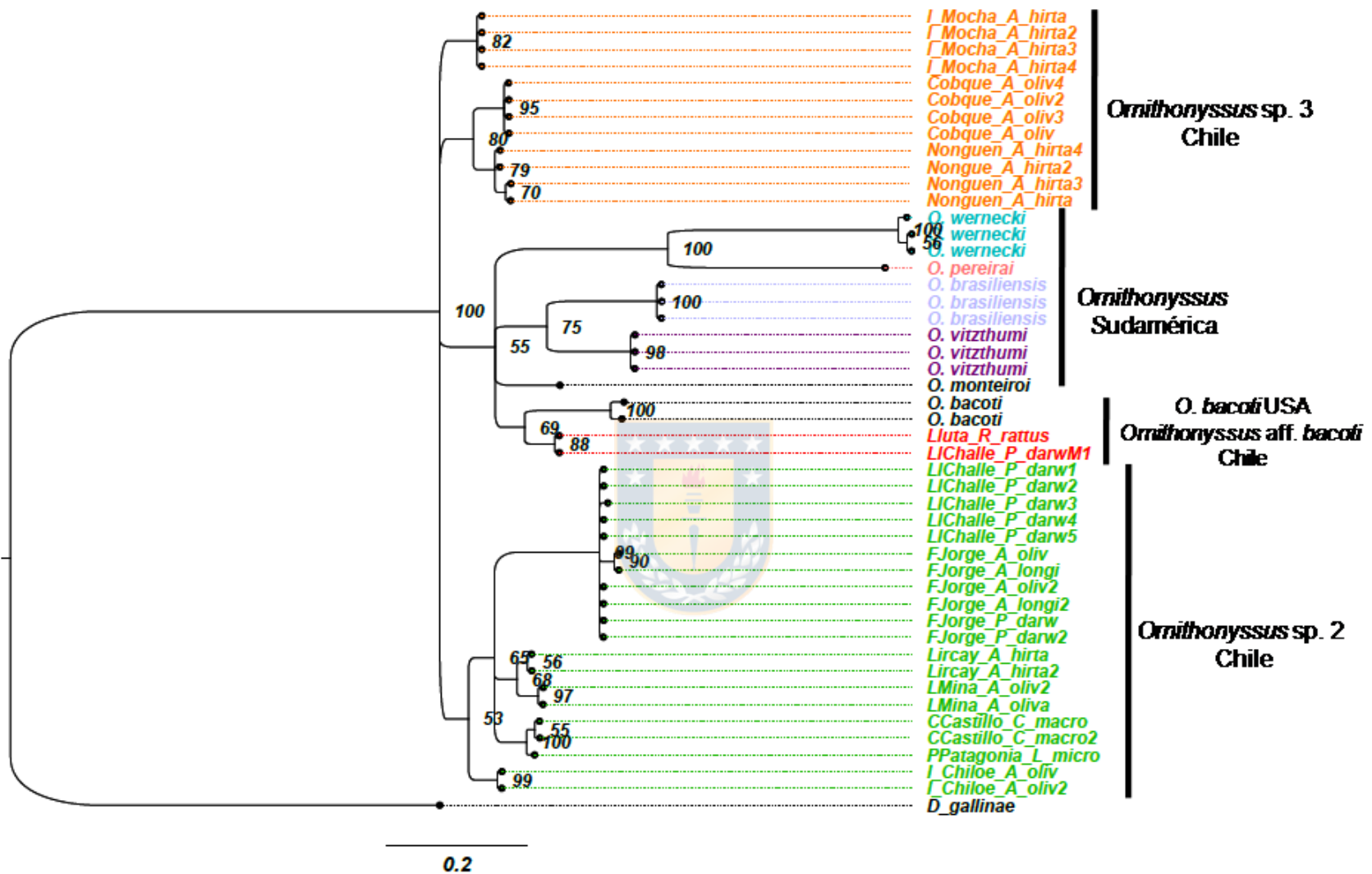


Figura 6. Reconstrucción filogenética Bayesiana de las especies Sudamericanas pertenecientes al género *Ornithonyssus* ectoparásitos de roedores. Grupo externo *Dermanyssus gallinae*. Valores de soporte son entregados en cada nodo. Fuente: Elaboración propia.

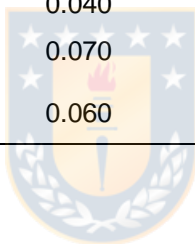
La menor distancia genética entre las especies presentes en Chile se obtiene entre *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 3 con un 5,2%, mientras que la mayor distancia se observa entre *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 2 con un 5,3% (Tabla 8). Cuando se analizan las especies de Chile junto a las otras especies de *Ornithonyssus*, se obtiene que las menores distancias genéticas corresponden a las existentes entre *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, en relación a *O. bacoti* s.s. y *O. monteiroi*, con un 4%. Mientras que la menor distancia genética corresponde a la de *O. bacoti* s.s y *O. monteiroi* con un 5,2%. Cabe destacar que *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3 presentan una distancia genética de 8,4 y 7,2% con *O. bacoti* s.s, respectivamente. En cuanto a la distancia genética intraespecie, existe una variación de 0,2% para *O. wernecki*; 0,7% dentro de *O. bacoti* s.s.; 2,8% dentro de *Ornithonyssus* sp. 2 y 2,1% dentro de *Ornithonyssus* sp. 3. Mientras que las especies *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, *O. brasiliensis* y *O. vitzthumi* no presentan variación intraespecífica (0%).



Tabla 8. Matriz de distancias genéticas entre las especies de *Ornithonyssus*. Valores en azul corresponden a las desviaciones estándar.

Matriz de distancias entre especies de <i>Ornithonyssus</i>										
	<i>D. gallinae</i>	<i>O. wernecki</i>	<i>O. pereirai</i>	<i>O. brasiliensis</i>	<i>O. monteiroi</i>	<i>O. vitzthumi</i>	<i>O. bacoti</i> s.s.	<i>O. aff. bacoti</i>	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	<i>Ornithonyssus</i> sp. 3
<i>D. gallinae</i>		0.038	0.037	0.035	0.037	0.034	0.036	0.035	0.034	0.035
<i>O. wernecki</i>	0.262		0.022	0.025	0.025	0.024	0.025	0.024	0.025	0.024
<i>O. pereirai</i>	0.259	0.123		0.025	0.023	0.025	0.022	0.024	0.023	0.023
<i>O. brasiliensis</i>	0.243	0.145	0.141		0.016	0.016	0.017	0.014	0.015	0.014
<i>O. monteiroi</i>	0.249	0.139	0.119	0.066		0.018	0.015	0.012	0.015	0.014
<i>O. vitzthumi</i>	0.232	0.126	0.142	0.071	0.083		0.017	0.015	0.017	0.016
<i>O. bacoti</i> s.s.	0.239	0.140	0.119	0.078	0.052	0.076		0.012	0.016	0.016
sp. aff. <i>bacoti</i>	0.228	0.131	0.124	0.058	0.040	0.063	0.040		0.012	0.012
<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	0.239	0.149	0.140	0.074	0.070	0.085	0.084	0.053		0.011
<i>Ornithonyssus</i> sp. 3	0.240	0.135	0.131	0.063	0.060	0.070	0.072	0.052	0.052	

Fuente: Elaboración propia.



En los gráficos de crecimiento poblacional (Figura 7) se puede observar que las poblaciones de *Ornithonyssus* a lo largo de Chile podrían estar en expansión. De este análisis se obtuvo una diversidad de nucleótidos de P_i : 0,04 con un número promedio de diferencia de pares de bases en el total de secuencias de k : 11,6.

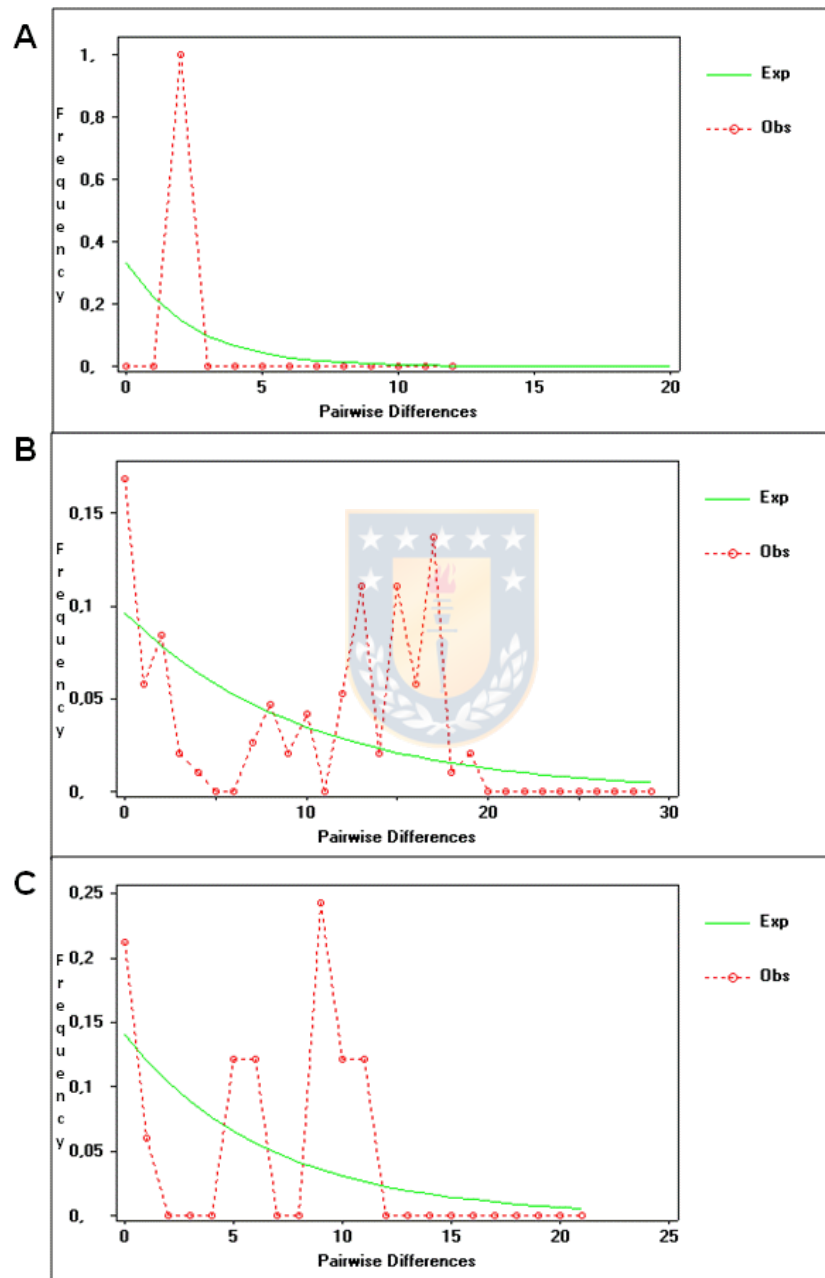


Figura 7. Diferencias en pares de bases de las secuencias de A. *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, B. *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3 de Chile. Fuente: Elaboración propia.

Los ácaros del género *Ornithonyssus* de Chile están representados por 10 haplotipos con una diversidad de Hp: 0,92. En la figura 8, se puede observar que *Ornithonyssus* aff. *bacoti* está conformado por el haplotipo 7, *Ornithonyssus* sp. 2 por los haplotipos 10 al 14 y *Ornithonyssus* sp. 3, reúne desde los haplotipos 15 al 18. Cabe destacar la presencia de dos haplotipos muy diferentes en la localidad de P. N. Llanos de Challe, uno es el H7 que corresponde a una población de la especie *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y el H10 que corresponde a la población de *Ornithonyssus* sp. 2 presente en esta localidad, esto confirma que esta localidad es una zona de transición de ambas especies. Se observa también que *Ornithonyssus* aff. *bacoti* presenta una relación más estrecha con *O. bacoti* s.s. y *O. monteiroi*, relación que ya se había establecido en la distancia genética anteriormente presentada.



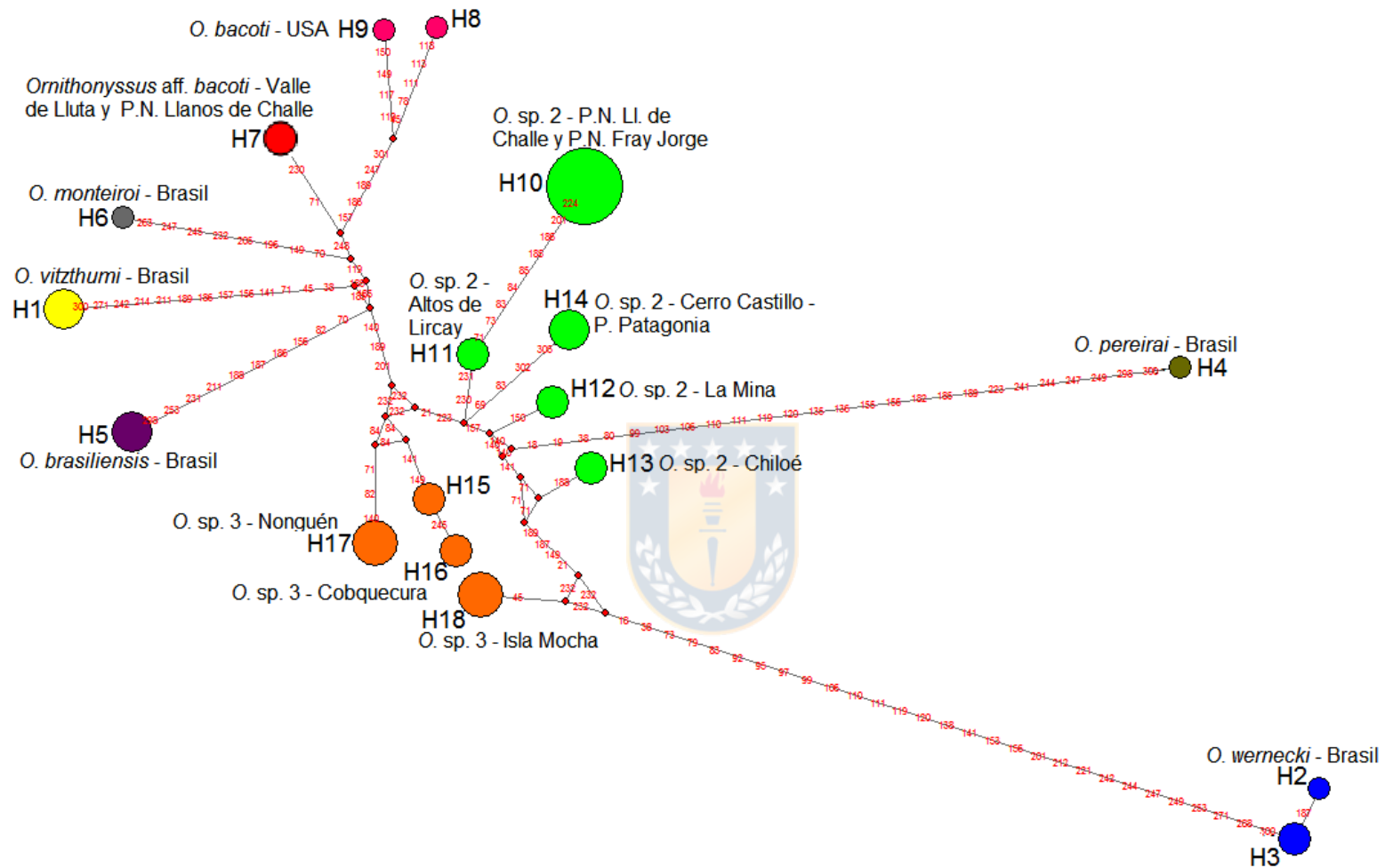


Figura 8. Red de haplotipos de las secuencias obtenidas para *Ornithonyssus*. Rojo: *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Verde: *Ornithonyssus* sp. 2 (*Ornithonyssus* sp. 2). Anaranjado: *Ornithonyssus* sp. 3 (*Ornithonyssus* sp. 3). Amarillo: *O. vitzthumi*. Azul: *O. wernecki*, Verde oscuro: *O. pereirai*. Morado: *O. brasiliensis*. Gris: *O. monteiroi*. Fucsia: *O. bacoti*.

2.– Variaciones morfométricas y morfológicas de *Ornithonyssus* en Chile.

De las 40 caracteres taxonómicos evaluados en *Ornithonyssus*, 32 (80%) se diferenciaron estadísticamente, permitiendo establecer diferencias entre las tres especies de *Ornithonyssus* presentes en Chile. De estos caracteres, 14 son informativas para diferenciar la especie aff. *bacoti* de las especies 2 y 3, seis son útiles para establecer diferencias morfométricas entre la especie 3 de las especies aff. *bacoti* y 2, mientras que 12 permiten diferenciar las tres especies de *Ornithonyssus* presentes a lo largo de Chile (Tabla 9).



Tabla 9. Medidas anatómicas que presentan diferencias estadísticamente significativas entre las especies de *Ornithonyssus* presentes en Chile. Asteriscos señalan diferencias significativas entre especies. Detalle en pie de tabla.

Carácter	Esp.	Media (±D.E)	p	Carácter	Esp.	Media (±D.E)	p
	aff. <i>bacoti</i>	39,05 (2,43)			aff. <i>bacoti</i>	42,68 (4,8)	
	Sp. 2	72,65 (3,46)			Sp. 2	64,6 (7,24)	
Lpcx **	Sp. 3	73 (1,99)	0,0011	Lst3 *	Sp. 3	96,17 (5,34)	<0,0001
	aff. <i>bacoti</i>	48,32 (2,11)			aff. <i>bacoti</i>	38,75 (14)	
	Sp. 2	69,5 (3,88)			Sp. 2	65,8 (32,81)	
Lh2 **	Sp. 3	76,17 (2,68)	0,0363	LPG *	Sp. 3	83,72 (13,21)	0,0006
	aff. <i>bacoti</i>	40,32 (3,6)			aff. <i>bacoti</i>	38,44 (9,09)	
	Sp. 2	64,4 (8,98)			Sp. 2	72,72 (11,85)	
Lh3 *	Sp. 3	98,25 (6,76)	<0,0001	APG **	Sp. 3	69,88 (11,5)	0,0024
	aff. <i>bacoti</i>	25,13 (11,94)			aff. <i>bacoti</i>	24,28 (7,87)	
	Sp. 2	64,41 (21,18)			Sp. 2	72,63 (16,98)	
APD J1 *	Sp. 3	107,83 (7,6)	<0,0001	LPA **	Sp. 3	78,93 (11,66)	<0,0001
	aff. <i>bacoti</i>	15,58 (6,4)			aff. <i>bacoti</i>	44,67 (2,91)	
APD S5	Sp. 2	74,82 (6,77)			Sp. 2	68,5 (10,55)	
**	Sp. 3	83,7 (2,98)	<0,0001	APA **	Sp. 3	76,7 (4,1)	0,0175
	aff. <i>bacoti</i>	28,18 (53,45)			aff. <i>bacoti</i>	51,18 (5,67)	
	Sp. 2	70,85 (91,36)			Sp. 2	60,42 (7,39)	
LPD **	Sp. 3	85,05 (48,19)	<0,0001	pa***	Sp. 3	102,9 (5,10)	<0,0001
	aff. <i>bacoti</i>	42,84 (2,87)			aff. <i>bacoti</i>	24,45 (62,18)	
	Sp. 2	68,20 (2,81)			Sp. 2	66,09 (71,20)	
j1 *	Sp. 3	85,63 (2,39)	0,0002	LP I *	Sp. 3	98,75 (27,89)	<0,0001
	aff. <i>bacoti</i>	59,34 (36,19)			aff. <i>bacoti</i>	22,05 (47,17)	
	Sp. 2	57,55 (8,24)			Sp. 2	71,56 (52,37)	
		106,05					
z5 ***	Sp. 3	(25,49)	<0,0001	LP II **	Sp. 3	87,41 (27,81)	0,0011

*Medidas estadísticamente significativas que diferencian las tres especies de *Ornithonyssus* de Chile.**

Medidas estadísticamente significativas que diferencian la especie aff. *bacoti* de sp. 2 y sp. 3.*** Medidas estadísticamente significativas que diferencian la especie sp. 3 de aff. *bacoti* y sp. 2. Caracteres: Lpcx, Largo seta palpocoxal; Lh2, Largo seta hipostomática externa; Lh3, Largo seta hipostomática interna; APD J1, Ancho de placa dorsal altura seta J1; APD S5, Ancho de placa dorsal altura seta S5; j1, Largo seta j1; z5, Largo seta z5; Lst3, Largo de seta st3; LPG, Largo de placa genital; APG, Ancho de placa genital; LPA, Largo de placa anal; APA, Ancho de placa anal; pa, Largo seta postanal; L PI, Largo pata I y L PII, Largo pata II.

Continuación tabla 9.

Carácter	Esp.	Media (±D.E)	p	Carácter	Esp.	Media (±D.E)	p
J1 ***	aff. <i>bacoti</i>	47,16 (8,75)	<0,0001	LP III **	aff. <i>bacoti</i>	34,08 (69,9)	0,0011
	Sp. 2	60,67 (8,73)			Sp. 2	77,84 (53,06)	
	Sp. 3	104,72 (23,79)			Sp. 3	63,22 (24,84)	
Z4 ***	aff. <i>bacoti</i>	67,16 (3,39)	<0,0001	LscoxIV***	aff. <i>bacoti</i>	59,94 (2,96)	0,0211
	Sp. 2	53,52 (7,93)			Sp. 2	63,89 (4,09)	
	Sp. 3	106 (6,28)			Sp. 3	84,75 (2,44)	
Z5 *	aff. <i>bacoti</i>	72,28 (2,34)	<0,0001	LECOxII **	aff. <i>bacoti</i>	23,55 (1,89)	<0,0001
	Sp. 2	51,37 (10,12)			Sp. 2	77,57 (2,88)	
	Sp. 3	109,52 (3,13)			Sp. 3	70,67 (18,51)	
L.Per. *	aff. <i>bacoti</i>	32,95 (20,7)	<0,0001	LP IV *	aff. <i>bacoti</i>	31,83 (36,1)	<0,0001
	Sp. 2	60,05 (41,75)			Sp. 2	80,97 (82,14)	
	Sp. 3	115,53 (14,21)			Sp. 3	55,57 (30,73)	
A.Per. ***	aff. <i>bacoti</i>	61,29 (11,36)	0,0098	LscoxI *	aff. <i>bacoti</i>	37,29 (7)	<0,0001
	Sp. 2	63,74 (1,01)			Sp. 2	68,09 (7,74)	
	Sp. 3	86,87 (1,75)			Sp. 3	89,45 (6,46)	
APE **	aff. <i>bacoti</i>	46,16 (6,37)	0,0267	LscoxII *	aff. <i>bacoti</i>	21,87 (2,88)	<0,0001
	Sp. 2	71,52 (11,99)			Sp. 2	68,39 (6,32)	
	Sp. 3	73,9 (9,82)			Sp. 3	98,35 (4,35)	
st1-st1 *	aff. <i>bacoti</i>	35,72 (3,77)	<0,0001	LscoxIII **	aff. <i>bacoti</i>	28,29 (3,84)	<0,0001
	Sp. 2	67,64 (8,23)			Sp. 2	74,22 (4,02)	
	Sp. 3	88,4 (4,99)			Sp. 3	77,37 (2,96)	
st2-st2 **	aff. <i>bacoti</i>	40,58 (3,13)	0,0005	APD **	aff. <i>bacoti</i>	26,92 (11,98)	<0,0001
	Sp. 2	68,87 (12,32)			Sp. 2	70,65 (34,87)	
	Sp. 3	85,10 (6,67)			Sp. 3	86,42 (18,16)	

*Medidas estadísticamente significativas que diferencian las tres especies de *Ornithonyssus* de Chile.** Medidas estadísticamente significativas que diferencian la especie aff. *bacoti* de sp. 2 y sp. 3.*** Medidas estadísticamente significativas que diferencian la especie sp. 3 de aff. *bacoti* y sp. 2.

Caracteres: Lpcx, Largo seta palpcoxal; Lh2, Largo seta hipostomática externa; Lh3, Largo seta hipostomática interna; APD J1, Ancho de placa dorsal altura seta J1; APD S5, Ancho de placa dorsal altura seta S5; j1, Largo seta j1; z5, Largo seta z5; Lst3, Largo de seta st3; LPG, Largo de placa genital; APG, Ancho de placa genital; LPA, Largo de placa anal; APA, Ancho de placa anal; pa, Largo seta postanal; L PI, Largo pata I y L PII, Largo pata II.

Fuente: Elaboración propia.

Se observó diferencia significativa en el largo del peritrema para las tres especies de *Ornithonyssus* (Tabla 10).

Tabla 10. Matriz de similitud obtenida desde el ANOSIM de las especies de *Ornithonyssus* spp. de Chile con respecto a la variable largo del peritrema.

Matriz de similitud entre especies (ANOSIM). L. Per.			
ESPECIES	<i>Ornithonyssus</i> sp. 3	<i>Ornithonyssus</i> aff. <i>bacoti</i>	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2
<i>Ornithonyssus</i> sp. 3	—————	0,0001*	0,0001*
<i>Ornithonyssus</i> aff. <i>bacoti</i>	0,0001*	—————	0,0123*
<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	0,0001*	0,0123*	—————

Fuente: Elaboración propia.

Se utilizaron los primeros cuatro componentes principales, los que contribuyen en su totalidad el 94,4% de la variabilidad de los caracteres (Figura 9). En el ACP, el CP1 explica el 54,8% de la variación total, siendo los caracteres LP IV, LPD, LPI los que mayor contribución de variación de la diferenciación de *Ornithonyssus* spp (Tabla 11). En las figuras 10 a 12, se puede observar que *Ornithonyssus* aff. *bacoti* tiene un tamaño pequeño, *Ornithonyssus* sp. 2 un tamaño intermedio y *Ornithonyssus* sp. 3 presenta el mayor tamaño. La superposición observada entre *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, corresponden a las especies de P. N. Bosque Fray Jorge y Valle de Lluta, respectivamente. El CP2 explica el 30,5% de la variabilidad total, siendo los caracteres LP IV, LPD y LPI los que mayormente aportan en la diferenciación entre las especies. Los CP3 y 4 explican sólo el 7% y 2,1% de la variabilidad total para diferenciar las especies de *Ornithonyssus* (Figura 9). Sin embargo, en estos componentes se destaca el aporte de los caracteres LPD y L. Peritrema, respectivamente, siendo útiles para diferenciar las especies de *Ornithonyssus*. En el CP4 se vuelve a observar el solapamiento de los individuos de P. N. Bosque Fray Jorge (*Ornithonyssus* sp. 2) y Valle de Lluta (*Ornithonyssus* aff. *bacoti*), lo que será discutido más adelante (Figuras 10-12 y Tabla 11).

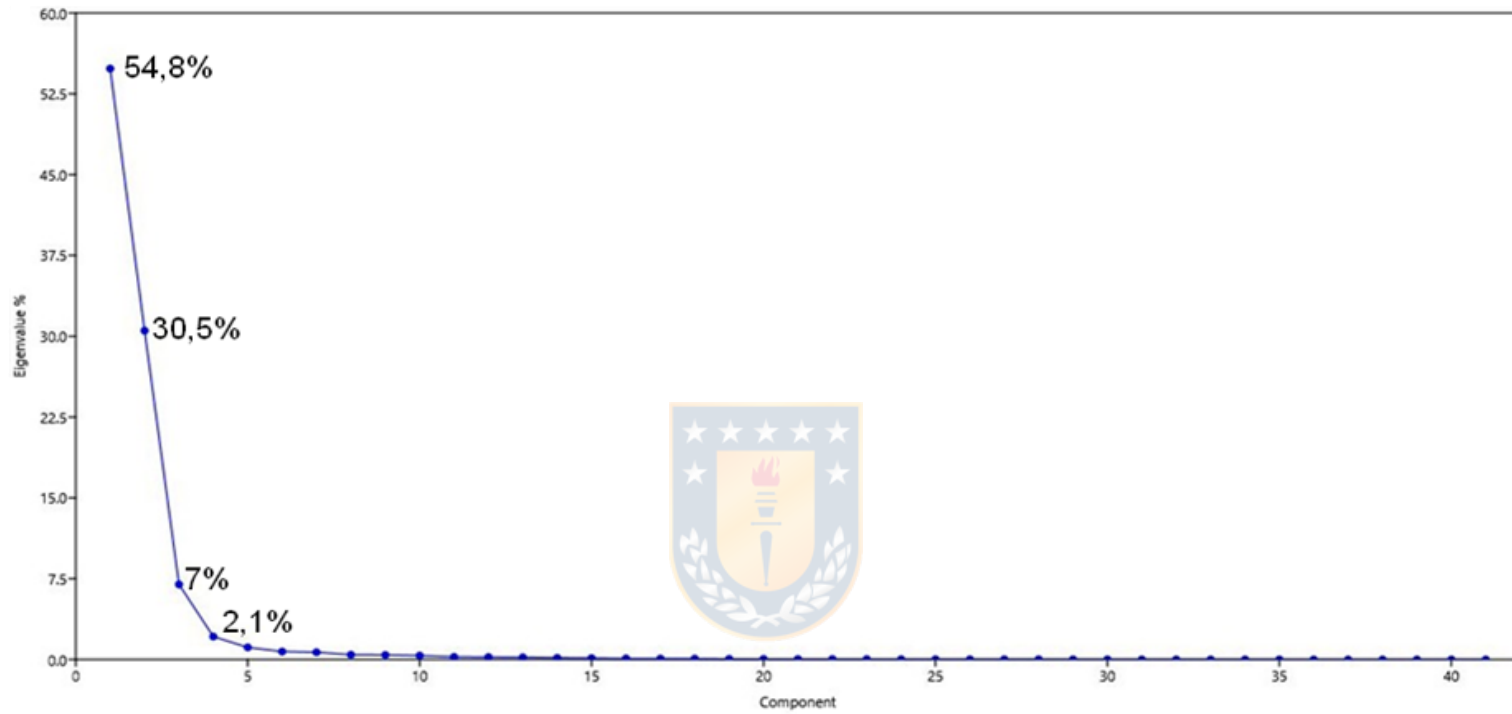


Figura 9. Porcentajes de variación total según componentes principales. Fuente: Elaboración propia.

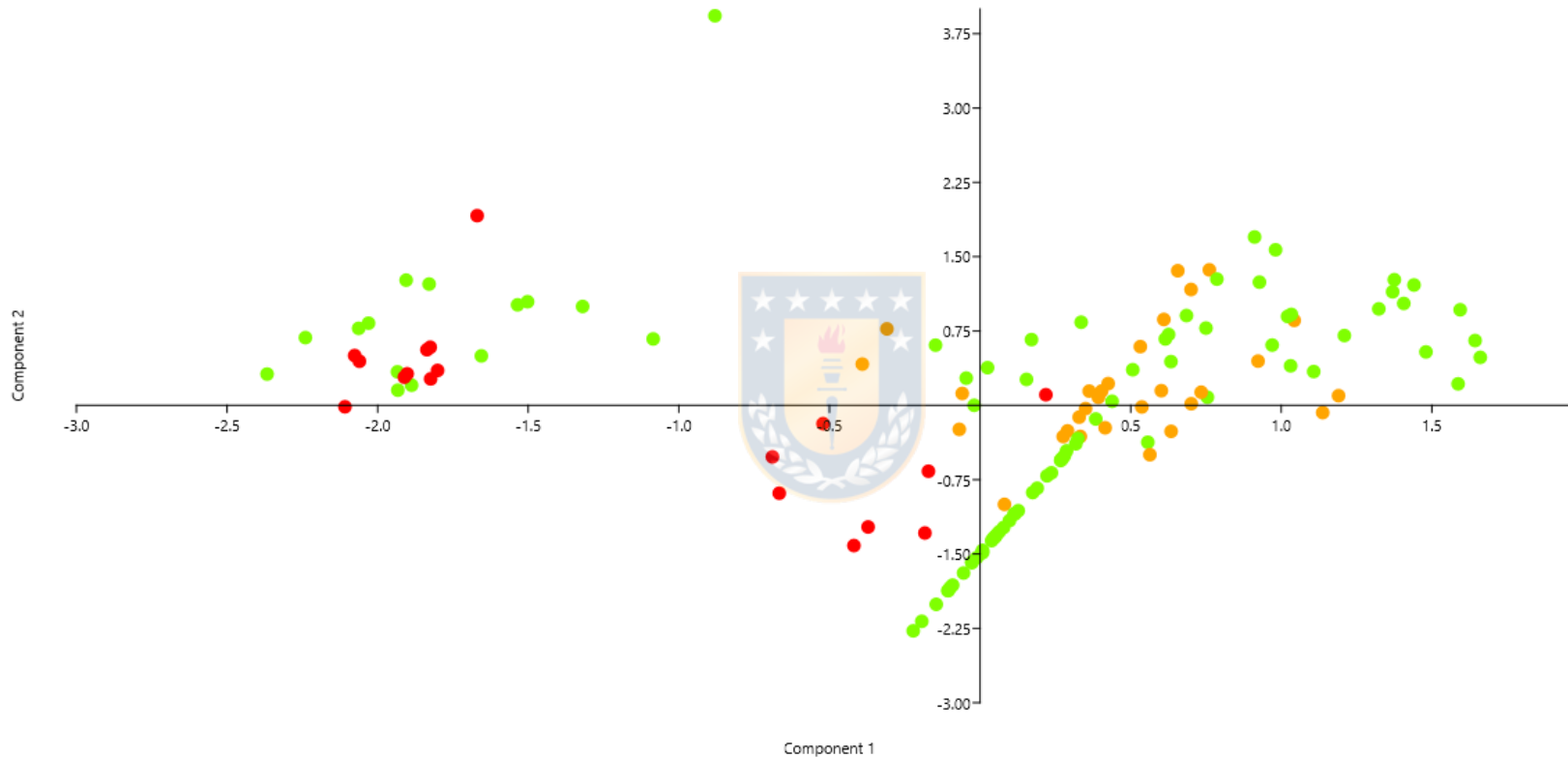


Figura 10. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile, componentes 1 y 2. En rojo *Ornithonyssus aff. bacoti*, verde *Ornithonyssus sp. 2* y anaranjado *Ornithonyssus sp. 3*. Fuente: Elaboración propia.

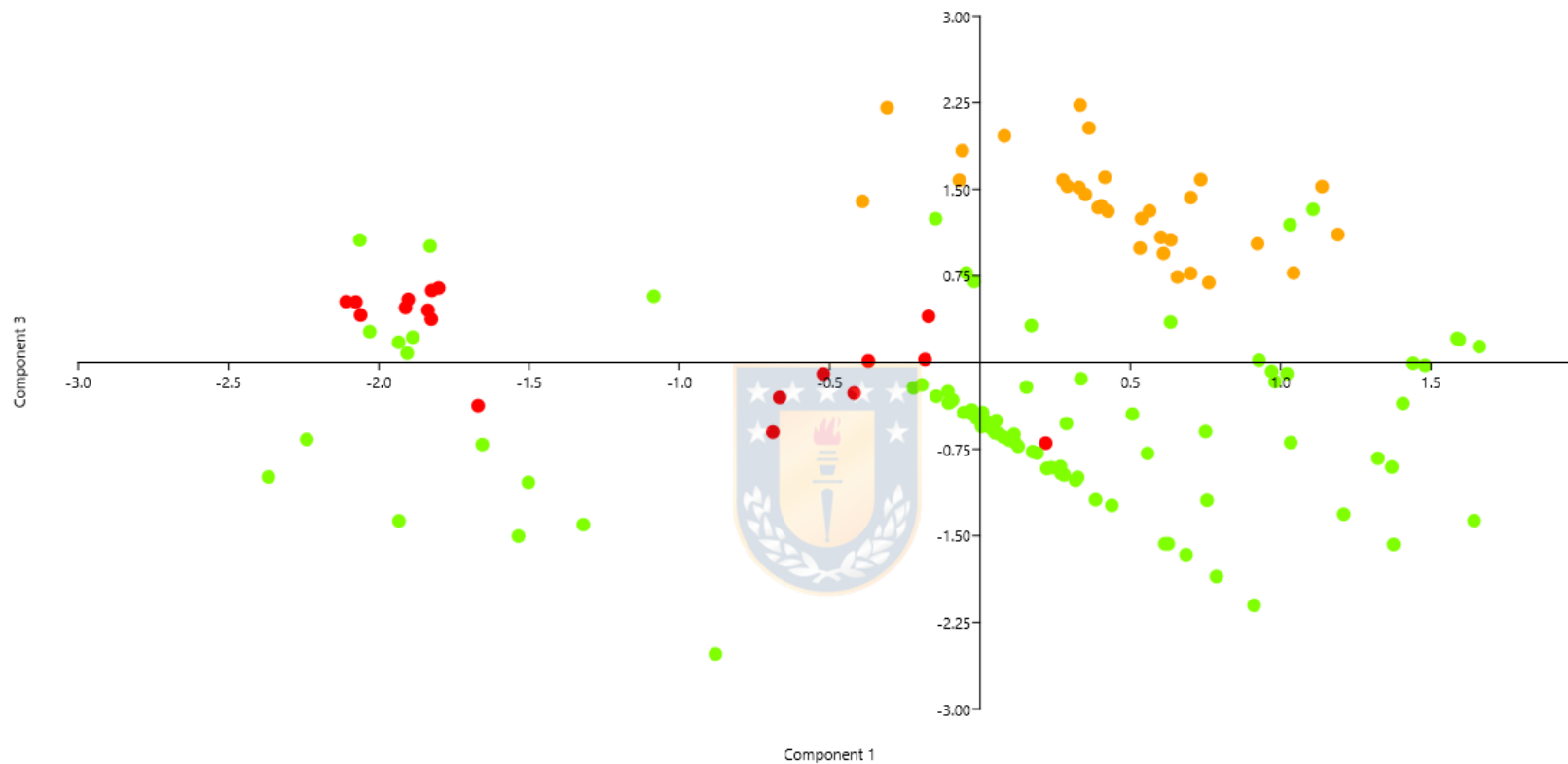


Figura 11. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile, componentes 1 y 3. En rojo *Ornithonyssus aff. bacoti*, verde *Ornithonyssus sp. 2* y anaranjado *Ornithonyssus sp. 3*. Fuente: Elaboración propia.

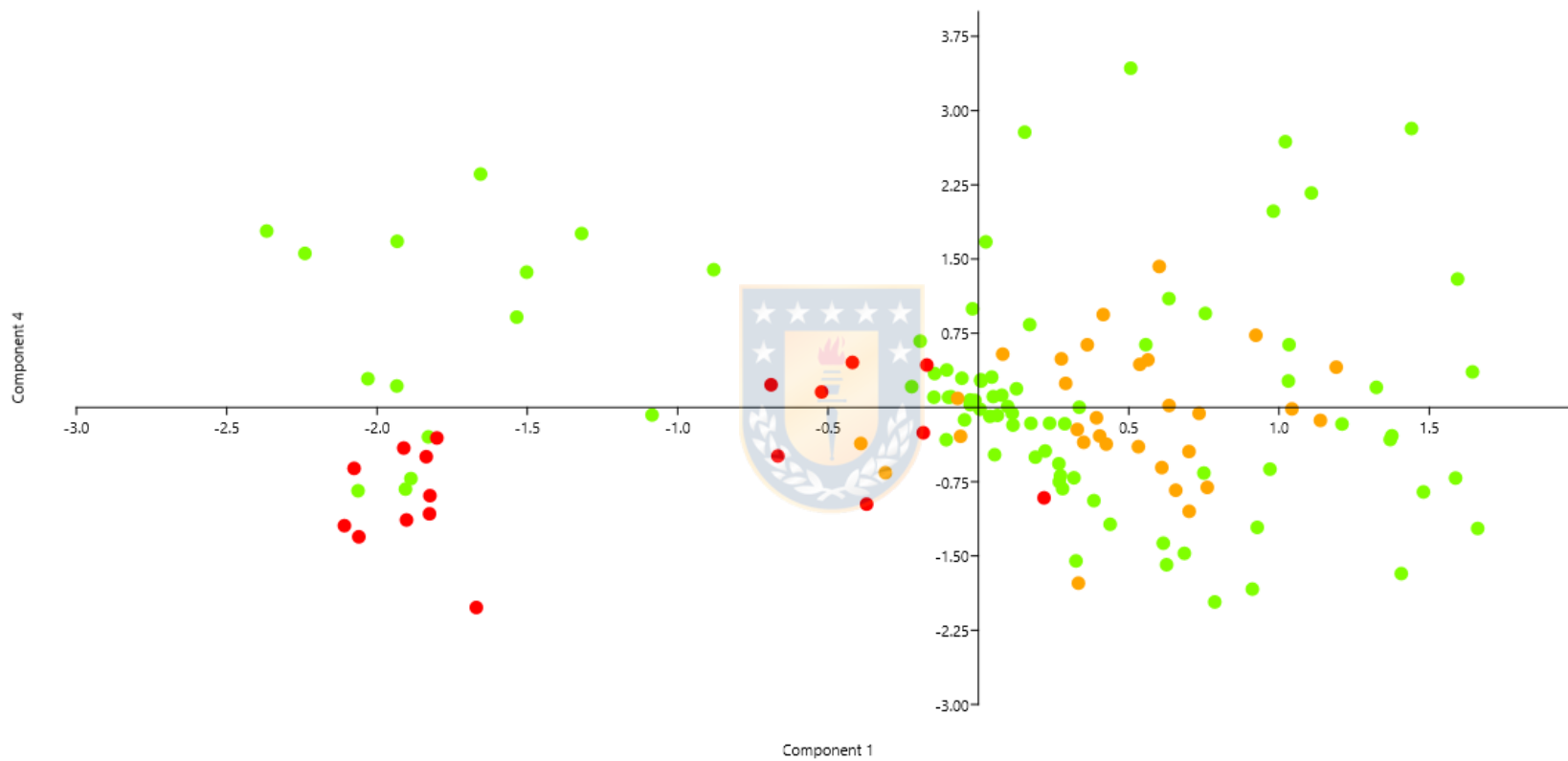


Figura 12. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile, componentes 1 y 4. En rojo *Ornithonyssus aff. bacoti*, verde *Ornithonyssus sp. 2* y anaranjado *Ornithonyssus sp. 3*. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 11. Valores de autovectores del Análisis de Componentes Principales. Número en negrita corresponden a los caracteres que más contribuyen a la variabilidad de los datos en el reconocimiento de las especies de *Ornithonyssus* de Chile.

Carácter	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	Carácter	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4
j1	0.01	0.01	0.00	0.01	Lgn	0.01	0.02	0.02	-0.01
z5	0.01	0.02	-0.04	0.23	Lh2	0.01	0.01	0.02	-0.01
L J12	0.00	0.01	-0.01	0.16	Lh3	0.02	0.04	0.03	0.05
L Z4	0.00	0.02	0.01	0.11	APE	0.03	0.04	0.07	-0.02
L Z51	0.01	0.03	0.00	0.19	LPE	0.01	0.03	0.03	0.01
APD J1	0.02	0.06	0.07	0.23	st1 st1	0.02	0.04	0.03	0.03
APD S5	0.01	0.03	0.03	0.03	Lst1	0.01	0.02	0.02	-0.01
L Peritrema	0.16	0.19	-0.27	0.72	st2 st2	0.03	0.05	0.08	0.03
A Peritrema	0.00	0.00	-0.02	-0.01	Lst2	0.01	0.02	0.03	0.03
MPD	0.00	0.01	-0.01	0.00	st3 st3	0.02	0.04	0.08	0.00
Lpaa	0.01	0.00	-0.03	-0.01	Lst3	0.01	0.03	0.02	0.05
Lpoa	0.01	0.03	0.00	0.07	APEg	0.02	0.04	0.08	-0.03
LEC II	0.01	0.01	-0.02	0.02	LPEg	0.07	0.14	0.19	0.05
AEC II	0.01	0.01	-0.02	0.01	APA	0.02	0.04	0.05	0.01
LP I	0.32	0.40	-0.39	0.10	LPA	0.04	0.08	0.12	-0.03
LP II	0.23	0.26	-0.31	-0.27	Lcr	0.00	0.00	0.00	-0.01
LP III	0.24	0.26	-0.33	-0.45	Lscl	0.02	0.04	0.02	0.02
LP IV	0.82	-0.56	0.12	0.02	Lscll	0.02	0.03	0.02	0.04
APD	0.09	0.18	0.22	0.02	Lsclll	0.01	0.01	0.02	0.02
LPD	0.26	0.52	0.64	-0.04	LsclV	0.01	0.01	0.01	0.01

Fuente: Elaboración propia.

En relación al ACP para las medidas de *Ornithonyssus* por localidades, se observa que el CP 1 explica el 83,7%, mientras que el CP 2 explica el 8,2% de la variación de las especies de *Ornithonyssus* y sus localidades. Sin embargo, no se evidencia una clara separación de las especies según sus localidades, ya que se presentan muchos solapamientos. Algo similar ocurre cuando se realiza el ACP de las medidas de *Ornithonyssus* y sus hospedadores, donde el CP1 explica el 54,8% de la variación y el CP2 el 31,1% de la variación entre las especies de *Ornithonyssus* y sus hospedadores, sin observar diferencias morfométricas entre ellos (Figuras 13 y 14).

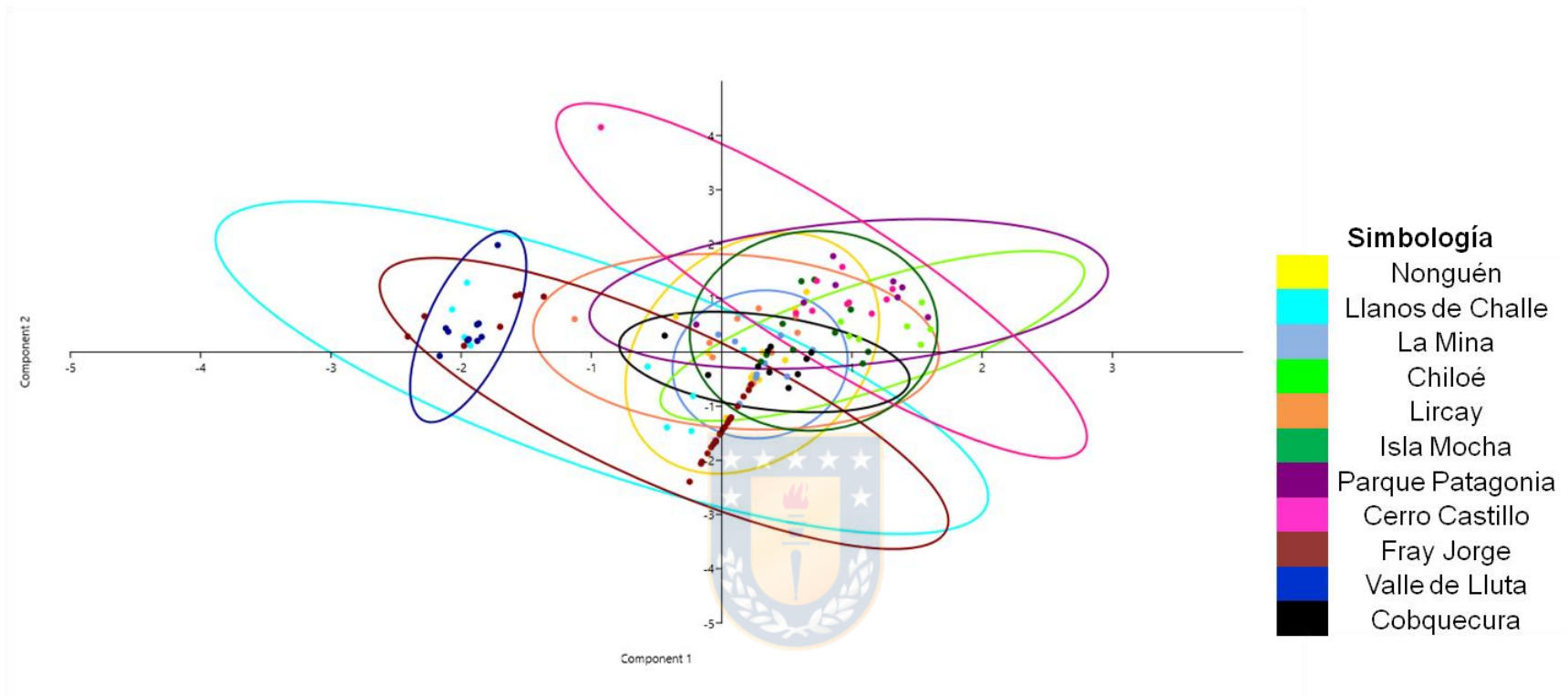


Figura 13. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile y las localidades de recolección, componentes 1 y 2. Fuente: Elaboración propia.

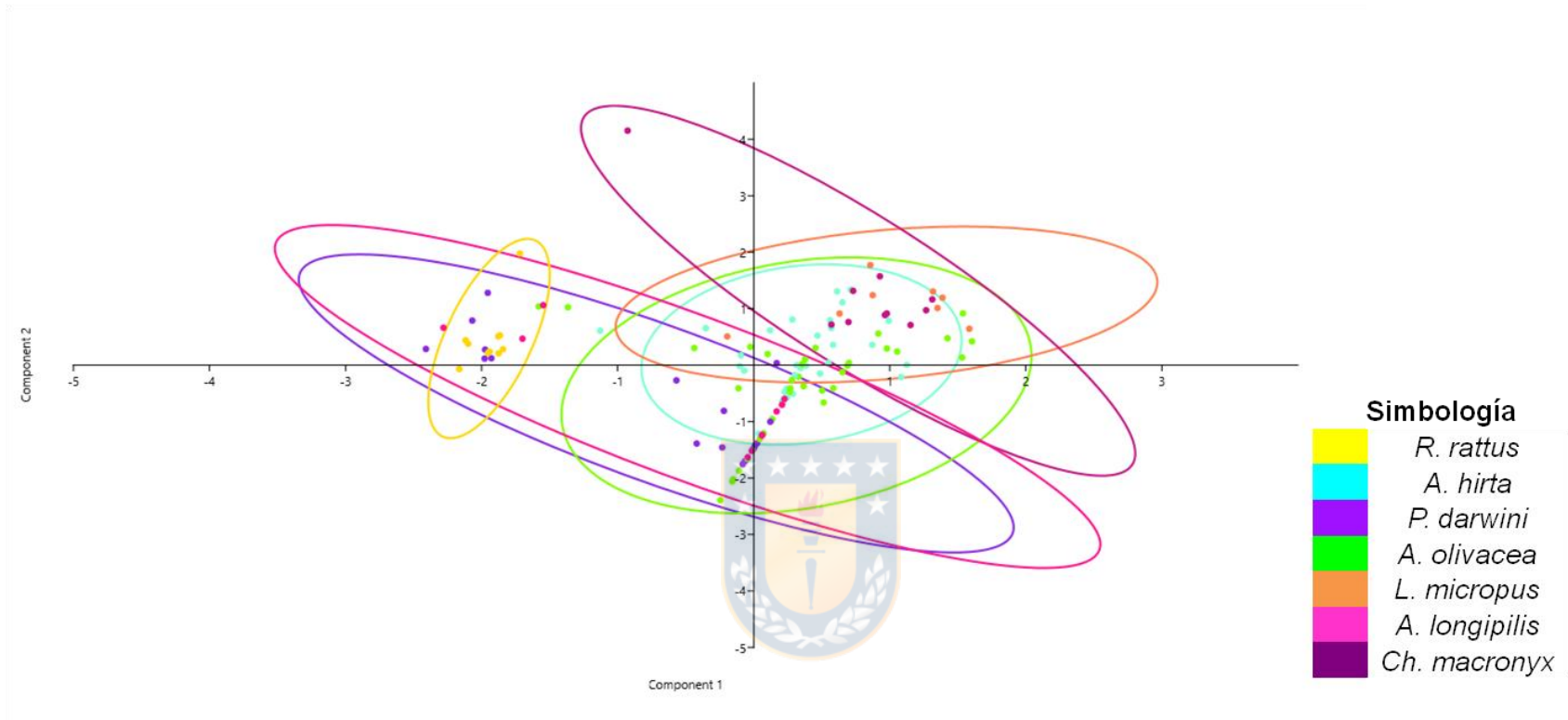


Figura 14. Análisis de Componentes Principales de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile y sus hospedadores, componentes 1 y 2. Fuente: Elaboración propia.

Se realizó un Análisis de Componentes Principales para cada especie de *Ornithonyssus*, observando solapamientos de la morfometría de las especies de ácaros entre sus hospedadores, por lo que no se puede atribuir una asociación morfométrica específica con un hospedador determinado (Figura 15).

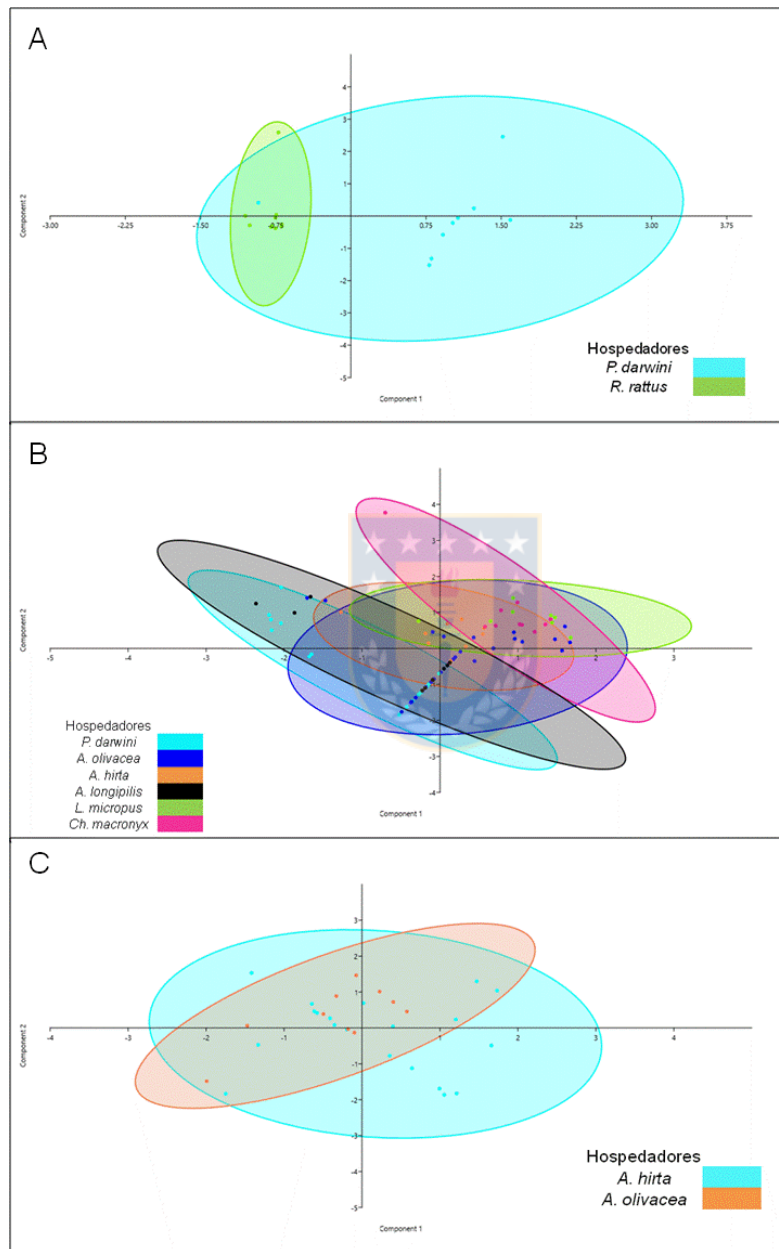


Figura 15. Análisis de Componentes Principales de las medidas por especies de *Ornithonyssus* spp. de Chile y sus hospedadores. A. *Ornithonyssus*. aff. *bacoti*. B. *Ornithonyssus* sp. 2. C. *Ornithonyssus* sp. 3. Fuente: Elaboración propia.

Dados los solapamientos observados en el ACP, se realizó un AD el que pudo establecer una clara diferenciación entre las tres especies de *Ornithonyssus*. El eje canónico 1 explica el 54,52% de la variación entre las especies de *Ornithonyssus*, mientras que el eje canónico 2, explica el 45,48% de la variación entre las especies de *Ornithonyssus* (Figura 16).

Con respecto al porcentaje correcto de clasificación de estas especies que surge luego del análisis al comparar la clasificación a priori con la a posteriori, se puede decir que estas especies se pueden clasificar correctamente en un 90,4% mediante estas variables. *Ornithonyssus* aff. *bacoti* presenta un 0% de error, *Ornithonyssus* sp. 2 un 8% (6 un individuo morfométricamente clasificados como *Ornithonyssus* sp. 3 y 4 clasificados como *Ornithonyssus* aff. *bacoti*) y *Ornithonyssus* sp. 3 con un 0,6% de error (un individuo clasificado como *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y otro como *Ornithonyssus* sp. 2). Estas tasas son útiles cuando se disponen de grandes tamaños de muestras en cada población, como es el caso de este análisis (Johnson & Wichern, 1998).

De forma complementaria se realizaron AD para las localidades y roedores de los *Ornithonyssus* de Chile, sin embargo, si bien este análisis logra maximizar las diferencias entre los grupos, no se observa un claro patrón para llegar a diferenciar las especies de *Ornithonyssus* en relación a sus localidades y hospedadores (Figuras 17 y 18).

A pesar de que morfométricamente no se logra evidenciar una diferencia entre las localidades, el test de Mantel sí muestra una correlación entre la distancia genética de los *Ornithonyssus* sp. 2 y sp.3 con la distancia geográfica entre las localidades de muestreo ($R= 0,547$; $p\text{-valor}= 0,0079$).

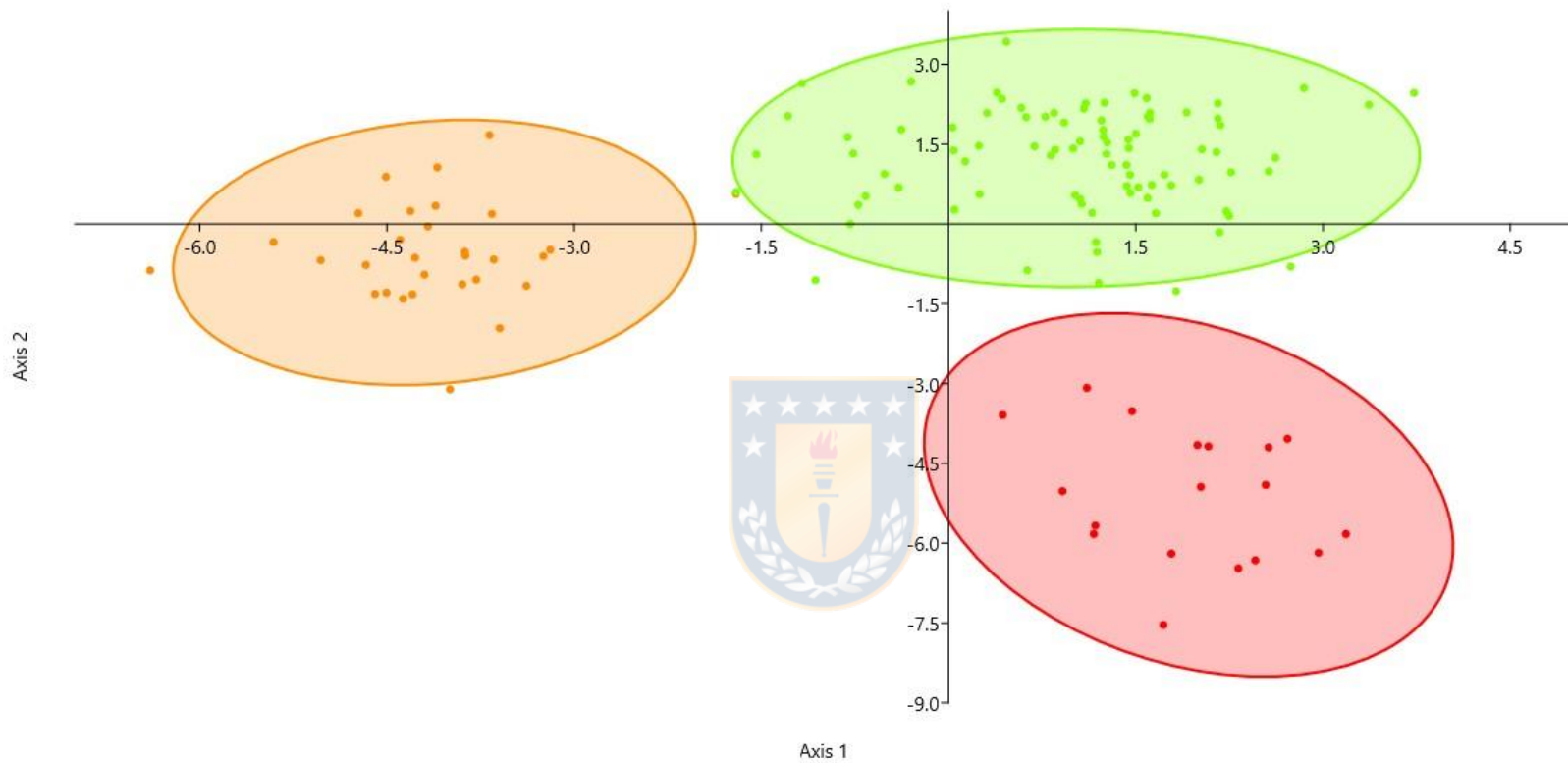


Figura 16. Análisis Discriminante de todas las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile. Contornos corresponden a elipses de predicción del 95%. En rojo *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, verde *Ornithonyssus* sp. 2 y anaranjado *Ornithonyssus* sp. 3. Fuente: Elaboración propia.

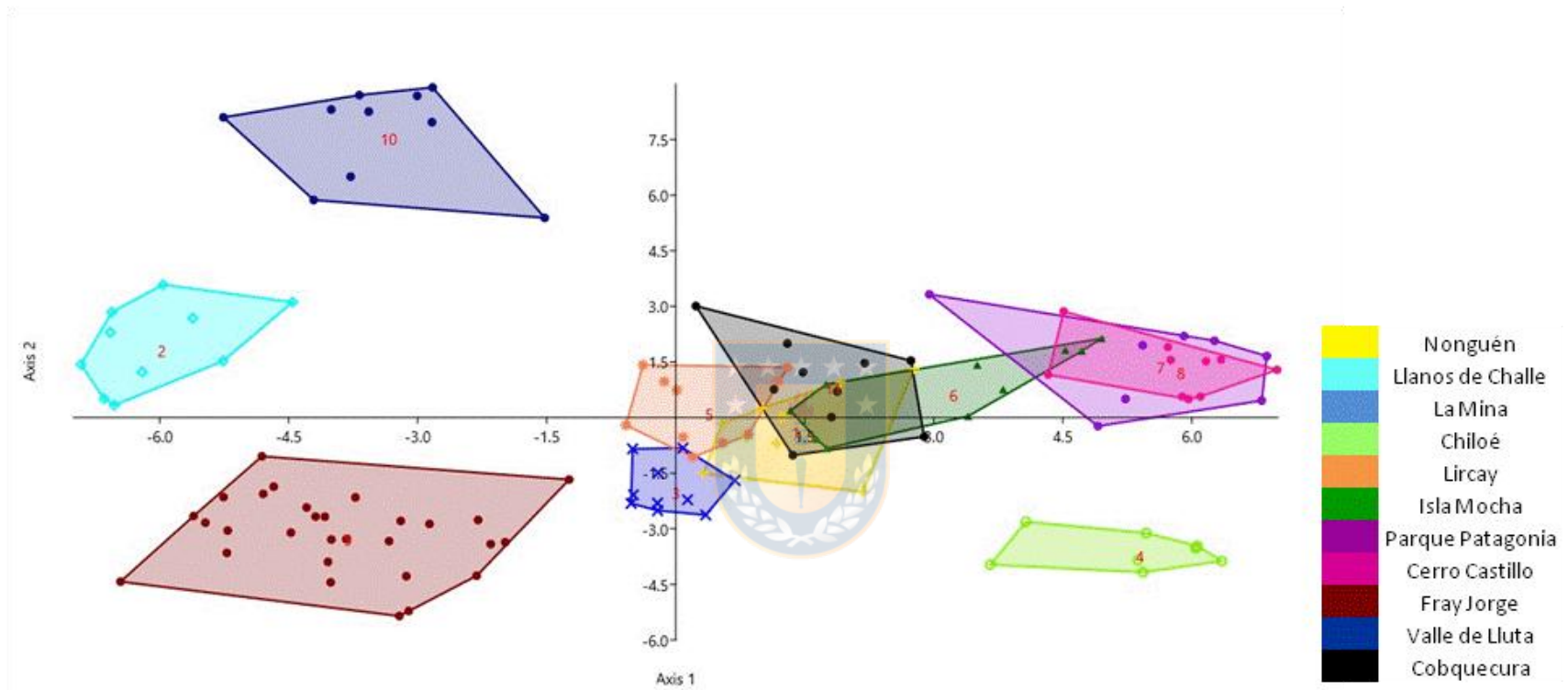


Figura 17. Análisis Discriminante de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile por localidades. Contornos corresponden a polígonos de predicción. Fuente: Elaboración propia.

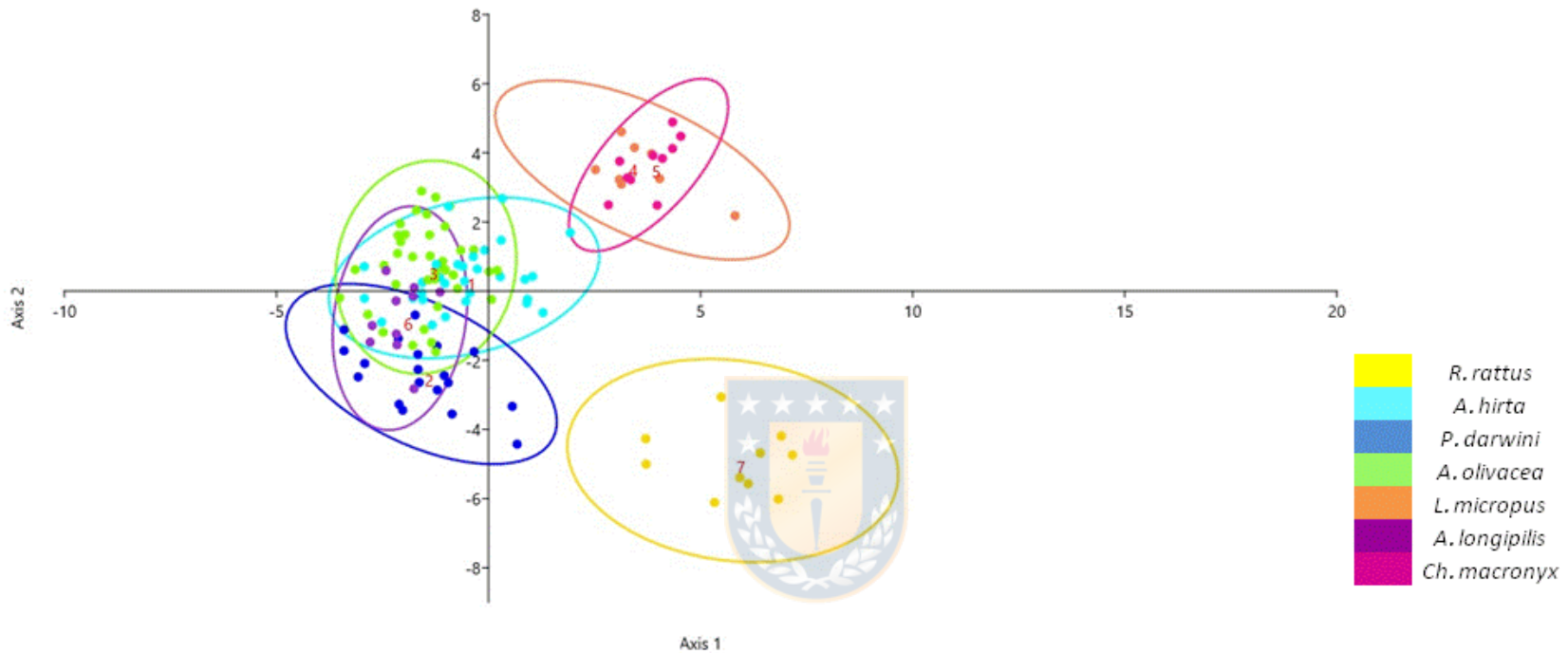


Figura 18. Análisis Discriminante de las medidas de *Ornithonyssus* spp. de Chile por hospedadores. Contornos corresponden a elipses de predicción. Fuente: Elaboración propia.

Cuando se comparan algunos rangos de medidas entre caracteres de *Ornithonyssus* aff. *bacoti* con *O. bacoti* s.s., se puede observar que la especie *Ornithonyssus* aff. *bacoti* presenta un mayor tamaño en LPD, LPG y LPA que *O. bacoti* s.s., mientras que *O. bacoti* s.s. es de mayor tamaño en APD y LPE que *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Cuando se realiza la comparación entre *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *O. monteiroi*, la primera tiene el LPG de mayor tamaño, mientras que *O. monteiroi* tiene un mayor tamaño el APD, LPE y APE (Tabla 12). En relación a las diferencias morfométricas de las especies *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3, se puede observar que éstas especies presentan un mayor tamaño en LPD, LPE, LPG y LPA con respecto a *O. bacoti* s.s. Estas diferencias taxonómicas reafirman lo observado en reconstrucción filogenética y los porcentajes de diferenciación genética, validando dos especies putativas de *Ornithonyssus* presentes en Chile, mientras que otra especie se postula como una especie afín a *O. bacoti*.

Tabla 12. Rangos de medidas de las principales placas de las especies de *Ornithonyssus* de Brasil (Radovsky, 2010; Nieri-Bastos *et. al.*, 2011) y Chile.

Especie	LPD	APD	LPE	APE	LPG	LPA
<i>O. bacoti</i>	500–503	210–215	80–85	130–140	182–185	130–133
<i>O. brasiliensis</i>	428	161	75–85	130–155	250–260	167–170
<i>O. matogrosso</i>	537–541	272–275	45–55	140–150	275–287	138–142
<i>O. monteiroi</i>	670–675	270–280	74–77	143–146	218–225	170–172
<i>O. pereirai</i>	610–630	260–285	63–70	140–150	280–300	155–160
<i>O. vitzthumi</i>	630–637	220–223	40–45	140–150	225–227	130–135
<i>O. wernecki</i>	500–514	205–211	30–35	120–128	300–315	98–105
<i>Ornithonyssus</i> aff. <i>bacoti</i>	566–775	131–159	41–67	118–139	283–335	136–167
<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	574–896	134–244	36–67	116–160	280–404	142–206
<i>Ornithonyssus</i> sp. 3	656–841	167–193	52–69	108–149	317–363	157–206

Fuente: Elaboración propia.

3. Relación entre análisis moleculares, morfométricos y morfológicos

La distancia genética entre *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 2 es de un 5,3%, entre *O.* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 3 es de un 5,2% y entre *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3 de un 5,2%. Además, cada especie constituye su propio clado.

Para diferenciar estas especies morfométricamente, las variables LP IV, LPD, LPI y L. Per. son útiles. Sin embargo, mediante la morfología del epistome (gnatotectum) se puede diferenciar estas tres especies presentes en Chile (ver capítulo II, Figura 22).

Es importante destacar que en la zona de transición entre *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 2 (P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar), se puede observar que *Ornithonyssus* aff. *bacoti* presenta una morfología más robusta y esclerotizada en las setas, placas y peritremas, mientras que *Ornithonyssus* sp. 2 presenta menor esclerotización de las placas, y las setas y peritremas tienden a ser estilizadas (ej. setas flageliformes y peritremas delgados). Del mismo modo, los *Ornithonyssus* aff. *bacoti* de Valle de Lluta presentan una morfología similar a *Ornithonyssus* sp. 2, pero su identidad genética corresponde a *Ornithonyssus* aff. *bacoti* (Figura 19).

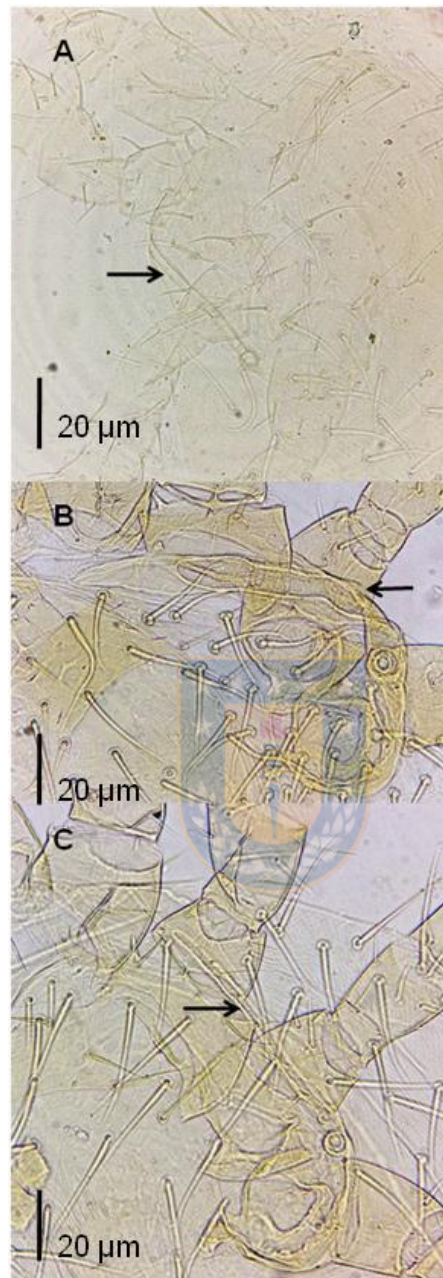


Figura 19. Variación morfológica entre *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 2. A. *Ornithonyssus* aff. *bacoti* Valle de Luta. B. *Ornithonyssus* aff. *bacoti* P. N. Llanos de Challe. C. *Ornithonyssus* sp. 2 P. N. Llanos de Challe. Flecha señala peritremas. Imágenes observadas a 400x. Fuente: Elaboración propia.

VI. DISCUSIÓN

El presente estudio logra identificar tres especies de *Ornithonyssus* en Chile, las cuales presentan diferencias morfométricas, morfológicas y moleculares, por lo tanto no corresponden a un complejo de especies. Cabe destacar que estas especies están distribuidas en una amplia área geográfica.

Se describe que durante el Pleistoceno las poblaciones de roedores a lo largo de Chile fueron afectadas por glaciaciones y la elevaciones de la Cordillera de los Andes, lo que ocasionó cambios en la vegetación y el clima (períodos húmedos y secos), generando refugios locales para la biota existente (Clapperton, 1994). Producto de lo anterior, se plantea que posiblemente estas especies de *Ornithonyssus* surgieron mediante un proceso de especiación peripátrica, del mismo modo que especieron sus hospedadores en Chile (roedores) (Rodríguez-Serrano *et al.*, 2006; Palma *et al.*, 2010). Algo similar plantean otros autores, quienes indican que los roedores habrían experimentado una especiación de valle, producto de la formación de estos refugios libres de hielo (Fuentes & Jaksic, 1979). Se ha señalado que los parásitos presentan una distribución agregada (Anderson & May, 1978; Anderson & Gordon, 1982; Crofton, 1971; Poulin, 1993; Shaw *et al.*, 1998; Krasnov *et al.*, 2006 a y b), lo que significa que la mayoría de los hospedadores tendrán pocos parásitos y sólo unos pocos hospedadores tendrán altas cargas parasitarias. Este patrón está presente en las especies de *Ornithonyssus* presentes en Chile (Silva-de la Fuente, 2014), hecho que se corrobora en este estudio (Tabla 5). Por lo tanto, producto de la especiación peripátrica y la distribución agregada que presentan los parásitos, lleva a que una pequeña porción de parásitos quede aislada junto a sus hospedadores, pudiendo especiar de la misma forma que especieron los roedores en Chile. Por lo tanto, es de esperar que si se hace una reconstrucción filogenética de los roedores y los *Ornithonyssus*, ambas reconstrucciones sean similares, pero esta similitud tal vez no sea producto de una co-evolución parásitos-hospedador (debido a la baja especificidad de estos ácaros), sino por los eventos palioclimáticos y geográficos que ambos sufrieron (hospedador y parásito), seguido por una posterior recolonización del territorio postglaciación, sumado a la amplia distribución

geográfica que tienen algunas especies de roedores y la simpatria de los mismos. Aunque en los ácaros parásitos se ha propuesto la especiación de tipo simpátrica, debido a que los ácaros se adaptan a un microhábitat particular otorgado por su hospedador (sitio de localización en el cuerpo del hospedador), presentando adaptaciones de sus estructuras morfológicas para adherirse a ciertos sustratos del hospedador (Bochkov & Mironov, 2008). Otras investigaciones, como las conducidas por Nieberding *et al.* (2004; 2008), establecen que los linajes del nemátodo *Heligmosomoides* (Rhabditida: Trychostrongylidae), parásito del género de roedores *Apodemus*, no son específicos de un roedor, sino que los linajes del parásito están relacionados con patrones geográficos y la filogeografía del hospedador. Estos autores, además señalan como probable causas de estos patrones filogeográficos, el uso de refugios por parte de los hospedadores y por ende de sus parásitos durante las glaciaciones. Este mismo evento se puede observar en el presente trabajo, cuando se comparan las distribuciones de los ácaros y sus hospedadores. Del mismo modo, se ha descrito que la familia Zerconidae (Acari: Mesostigmata) de la península de Korea ha sufrido especiación peripátrica, principalmente debido a diversificadas condiciones geográficas, climáticas y vegetacionales a la que se encuentran sometidos (Kaczmarek & Marquardt, 2006). Para ácaros parásitos también se ha indicado una especiación alopátrica, generada por la especiación alopátrica que ha experimentado el hospedador, además de ser más probable en ácaros con escasas adaptaciones morfológicas de sujeción al hospedador (Bochkov & Mironov, 2008). Al parecer, en ácaros parásitos, el patrón de especiación que tenga su hospedador, influye directamente en el patrón de especiación que presente su parásito. De la misma forma, Espinoza *et al.* (2002), indica que al observar los procesos que ocurren entre los hospedadores y sus parásitos, se observa una divergencia paralela entre el hospedador y su parásito, asociado principalmente a factores geográficos. De esta manera, mediante el uso del concepto general de linaje (GLC), se haría mucho más abordable el problema de la delimitación de especies en linajes donde ha existido aislamiento poblacional (geográfico/barra; Shanker *et al.*, 2017).

En el presente estudio no se observó una asociación específica con ningún hospedador. La ausencia de especificidad está sustentado por los parámetros ecológicos de prevalencia e intensidad media, los que presentan altos valores en algunas especies de roedores de este estudio (*A. hirta*, *A. longipilis*, *A. olivacea*, *A. sanborni*, *L. micropus* y *Ch. macronyx*). Estos altos valores en estos parámetros indica que las especies de *Ornithonyssus* no prefieren un hospedador determinado (Tabla 5). Además, llama la atención que son distintas especies de roedores los encargados de la transmisión de estos ácaros. De este modo, en la zona norte el roedor más frecuentemente capturado en este estudio y que presentaba la mayor abundancia de ácaros es *P. darwini* (*Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 2), mientras que en la zona centro son *A. hirta* y *A. olivacea* (*Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3). En la zona sur al parecer cada localidad presenta una especie de roedor más abundantemente capturado y si bien no son muchos los ejemplares capturados en algunas localidades (ex. *A. olivacea* en P. N. Chiloé N=136), sí se observa una fuerte agregación por parte de los ácaros en los hospedadores disponibles por localidad (Tabla 5 y 6). Cabe destacar que *P. darwini*, *A. hirta* y *A. olivacea*, presentan una amplia distribución a lo largo de Chile, además con poblaciones estables y abundantes, con algunas fluctuaciones estacionales (Muñoz-Pedreros & Gil, 2009). Por lo tanto, es de esperar que sean estas las principales especies hospedadoras encargadas de mantener a las poblaciones de *Ornithonyssus* en Chile. Por otra parte, algunas de las especies involucradas en este estudio como *A. longipilis*, *A. sanborni*, *A. olivacea*, *Ch. macronyx*, *L. micropus*, *P. darwini*, viven en simpatria e incluso comparten hábitos alimenticios (Muñoz-Pedreros & Gil, 2009) y por ende existiría una mayor facilidad de traspaso de sus parásitos. Así mismo, Blouin *et al.* (1995) señala que el flujo de genes de parásitos depende estrictamente de los movimientos y contactos entre hospedadores individuales, contacto que por lo menos entre las especies de roedores chilenos sigue existiendo.

Es importante destacar que la morfometría de *O. bacoti*, entregada a través de las claves propuestas por Radovsky (2010) y Nieri-Bastos *et al.* (2011) no coincide con las medidas de los ejemplares obtenidos en la presente investigación (Tabla

12), siendo las especies presentes en Chile de mayor tamaño que *O. bacoti* (LPD, APD, LPE y LPG). En relación con la especie *Ornithonyssus aff. bacoti*, si bien la distancia genética que existe entre *Ornithonyssus aff. bacoti* y *O. bacoti* y *O. monteiroi* es de un 4% (Tabla 8), se trata como *Ornithonyssus aff. bacoti* debido a que la reconstrucción filogenética muestra que *Ornithonyssus aff. bacoti* con *O. bacoti* comparten un ancestro en común, no así con *O. monteiroi*. Adicionalmente, las especies anteriormente señaladas, presentan diferencias estadísticamente significativas en las medidas anatómicas y morfológicas. Con base a lo anteriormente expuesto, se considera que *Ornithonyssus aff. bacoti* con *O. bacoti* son especies distintas. Sin embargo, para confirmar fehacientemente esta información es necesario incrementar el número de secuencias genéticas de *Ornithonyssus aff. bacoti*, ya que solamente amplificaron dos individuos.

Como resultado del análisis morfológico y morfométrico se proponen dos nuevas especies de *Ornithonyssus* para Chile, *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3, resultado que se encuentra apoyado por las distancias genéticas halladas entre estas especies, las que son similares a las obtenidas para especies formalmente aceptadas (Nieri–Bastos *et al.*, 2011). Adicionalmente, se pudo observar que entre las especies de *Ornithonyssus* recolectadas en Chile, existen variaciones genéticas entre las localidades de muestreo (Figuras 6 y 8).

En este estudio, 34 de 75 (45%) muestras de ácaros individuales amplificaron para el gen 16S ADNr mitocondrial. Hay que destacar que el presente estudio se utilizaron muestras individuales y no pool de ácaros como lo hacen otras investigaciones (e.g. Nieri–Bastos *et al.*, 2011; 30 secuencias analizadas), ya que el principal objetivo era evaluar si existían diferencias genéticas entre los ácaros recolectados, para luego poder caracterizarlos morfométrica y morfológicamente. La utilización de pool de individuos es frecuentemente utilizada para obtener mayor cantidad de ADN. Esta técnica es útil cuando se conoce con certeza la identidad taxonómica de una especie. Por lo tanto, es recomendable hacer extracciones individuales en localidades donde no se conoce con claridad qué especies están presentes. Cabe mencionar que en este trabajo, pese a no utilizar pool de ácaros, la calidad de las secuencias fue buena. Adicionalmente, algunas

muestras utilizadas en este trabajo no lograron amplificar, esto podría ser producto del largo periodo de tiempo (>10 años) en el cual estuvieron almacenadas en alcohol 96°.

El único trabajo que ha sido realizado molecularmente con especies del género *Ornithonyssus* es el desarrollado por Nieri–Bastos *et al.* (2011). Estos autores trabajaron con el gen 16S ADNr mitocondrial con aproximadamente 400 pb y reconstrucción filogenética mediante máxima parsimonia, incorporando también caracteres morfológicos. Ellos concluyeron que en Brasil existen seis especies válidas de *Ornithonyssus*. Sin embargo, dentro de la clave dicotómica que proponen para diferenciar especies como *O. brasiliensis*, *O. vitzthumi* y *O. monteiroi*, los caracteres utilizados para distinguirlos de *O. bacoti* (debido a su gran parecido) son subjetivos (e.g. "pequeña hendidura media", "ligera o fuertemente esculpida", "ligeramente cóncavo", "ligera o muy redondeada", etc.). Si bien, estos autores tomaron algunas medidas anatómicas (largo y ancho de idiosoma, placa dorsal, placa esternal, placa epiginal y placa anal), no se entregan detalles de análisis multivariados que puedan haber generado diferencias morfométricas significativas y que estuvieran relacionadas con los resultados de los análisis moleculares. Cabe señalar que las secuencias utilizadas en este estudio corresponden a las proporcionadas por Nieri–Bastos *et al.* (2011). Sin embargo, para la reconstrucción filogenética, a diferencia de dichos autores, quienes utilizan Máxima Parsimonia, se utilizó Inferencia Bayesiana (IB). Los métodos probabilísticos como IB serían más certeros para reconstruir la "verdadera" filogenia (O'Reilly *et al.*, 2016), es por esto que se optó por este análisis. Si bien la topología de los árboles obtenidos en ambos análisis fue similar, se observan algunas diferencias, como el cambio de posición de algunos clados (e.g. *O. brasiliensis* deja de ser basal con respecto a los *Ornithonyssu* de Brasil). Estas diferencias pueden estar dadas principalmente porque MP no trabaja con modelos evolutivos que entreguen información a priori valiosa para la reconstrucción filogenética. Por otra parte, se ha descrito que los árboles filogenéticos entregados a partir de MP no son del todo fiables, debido a que se

ven afectado por la atracción de ramas largas (Felsenstein, 1978) (más caracteres homoplásicos y menos caracteres homólogos; Peña, 2011).

En la presente investigación, no se encuentran diferencias morfométricas entre las especies de *Ornithonyssus* identificadas en relación a sus hospedadores, lo que indicaría que no existe una asociación parásito–hospedador específica, probablemente debido a que estas especies son generalistas (Tabla 5, Figura 14 y 15). Este resultado varía con lo encontrado por otros autores, los que observaron una relación parásito–hospedador estrecha, donde las especies de ácaros se diferencian morfométricamente dependiendo de su hospedador (Gettinger & Owen, 2000; Gettinger *et al.*, 2011; Lareschi & Gettinger, 2009; Lareschi, 2010, 2011; Lareschi & Velazco, 2013; Lareschi & Galliari, 2014). Lareschi & Galliari (2014), señalan que esta estrecha relación parásito–hospedador, pudo deberse a un cambio de hospedador con posterior especiación, independiente del contacto simpátrico de sus hospedadores (*Akodon montensis*, *Thaptomys nigrita*, *Deltamys kempi* y *Akodon cursor*). Tal vez, las diferencias de los estudios mencionados con los resultados del presente trabajo radican en la diferencia de comportamiento de los ácaros estudiados, ya que gran parte del ciclo de vida de *Ornithonyssus* lo hace en el nido, subiendo a su hospedador a alimentarse (Dowling, 2006). Algo similar ocurre en las especies estudiadas por otros autores, sin embargo al alimentarse de secreciones y descamaciones pasarían un mayor periodo de tiempo en su hospedador (Krantz, 2009). Una baja especificidad y una pobre co–evolución está presente en parásitos que periódicamente bajan de su hospedador (Fain, 1994). Adicionalmente, cabe destacar que los roedores analizados en este estudio son simpátricos en las diversas áreas de muestreo (Meserve, 1981; Iriarte, 1989; Meserve *et al.*, 1991), incluso pueden compartir madrigueras, por lo que el intercambio de especies de *Ornithonyssus* y otros parásitos entre hospedadores heteroespecíficos sería más factible, siendo aun menos probable un proceso de co–evolución hospedador–parásito.

Del mismo modo, tampoco se pudo determinar una asociación entre la morfometría de las especies de *Ornithonyssus* y las localidades estudiadas (Figura 13). Otras investigaciones han encontrado una asociación entre la morfometría de

los ácaros y las localidades (Martins-Hatano *et al.*, 2012; Silva–de la Fuente, 2014; Dadgostar & Nozari, 2018; Farjamfar *et al.*, 2018), atribuyendo estas agrupaciones morfométricas de los ácaros según la similitud de las condiciones climáticas en las localidades de muestreo.

Es importante destacar, que las variaciones morfológicas de los caracteres son comunes en los ácaros parásitos (Fain, 1994), y debido a los variados resultados obtenidos sólo mediante análisis estadísticos de variables morfométricas, se plantea que es discutible que las descripciones de nuevas especies en grupos donde existe una gran variabilidad entre especies, como en los Mesostigmata, sólo sean basadas en caracteres netamente morfométricos y/o morfológicos. Esto ratifica la importancia de contrastar resultados de análisis morfométricos, morfológicos y moleculares, para poder determinar especies (Okassa *et al.*, 2009; Knee *et al.*, 2012a). De este mismo modo, en el presente trabajo, se detecta que entre las tres especies de *Ornithonyssus* propuestas existen diferencias tanto genéticas, morfométricas y morfológicas.

En relación a la presencia de *Ornithonyssus* aff. *bacoti* en la zona norte de Chile, llama la atención una zona de transición de las especies *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 2 en las localidades de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar (se observan ambas especies en estas zonas) (Figura 20). En el presente estudio, esta área de muestreo actualmente corresponde a una zona de transición entre la región Neotropical y Andina (Morrone, 2015) (Figura 20). Esta condición de transición hace que las variables abióticas, así como parte de su fauna (e.g. poblaciones de roedores), sea compartida con países vecinos como Perú, Bolivia y Argentina. *Ornithonyssus bacoti* ha sido reportado en Perú (Dittmar, 2000) y Argentina (Lareschi & Sánchez–López, 2000) y tal vez debido a los efectos climatológicos y geográficos que ocurrieron en el pasado, parte de las poblaciones de roedores y parásitos hayan quedado aisladas, para luego experimentar una posterior migración entre las poblaciones. Tal vez esto explicaría el porqué *O.* aff. *bacoti* todavía no evidencia una clara diferenciación genética con *O. bacoti*, existiendo todavía un flujo genético entre ambas poblaciones de *Ornithonyssus*. Justamente se observa que las provincias de Atacama y Antofagasta son áreas

donde el nexo de fauna y flora con países limítrofes es más evidente (Peña, 1966). Por otra parte, existen variaciones morfométricas y morfológicas observadas en *Ornithonyssus* aff. *bacoti* a lo largo de su distribución (Valle de Lluta v/s P. N. Llanos de Challe–P. N. Pan de Azúcar; Figura 19). Estas variaciones en el morfo (forma del peritrema, esclerotización, forma de setas coxales), podrían corresponder a plasticidad fenotípica intraespecífica asociados a presiones ambientales propias de cada provincia, ya que genéticamente los individuos de estas localidades son idénticos (0% de divergencia). Para Valle de Lluta (provincia de Tarapacá) se señala un clima desértico oceánico y elevada humedad (80% promedio anual), mientras que P. N. Llanos de Challe (provincia de Atacama) presenta un clima mediterráneo superárido o sahariano y humedad relativa de 30% anual (di Castri & Hajek, 1975). Si tomamos en cuenta la regla propuesta por Remmert (1981), quien señala que un aumento del tamaño corporal y cutícula más fuerte se da en organismo expuestos a los ambientes más áridos, esta predicción se ajusta a lo observado entre las poblaciones de *Ornithonyssus* sp. aff. *bacoti* de Valle de Lluta y las presentes en P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. En este caso, sería la diferencia de humedad relativa de ambas localidades, lo que podría influir en la morfología y morfometría de los ácaros, explicando la plasticidad fenotípica observada dentro de esta especie.

En cuanto a las especies *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3, se observa una estructuración genética poblacional relacionada con la geografía (Figuras 6 y 8). Otras investigaciones llevadas a cabo en *V. destructor* (Acari: Mesostigmata) (Gajic *et al.*, 2013) y *Laelaps giganteus* (Acari: Mesostigmata) (Engelbrecht *et al.*, 2016) también han encontrado una estructura poblacional ligada a la geografía. Engelbrecht *et al.* (2016), señala una alta diversidad haplotípica (99%) en sus resultados, al igual que los presentes resultados. Otros estudios señalan que una alta diversidad haplotípica podría estar atribuida a un efecto de barrera geográfica para las poblaciones y a la supervivencia de pequeñas y aisladas poblaciones (Tougaard *et al.*, 2008; Beysard & Heckel, 2014; Domínguez, 2014). En el complejo de especies *A. cajennense*, se ha observado una alta diversidad haplotípica y genética, hecho que puede ser producto de una dispersión limitada, debido a que

muchas garrapatas dependen mayormente de las condiciones ambientales y no de hospedadores específicos. Esto estaría ocasionando que las garrapatas no abandonaran sus límites geográficos (nicho ecológico), independiente que su alimentación dependa de hospedadores con una alta capacidad de dispersión, provocando de esta forma estructura poblacional (Beati *et al.*, 2013). Esto último podría estar sucediendo en las poblaciones de *Ornithonyssus* presentes en Chile, las cuales muestran una clara estructura poblacional genética asociada a las localidades de muestreo, tal vez influenciada por la asociación de *Ornithonyssus* con el nido del hospedador (Figuras 6 y 8). Esta estructura poblacional observada en *Ornithonyssus* sp. 2 y *Ornithonyssus* sp. 3, se ve reflejada además en las distancias genéticas intraespecíficas de estas especies. En el presente trabajo, se estableció una distancia intraespecífica para *Ornithonyssus* sp. 2 de un 2,8%, mientras que para *Ornithonyssus* sp. 3 fue de 2,1%. Al igual que los resultados de la presente investigación, otros autores han registrado distancia genética intraespecie en otras especies de *Ornithonyssus*: *O. bacoti* (3%), *O. brasiliensis* (0,12%), *O. wernecki* (1,12%) y *O. vitzhumi* (1,8%) (Nieri-Bastos *et al.*, 2011). Algunos autores como Gómez-Díaz *et al.* (2007) y van der Mescht *et al.* (2015), explican que una gran variabilidad intraespecífica es de esperarse en parásitos generalistas, como lo son las especies de *Ornithonyssus*, debido a que esta variabilidad genética les sirve para poder parasitar una amplia gama de hospedadores. Si bien *Ornithonyssus* aff. *bacoti* no presenta una afinidad por un hospedador determinado, esta variabilidad genética no se detectó, ya que sólo se obtuvo ADN de dos ejemplares, sin embargo, es de esperar que la variación intraespecie exista si se incrementa el tamaño de muestra a lo largo de su distribución.

Cuando se observa la reconstrucción filogenética, se observa una mayor distancia genética de los ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 2 en P. N. Chiloé con respecto a sus pares del continente, ocurriendo algo similar en los ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 3 de R. N. Isla Mocha (Figura 6). Tanto para la isla de Chiloé como para isla Mocha se han descrito depósitos sedimentarios que van desde el Paleozoico hasta el Pleistoceno (Pfaur & Yañez, 1980; Heusser, 1990). Además,

se ha mencionado que la ocupación por parte de la fauna en isla Mocha habría comenzado en el Mioceno (Pfaur & Yañez, 1980). Sin embargo, a pesar de esta distancia genética, las especies de *Ornithonyssus* presentes en estas islas no constituyen especies distintas a las del continente. Se ha señalado que la distancia geográfica que separa a estas islas del continente no es una barrera importante para producir un aislamiento ecológico, lo que permite mantener un flujo genético producto de migraciones, por lo que las relaciones filogenéticas con el continente son similares (Pfaur & Yañez, 1980). A pesar de esto, algunos procesos de especiación peripátrica han sido reportados en isla Mocha (Vianna *et al.*, 2017), un ejemplo es el roedor cola de pincel de Isla Mocha *Octodon pacificus* y su símil del continente *Octodon bridgesii*, evidenciando que entre estas dos especies de roedores existe una baja divergencia genética (0,3%), producto tal vez de un proceso reciente de especiación peripátrica debido al efecto fundador. Si este tipo de proceso de especiación se han observado en estos roedores, se podría esperar que este mismo proceso de especiación se pueda llevar a cabo en sus parásitos.

En definitiva, basados en el concepto de linaje general de especie (de Queiroz, 2007), y mediante el conjunto de evidencias moleculares, morfométricas y morfológicas presentadas, se proponen dos nuevas especies para el género *Ornithonyssus* presentes en roedores de Chile, las cuales serán descritas en el capítulo II. Se postula que la presencia de estas nuevas especies, son resultado de un proceso de especiación peripátrica, mismo patrón de especiación observado en sus principales hospedadores, facilitado por eventos palioclimáticos y biogeográficos.

Sin lugar a dudas, es importante incrementar los esfuerzos de muestreo a lo largo de Chile y recolectar ácaros en zonas que no fueron muestreadas o donde la cantidad de muestras no fue suficiente, de este modo podrían ser incluidas en futuros estudios de este género. Además, y en relación a *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, es necesario incrementar el número de muestras desde donde fueron aislados, con el fin de llegar a obtener un resultado más resolutivo de su posición filogenética. Adicionalmente, es necesario poder encontrar nuevos marcadores

moleculares que aporten mayor evidencia para comprender de mejor forma el origen de este género de ácaros zoonóticos, con potencial riesgo vector de enfermedades tanto para animales de vida silvestre como humanos, y donde Chile ya cuenta con tres especies, de las cuales falta aún mucho por conocer.



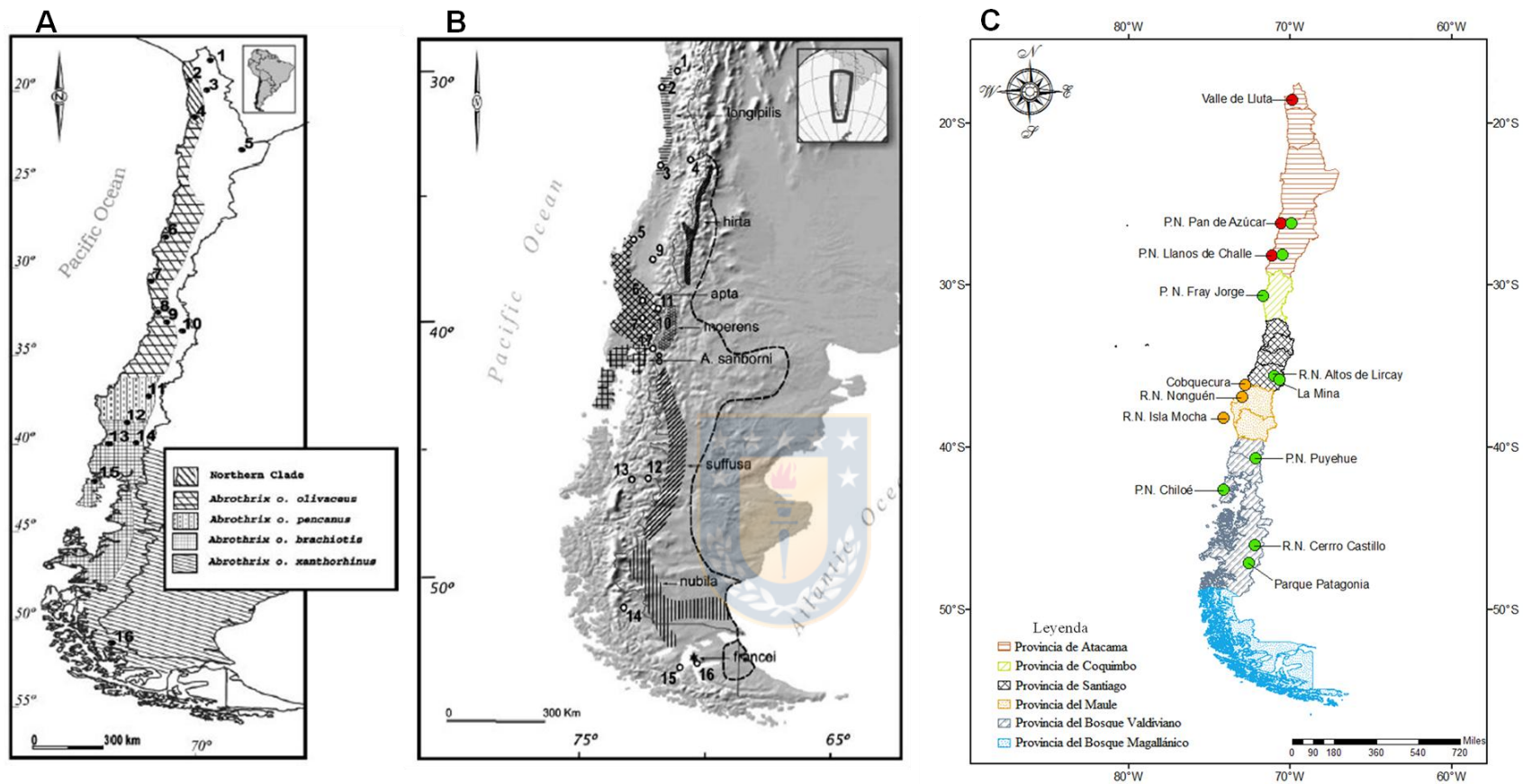


Figura 20. A. Distribución de las subespecies de *Abrothrix olivacea* en Chile (mapa de Rodríguez–Serrano *et al.*, 2006). B. Distribución de las sub especies de *Abrothrix longipilis* en Chile (mapa de Palma *et al.*, 2010). C. Distribución de *Ornithonyssus* spp. en Chile y regiones biogeográficas de Chile según Morrone (2015). Fuente: Elaboración propia.

VII. CONCLUSIONES

En este estudio se determinaron tres especies de *Ornithonyssus* presentes en Chile: *Ornithonyssus* sp. aff. *bacoti*, *Ornithonyssus* nov. sp. 2 y *Ornithonyssus* nov. sp. 3, las cuales presentan una distribución característica ligada a la historia biogeografía del país, que habría influido en la especiación de sus hospedadores. Estas especies de ácaros pueden ser diferenciadas por caracteres morfométricos y morfológicos, además de los moleculares, descartando de este modo la existencia de un complejo de especies.

En relación con los objetivos planteados inicialmente en este trabajo, podemos concluir que:

1.1.– Existen diferencias genéticas entre los individuos analizados del género *Ornithonyssus*, lo que permite identificar tres especies presentes en Chile.

1.2.– Las especies presentes en Chile forman tres clados bien diferenciados con respecto a las otras especies descritas en Sudamérica. Además, *Ornithonyssus* aff. *bacoti* comparte el mismo clado que *O. bacoti*, presentando una ancestro en común.

1.3.– A través de las medidas anatómicas de las especies de *Ornithonyssus* registradas en este estudio, corroboramos que existen tres grupos bien definidos. Además, existe un patrón geográfico de las poblaciones de *Ornithonyssus* a nivel genético. Se pudo observar que en la zona de transición en el norte de Chile, *Ornithonyssus* aff. *bacoti* presenta una morfología mucho más robusta que *Ornithonyssus* sp. 2., lo que puede constituir plasticidad fenotípica intraespecífica. Las tres especies de *Ornithonyssus* presentes en Chile presentan variaciones evidentes en la forma del epistome.

1.4.– Las tres especies de *Ornithonyssus* diferenciadas genéticamente, pueden ser diferenciadas mediante los caracteres morfométricos del largo de la pata IV, largo de la placa dorsal, largo de la pata I y largo del Peritrema. Adicionalmente, la estructura morfológica de mayor relevancia para diferenciar estas especies es la forma terminal del epistome. *Ornithonyssus* aff. *bacoti* presenta un epistome en forma de hoja lisa que se enangosta hasta su punta, *Ornithonyssus* sp. 2 presenta

en su extremo distal una punta con cuatro sierras o dientes de diferentes tamaños (mayor a menor), mientras que *Ornithonyssus* sp. 3 presenta un epistome que termina en una punta prominente y con 11 sierras o dientes de diferente tamaño (Figura 22, Capítulo II).



VIII. REFERENCIAS

1. Adamski, Z., Błoszyk, J. & Gwiazdowicz, D. J. (2008). Individual variability of setal morphology in *Nenteria pandionis* (Acari: Mesostigmata: Uropodina): Genetic variability or aging? *Biologia*, 63(2), 236–244.
2. Anderson, R. M. & Gordon, D. M. (1982). Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations with special emphasis on parasite induced host mortalities. *Parasitology*, 85(2), 375–398.
3. Anderson, R. M. & May, R. M. (1978). May regulation and stability of host–parasite population interactions. I. Regulatory processes. *Journal of Animal Ecology*, 47(1), 219–247.
4. Barriga, O. O. (1965). Hallazgo en Chile de *Liponyssus bacoti* (Hirst, 1913) (Acarina, Dermanyssidae). *Boletín Chileno de Parasitología*, 20(2), 30–3.
5. Beati, L., Nava, S., Burkman, E., Barros-Battesti, D., Labruna, M., Guglielmone, A., Cáceres, A., Guzmán-Cornejo, C., León, R., Durden, L. & Faccini, J. (2013). *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: phylogeography and evidence for allopatric speciation. *BMC Evolutionary Biology*, 13, 267.
6. Beck, W. (2008). Occurrence of a house–infesting Tropical rat mite (*Ornithonyssus bacoti*) on murides and human beings. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 6(4), 245–249.
7. Beck, W. & Fölster–Holst, R. (2009). Tropical rat mites (*Ornithonyssus bacoti*) serious ectoparasites. *Journal of the German Society of Dermatology*, 7(8), 667–670.
8. Beysard, M. and G. Heckel (2014). "Structure and dynamics of hybrid zones at different stages of speciation in the common vole (*Microtus arvalis*)."
Molecular Ecology 23(3), 673–687.
9. Blouin, M. S., Yowell, C. A., Courtney, C. H. & Dame, J. B. (1995). Host movement and the genetic structure of populations of parasitic nematodes. *Genetics*, 141, 1007–1014.

- 10.Bochkov, A. V. & Mironov, S. V. (2008). The phenomenon of phylogenetic synhospitality in acariform mites (acari: acariformes)—the permanent parasites of vertebrates. *Parazitologiya*, 42(2), 81–100.
- 11.Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. L. & Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms. *Journal of Parasitology*, 83: 575-583.
- 12.Bush, G. L. (1975). Modes of animal speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 6, 339–364.
- 13.Clapperton, C. (1994). The quaternary glaciation of Chile: a review. *Revista Chilena de Historia Natural*, 67, 369 – 383.
- 14.Clarke, K. R. (1993). Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, 18(1), 117–143.
- 15.Contreras, L. & Torres–Mura, J. (2009). Biogeografía. En: Muñoz–Pedreros, A. & Yañez, J. (Eds.). *Mamíferos de Chile*. pp. 21–31.CEA, Valdivia, Chile.
- 16.Crofton, H. D. (1971). A quantitative approach to parasitism. *Parasitology*, 62(2), 179–193.
- 17.Dadgostar, S. & Nozari, J. (2018). Classical and geometric morphometric methods reveal differences between specimens of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) from seven provinces of Iran. *Persian Journal of Acarology*, 7(1), 51–60.
- 18.Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), 772.
19. de Queiroz, K. (2007). Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology*, 56(6), 879–886.
- 20.Dhooria, M. S. (2016). *Fundamentals of Applied Acarology*. Springer Science+Business Media Singapore, Gateway East, Singapore.
- 21.di Castri, F. & Hajek, E. R. (1976). *Bioclimatología de Chile*. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
- 22.Dittmar, K. (2000). Evaluation of ectoparasites on the guinea pig mummies of El Yaral and Moquegua valley, in southern Perú. *Chungará*, 32(1), 123–125.

23. Domínguez, J. C. (2014). Estructura y diversidad genética de las poblaciones de topillo campesino (*Microtus arvalis*) en España. *Tesis de Magister*. Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC), Universidad de la Castilla- La Mancha, España.
24. Dowling, A. P. (2006). Mesostigmatid mites as parasites of small mammals: Systematics, ecology, and the evolution of parasitic associations. En: Morand S., B.R., Krasnov & R. Poulin (Eds.). *Micromammals and Macroparasites From Evolutionary Ecology to Management*. pp. 103. Springer–Verlag, Tokyo, Japan.
25. Engelbrecht, A., Matthee, S., Toit, N., & Matthee, C. (2016). Limited dispersal in an ectoparasitic mite, *Laelaps giganteus*, contributes to significant phylogeographic congruence with the rodent host, *Rhabdomys*. *Molecular Ecology*, 25(4), 1006–1021.
26. Espinoza, D. (2002). *Introducción al análisis de patrones en biogeografía histórica*. UNAM, Ciudad de México, México.
27. Evans, G. O. & Till, W. M. (1966). Studies on the British Dermanyssidae (Acari: Mesostigmata I. Part II, Classification. *Bulletin of The British Museum (Natural History) Zoology*, 14(17), 8–370.
28. Fain, A. (1994). Adaptation, specificity and host–parasite coevolution in mites (Acari). *International Journal of Parasitology*, 24(8), 1273–1283.
29. Farjamfar, M., Saboori, A., Nozari, J. & Hosseinaveh, V. (2018). Morphometric analysis in different geographical populations of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) associated with *Apis mellifera* colonies in Iran. *Systematic and Applied Acarology*, 23(10), 1915–1930.
30. Felsenstein J. (1978). Cases in which parsimony and compatibility methods will be positively misleading. *Systematic Zoology*, 27, 401–410.
31. Freeman, S. & Herron, J. C. (2002). *Análisis evolutivo*. Prentice Hall, España.

32. Fuentes, E. & Jaksi, F. (1979). Lizards and rodents: an explanation for their relative species diversity in Chile Lagartijas y roedores: una explicación para su diversidad relativa en Chile. *Archivos de biología y medicina experimentales*, 12, 179–190.
33. Furman, D. P. & Radovsky, F. J. (1963). A new species of *Ornithonyssus* from the White-tailed Antelope Squirrel with a rediagnosis of the genus *Ornithonyssus*. *The Pan-Pacific Entomologist*, 39(2), 75–79.
34. Furman, D. P. (1972). Laelaps mites (Laelapidae: Laelapinae) of Venezuela. *Brigham Young University Science Bulletin*, 17(3), 1-58.
35. Gajic, B., Radulovic, Z., Stevanovic, J., Kulisic, Z., Vucicevic, M., Simeunovic, P., Stanimirovic, Z.. (2013). Variability of the honey bee mite *Varroa destructor* in Serbia, based on mtDNA analysis. *Experimental and Applied Acarology*, 61(1), 97–105.
36. Gelman, A., Carlin, J., Stern, H. & Rubin, D. (2003). *Bayesian Data Analysis*. Chapman and Hall/CRC, Boca Raton, Florida, USA.
37. Gettinger, D., Dick, C. W. & Owen, R. D. (2011). Host associations between laelapine mites (Mesostigmata: Laelapidae) and palustrine rodents in Paraguay: a study of host specificity and cryptic species. *Systematic and Applied Acarology*, 16(2), 145–159.
38. Gettinger, D. & Owen, R. D. (2000). *Androlaelaps rotundus* Fonseca (Acari: Laelapidae) associated with akodontine rodents in Paraguay: a morphometric examination of a pleioxenous ectoparasite. *Revista Brasileira de Biología*, 60(3), 425–434.
39. Gómez-Díaz, E., González-Solís, J., Peinado, M. & Page, R. (2007). Blackwell Publishing Ltd Lack of host-dependent genetic structure in ectoparasites of *Calonectris* shearwaters. *Molecular Ecology*, 16(24), 5204–5215.
40. Heusser, C. (1990). Chilotan piedmont glacier in the southern Andes during the last glacial maximum. *Revista Geológica de Chile*, 17(1), 3–18.
41. Hirst, S. (1913). On three new species of Gamasid mites found on rats. *Bulletin of Entomological Research*, 4(2), 119–124.

42. Iriarte, J. A., Contreras, L. C. & Jaksic, F. M. (1989). A Long-Term Study of a Small-Mammal Assemblage in the Central Chilean Matorral. *Journal of Mammalogy*, 70(1), 79–87.
43. Jiménez, J. E., Feinsinger, P. & Jaksic, F. M. (1992). Spatiotemporal Patterns of an Irruption and Decline of Small Mammals in North central Chile. *Journal of Mammalian*, 73(2), 356–364.
44. Johnson, R. A. & Wichern, D. W. (1998). *Applied multivariate statistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, USA.
45. Kaczmarek, N. J. & Marquardt, T. (2006). Speciation processes within the Korean Peninsula based on the mites from the family Zerconidae (Acari: Mesostigmata). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9(3), 223–226
46. Klompen, J. S., Black, W. C. Keirans, J. E. & Norris, D. E. (2000). Systematics and Biogeography of Hard Ticks, a Total Evidence Approach. *Cladistics*, 16(1), 70–102
47. Knee, W., Beaulieu, F., Skevington, J., Kelso, S., Cognato, A. & Forbes, M. (2012a). Species Boundaries and Host Range of Tortoise Mites (Uropodoidea) Phoretic on Bark Beetles (Scolytinae), Using Morphometric and Molecular Markers. *PLoS One*, 7(10), e47243.
48. Knee, W., Beaulieu, F., Skevington, J., Kelso, S. & Forbes, M. (2012b). Cryptic species of mites (Uropodoidea: *Uroobovella* spp.) associated with burying beetles (Silphidae: Nicrophorus): The collapse of a host generalist revealed by molecular and morphological analyses. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65, 276–286.
49. Krantz, G. H. & Walter, D. E. (2009). Collecting, rearing, and preparing specimens. En: Krantz, G. H. & Walter, D. E. (Eds.). *A Manual of Acarology*. pp. 83–96. University Press, Texas, USA.
50. Krasnov, B. R., Stanko, M. & Morand, S. (2006a). Are Ectoparasite Communities Structured? Species Co-Occurrence, Temporal Variation and Null Models. *Journal of Animal Ecology*, 75(6), 1330–1339.

51. Krasnov, B. R., Stanko, M., Khokhlova, I. S., Mosansky, L., Shenbrot, G. I., Hawlena, H. & Morand, S. (2006b). Aggregation and species coexistence in fleas parasitic on small mammals. *Ecography*, 29(2), 159–168.
52. Kreeger, T. J. & Arnemo, J. M. (2012). *Handbook of wildlife chemical immobilization*. Intl Wildlife Veterinary Services, China.
53. Lareschi, M. (2010). A new species of *Androlaelaps* Berlese, 1903 (Acari: Parasitiformes) parasitizing an akodontine rodent (Cricetidae, Sigmodontinae) in North eastern Argentina. *Systematic Parasitology*, 76(3), 199–203.
54. Lareschi, M. (2011). Laelapid mites (Parasitiformes, Gamasida) parasites of *Akodon philipmyersi* (Rodentia, Cricetidae) in the Northern Campos Grasslands, Argentina, with the description of a new species. *Journal of Parasitology*, 97(5), 795–799.
55. Lareschi, M. & Galliari, C. (2014). Multivariate discrimination among cryptic mites of the genus *Androlaelaps* (Acari: Mesostigmata: Laelapidae) parasitic of sympatric akodontine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae) in northeastern Argentina: possible evidence of host switch followed by speciation, with the description of two new species. *Experimental and Applied Acarology*, 64(4), 479–499.
56. Lareschi, M. & Gettinger, D. (2009). A new species of *Androlaelaps* (Acari: Parasitiformes) from the akodontine rodent *Deltamys kempi* Thomas, 1919 in La Plata River Basin, Argentina. *Journal of Parasitology*, 95(6), 1352–1355.
57. Lareschi, M. & Sánchez-López, M. L. (2000). Ectoparásitos (Phthiraptera y Acari) de roedores (Rodentia: Muridae: Sigmodontinae) en el delta bonaerense del río Paraná, Argentina. *Revista Sociedad Entomológica Argentina*, 59(1-4), 17-19.
58. Lareschi, M. & Velazco, P. (2013). Laelapinae mites (Acari, Parasitiformes, Laelapidae) parasitic of sigmodontine rodents from northern Peru, with the description of a new species from *Akodon aerosus* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae). *Journal of Parasitology*, 99(2), 189–193.

59. Librado, P. & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11), 1451–1452.
60. Lindquist, E. E., Krantz, G. H. & Walter, D. E. 2009. Order Mesostigmata. En: Krantz, G. H. & Walter, D. E. (Eds.). *A manual of Acarology*. pp. 124–232. University Press, Texas, EE.UU.
61. Mangold, A. J., Bargues, M. D. & Mas-Coma, S. (1998). Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research*, 84(6), 478–484.
62. Martins-Hatano, F. A., Gettinger, D. B., Manhães, M. C. & Bergallo, H. G. (2012). Morphometric variations of laelapine mite (Acari: Mesostigmata) populations infesting small mammals (Mammalia) in Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 72(3), 595–603.
63. Meserve, P. L. (1981). Trophic Relationships among Small Mammals in a Chilean Semiarid Thorn Scrub Community. *Journal of Mammalogy*, 62(2), 304–314.
64. Meserve, P. L., Lang, B. K., Murua, R., Muñoz-Pedreros, A. & Gonzalez, L. A. (1991). Characteristics of a terrestrial small mammal assemblage in a temperate rainforest in Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 64(1), 157–169.
65. Micherdzinski, W. (1980). *Eine taxonomische analyse der Familie Macronyssidae Oudemans, 1936. I. Subfamilie Ornithonyssinae Lange, 1958 (Acarina, Mesostigmata)*. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, Kraków.
66. Morrone, J. J. (2015). Biogeographical regionalisation of the Andean region. *Zootaxa*, 3936(2), 207–236.
67. Muñoz-Pedreros, A. & Gil, C. (2009). Importancia de los mamíferos silvestres chilenos. En: Muñoz-Pedreros, A. & Yañez, J. (Eds.). *Mamíferos de Chile*. pp. 21–31. CEA, Valdivia, Chile.

68. Murúa, R. (1999). Hantavirus en Chile: los mastozoólogos como un grupo ocupacional de riesgo epidemiológico. *Revista Chilena de Historia Natural*, 72(1), 7–12.
69. Nieri–Bastos, F. A., Labruna, M. B., Marcili, A., Durden, L. A., Mendoza–Uribe, L. & Barros–Battesti, D. M. (2011). Morphological and molecular analysis of *Ornithonyssus* spp. (Acari: Macronyssidae) from small terrestrial mammals in Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, 55(4), 305–327.
70. Nieberding, C., Morand, S., Libois, R. & Michaux, J. (2004). A parasite reveals cryptic phylogeographic history of its host. *Proceedings of the Royal Society of London*, 271(1557), 2559–2568.
71. Nieberding, C., Durette–Desset, M., Vanderpoorten, A., Casanova, J., Ribas, A., Deffontaine, V., Feliu, C., Morand, S., Libois, R. & Michaux, J. (2008). Geography and host biogeography matter for understanding the phylogeography of a parasite. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47(2), 538–554.
72. Okassa, M., Tixier, M., Cheval, B. & Kreiter, S. (2009). Molecular and morphological evidence for a new species status within the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae). *Canadian Journal of Zoology*, 87(8), 689–698.
73. O.P.S. (1999). *Hantavirus en las Américas. Guía para el diagnóstico, el tratamiento, la prevención y el control*. Cuaderno técnico N° 47. Washington, D.C.
74. O'Reilly, J. E., Puttick, M. N., Parry, L., Tanner, A. R., Tarver, J. E., Fleming, J., Pisani, D. & Donoghue, P. (2016). Bayesian methods outperform parsimony but at the expense of precision in the estimation of phylogeny from discrete morphological data. *Biology Letters*, 12, 20160081.
75. Padula, R., Figueroa, M., Navarrete, E., Pizarro, R., Cadiz, C., Bellomo, C., Jofré, L., Zaror, E., Rodríguez & Murúa, R. (2004). Transmission Study of Andes Hantavirus Infection in Wild Sigmodontine Rodents. *Journal of Virology*, 78(21), 11972–11979.

76. Palma, R. E., Marquet, P. A. & Boric-Bargetto, D. (2005). Inter- and intraspecific phylogeography of small mammals in the Atacama Desert and adjacent areas of northern Chile. *Journal of Biogeography*, 32(11), 1931–1941.
77. Palma, R. E., Cancino, R. & Rodríguez-Serrano, E. (2010). Molecular systematics of *Abrothrix longipilis* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) in Chile. *Journal of Mammalogy*, 91(5), 1102–1111.
78. Peña, L. E. (1966). A preliminary attempt to divide Chile into entomofaunal regions, based on the Tenebrionidae (Coleoptera). *Postilla*, 97, 1–17.
79. Peña, C. (2011). Métodos de inferencia filogenética. *Revista Peruana de Biología*, 18(2), 265–267.
80. Pefaur, J. & Yáñez, J. (1980). Ecología Descriptiva de la Isla Mocha (Chile), en Relación al Poblamiento de Vertebrados. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural*, 37, 103–112.
81. Poulin, R. (1993). The disparity between observed and uniform distribution: a new look at parasite aggregation. *International Journal of Parasitology*, 23(7), 937–944.
82. Radovsky, F. J. (2007). A new species of *Ornithonyssus* (Acari: Macronyssidae) in western north America and a review of nearctic species. *International Journal of Acarology*, 33(3), 223–229.
83. Radovsky, F. J. (2010). *Revision of genera of the parasitic mite family Macronyssidae (Mesostigmata: Dermanyssoidea) of the world*. Indira publishing house, West Bloomfield, USA.
84. Remmert, H. (1981). Body size of terrestrial arthropods and biomass of their populations in relation to the abiotic parameters of their milieu. *Oecologia*, 50(1), 12–13.
85. Rodríguez-Serrano, E., Cancino, R. & Palma, R. E. (2006). Molecular phylogeography of *Abrothrix olivaceus* (Rodentia: Sigmodontinae) in Chile. *Journal of Mammalogy*, 87(5), 971–980.

86. Roy, L., Dowling, A. P., Chauve, C. M. & Buronfosse, T. (2009). Delimiting species boundaries within *Dermanyssus* Dugès, 1834 (Acari: Dermanyssidae) using a total evidence approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50(3), 446–470.
87. Rózsa, L., Reiczigel, J. & Majoros, G. (2000). Quantifying parasites in samples of hosts. *Journal of Parasitology*, 86: 228-232.
88. Shanker, K. Vijayakumar, S. P. & Ganeshiah, K. N. (2007). Unpacking the species conundrum: philosophy, practice and a way forward. *Journal of Genetics*, 96(3), 413–4303.
89. Shaw, D. J., Grenfell, B. T. & Dobson, A. P. (1998). Patterns of macroparasite aggregation in wildlife host populations. *Parasitology*, 117(6), 597–610.
90. Silva-de la Fuente, M. C. (2014). Ecología de ácaros Mesostigmata asociados a roedores del norte de Chile. *Tesis de Magíster*. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
91. Strandtmann, R. W. & Wharton, G. W. (1958). *A manual of mesostigmatid mites parasitic on vertebrates*. Institute of Acarology, Maryland, USA.
92. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725–2729.
93. Teta, P. & Pardiñas, U. (2014). Variación morfológica cualitativa y cuantitativa en *Abrothrix longipilis* (Cricetidae, Sigmodontinae). *Mastozoología Neotropical*, 21(2), 291–309.
94. Tougard, C., Renvoisé, E., Petitjean, A. & Quéré, J. (2008). New Insight into the Colonization Processes of Common Voles: Inferences from Molecular and Fossil Evidence. *PLoS ONE*, 3(10), e3532.
95. Yunker, X. & Radovsky, F. J. (1967). The Dermanyssid Mites of Panama (Acarina : Dermanyssidae). En: Wenzel, R. L. & Tipton, V. J. (Eds.). *Ectoparásitos de Panamá*. pp. 83–104. Field Museum of Natural History, Chicago, Illinois, USA.

96. van der Mescht, L., Matthee, S. & Matthee, C. (2015). Comparative phylogeography between two generalist flea species reveal a complex interaction between parasite life history and host vicariance: parasite–host association matters. *Evolutionary Biology*, 15(1), 105.
97. Vianna, J., Noll, D., Moreno, L., Silva, C., Muñoz–Leal, M., Najle, M. & González–Acuña, D. (2017). Record of an alleged extinct rodent: molecular analyses of the endemic *Octodon pacificus* from Chile. *Journal of Mammalogy*, 98(2), 456–463.
98. Walter, D. E. & Proctor, H. C. (2013). *Mites: ecology, evolution, and behaviour: life at a microscale*. Springer, NY, USA.



CAPÍTULO II

DESCRIPCIÓN DE TRES NUEVAS ESPECIES DEL GÉNERO *Ornithonyssus* ASOCIADAS A ROEDORES DE CHILE.

I. INTRODUCCIÓN

El género *Ornithonyssus* hasta la fecha está constituido por 13 especies válidas, todas presentes exclusivamente en América, a excepción de *O. sylviarum*, *O. bursa*, *O. bacoti*, cuya distribución se considera cosmopolita. Estas especies son *O. sylviarum*, *O. bursa*, *O. bacoti*, *O. wernecki*, *O. pereirai*, *O. brasiliensis*, *O. vitzthumi*, *O. monteiroi*, *O. matogrosso*, *O. aridus*, *O. coendou*, *O. longisetosus* y *O. hypertrichus* (Furman & Radovsky, 1963; Yunker & Radovsky, 1967; Micherdzinski, 1980; Radovsky, 2007; Radovsky, 2010 y Nieri–Bastos *et al.*, 2011). De estas especies sólo *O. sylviarum* y *O. bursa* parasitan por lo general aves, mientras que el resto de las especies parasitan principalmente roedores. De estas 13 especies, cinco, *O. bacoti*, *O. bursa*, *O. sylviarum*, *O. wernecki* y *O. aridus*, se han registrado parasitando a humanos, y también fauna silvestre, (Furman & Radovsky, 1963).

En Chile la presencia de *O. bacoti* ha sido reportada por Barriga (1965) en ratas de laboratorio (*R. rattus*), mientras que Silva–de la Fuente (2014) los registró sobre diferentes roedores de vida silvestre. Adicionalmente, Barriga & Donckaster (1965) reportan por primera vez casos de dermatitis en humanos causadas por *O. bacoti*; lo que se suma a un brote de *O. bacoti* en 2007 que afectó a varios médicos que compartían la residencia en un hospital antiguo en Santiago de Chile (Jofré *et al.*, 2009).

Los análisis moleculares realizados en este estudio evidencian la presencia de tres especies putativas distribuidas a lo largo de Chile y asociadas a roedores. Sumado a lo anterior, se pudo establecer algunas variables morfométricas y morfológicas, que en su conjunto, sirven para diferenciar las especies halladas en Chile. Por lo tanto, de las 13 especies descritas dentro del género *Ornithonyssus*, se suman tres nuevas especies para Chile (una especie aff. *bacoti*) y descartando hasta el momento la presencia en Chile de la especie cosmopolita *O. bacoti*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar los análisis morfológicos y morfométricos, fueron analizados 150 ejemplares de *Ornithonyssus* sp. extraídos desde ocho especies de roedores y 13 localidades: Valle de Lluta (*R. rattus*); P. N. Pan de Azúcar (*P. darwini*) P. N. Llanos de Challe (*P. darwini*); P. N. Bosque Fray Jorge (*P. darwini*, *A. longipilis* y *A. olivacea*); R. N. Altos de Lircay (*L. micropus*); La Mina (*A. olivacea*); Cobquecura (*A. olivacea*); R. N. Nonguén (*A. hirta*); R. N. Isla Mocha (*A. hirta*); P. N. Puyehue (*A. sanborni*); P. N. Chiloé (*A. olivacea*); R. N. Cerro Castillo (*Ch. macronyx*) y Parque Patagonia (*L. micropus*) (Figura 1, Capítulo I). Dos individuos por localidad y hospedador fueron preparados para ser fotografiados en microscopio electrónico de barrido (Hitachi SU-3500).

Para mayor información sobre permisos, sitios de capturas, procesamiento de roedores y métodos de identificación de las especies de ácaros consultar Capítulo I, sección IV en Metodología (página 30), puntos 1.1 Área de muestreo, 1.2 Captura y procesamiento de roedores, 1.3 Identificación de las especies de ácaros *Ornithonyssus* y 1.3.2 Morfometría y morfología.

En relación a los preparados, estos se fijaron en portaobjetos individuales con medio Berlese (Krantz & Walter, 2009), luego fueron observados bajo microscopio óptico 400x (Leica DM 1000 LED) y medidos mediante un micrométrico ocular (0,01mm) para finalmente transformar las medidas en μm .

Los caracteres utilizados y su abreviación son los siguientes: GNATOSOMA: Lpcx (largo seta palpocoxal), Lh2 (largo seta hipostomática posterior externa), Lh3 (largo seta hipostomática interna). IDIOSOMA DORSAL: largo placa dorsal (LPD), ancho placa dorsal a la altura de seta J1 (ADP J1), ancho placa dorsal a la altura de seta S5 (APD S5), largo seta j1 (j1), largo seta z5 (z5), largo seta J1 (J1), largo seta Z4 (Z4), largo seta Z5 (Z5), largo microseta placa dorsal entre setas Z4 y S5 (MPD), largo peritrema (L.per.), ancho peritrema (A.per.). IDIOSOMA VENTRAL: distancia entre setas st1 (st1-st1), largo seta s1 (Lst1), distancia entre setas st2 (st2-st2), largo seta st2 (Lst2), distancia entre setas st3 (st3-st3), largo seta st3 (Lst3), ancho placa genital (APG), largo placa genital (LPG), ancho placa anal (APA), largo placa anal (LPA), largo seta adanal (Lad), largo seta postanal (Lpa),

largo cribum (Lcr), PATAS: largo seta coxa I (Lscox I), largo seta coxa II (Lscox II), largo seta coxa III (Lscox III), largo seta coxa IV (Lscox IV), largo espina coxa II (LECOx II), ancho espina coxa II (AECOx II), largo pata I (LP I), largo pata II (LP II), largo pata III (LP III), largo pata IV (LP IV).



III. RESULTADOS

En relación a los caracteres morfométricos y análisis estadísticos realizados en el capítulo I, se proporcionan los tamaños asociados a las tres nuevas especies de ácaros *Ornithonyssus* para Chile, destacando que los ácaros de la zona sur tienden a ser de mayor tamaño que los de la zona norte.

Tabla 1. Resumen de medidas anatómicas (μm) de las tres especies del género *Ornithonyssus* presentes en Chile. Entre paréntesis rangos de medidas.

Caracteres (μm)	<i>Ornithonyssus</i> aff. <i>bacoti</i> (n=20)	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2 sp. nov. (n=87)	<i>Ornithonyssus</i> sp. 3 sp. nov. (n=30)
st3–st3	118 (103–124)	125 (108–149)	124 (108–136)
Lst3*	63 (57–77)	67 (51–85)	73 (64–82)
APG**	111 (90–129)	120 (77–154)	120 (95–154)
LPG*	309 (283–335)	330 (280–404)	339 (317–363)
APA**	79 (77–85)	85 (64–103)	85 (77–90)
LPA**	154 (136–167)	174 (142–206)	177 (157–206)
ad	46 (33–52)	45 (33–51)	45 (41–54)
pa***	50 (41–57)	51 (36–69)	59 (51–72)
Lcr	20 (13–26)	23 (13–31)	21 (15–28)
LP I*	607 (533–700)	701 (533–816)	751 (669–818)
LP II**	510 (432–587)	583 (443–682)	600 (533–656)
LP III**	475 (404–579)	565 (427–661)	564 (515–615)
LP IV*	640 (551–759)	770 (553–841)	756 (669–813)
Lscox I*	43 (36–64)	49 (31–64)	53 (33–64)
Lscox II*	43 (39–51)	51 (39–64)	56 (46–64)
Lscox III**	33 (28–39)	39 (31–46)	39 (33–44)
Lscox IV***	36 (31–41)	37 (28–51)	39 (33–44)
LECOx II**	17 (13–21)	21 (13–26)	20 (15–26)
AECOx II	10 (5–13)	10 (5–13)	10 (5–13)

Continuación tabla 1.

Caracteres (μm)	<i>Ornithonyssus</i> aff. <i>bacoti</i> (n=20)	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2 sp. nov.(n=87)	<i>Ornithonyssus</i> sp. 3 sp. nov. (n=30)
Lpcx**	25 (21–28)	28 (21–39)	28 (26–31)
Lh2**	27 (26–31)	29 (21–41)	30 (26–33)
Lh3*	55 (51–64)	60 (41–77)	68 (51–80)
APD J1*	136 (131–160)	163 (134–244)	170 (167–193)
APD S5**	48 (39–62)	64 (41–82)	65 (62–77)
LPD**	633 (566–775)	726 (574–896)	749 (656–841)
j1*	39 (37–44)	43 (33–51)	45 (44–51)
z5***	84 (69–93)	77 (72–103)	96 (72–116)
J1***	78 (69–93)	77 (69–108)	91 (77–111)
Z4*	73 (67–80)	75 (62–103)	82 (80–103)
Z5*	77 (72–82)	76 (64–108)	91 (87–103)
L.Per.*	215 (185–252)	245 (140–324)	302 (280–347)
A.Per.***	14 (5–31)	7 (5–10)	9 (8–13)
MPD	14 (10–18)	13 (8–21)	13 (10–15)
APE**	130 (118–139)	136 (116–160)	136 (108–149)
LPE	55 (41–67)	52 (36–67)	56 (51–69)
st1–st1*	72 (67–77)	78 (62–93)	82 (69–90)
Lst1	54 (51–64)	57 (46–69)	56 (51–64)
st2–st2**	101 (95–106)	108 (72–134)	112 (95–124)
Lst2	62 (54–77)	62 (51–77)	65 (51–77)

Fuente: Elaboración propia.

SISTEMÁTICA

Macronyssidae Oudemans, 1936

Ornithonyssus Sambon, 1928

Omithonyssus Sambon, 1928: 105; Bregetova, 1956: 163; Strandtmann & Wharton, 1958: 81; Furman & Radovsky, 1963: 89; Evans & Till, 1966: 316; Micherdzinski, 1980: 14; Shepherd & Narro 1983: 347; Cruz, 1983: I; Domrow, 1987: 857.

Liponyssus de autor, en parte, Kolenati, 1858 [Ver Radovsky 1967].

Macronyssus de autor, en parte, Kolenati, 1858.

Leiognathus Canestrini, 1884: 1573, homonimia junior de *Leiogllathus* Lacepede, 1802 (Pisces) (ver Sambon 1928).

Bdellonyssus Fonseca, 1941: 264. (Especie tipo: *Leiognathus bacoti* Hirst, 1913, por designación original).

Neoichoronyssus Fonseca, 1941: 264. (Especie tipo: *Liponyssus wernecki* Fonseca, 1941, por designación original).

Fonsecaonyssus Radford, 1950: 373 (Especie tipo: *Dermanyssus sylviarum* Canestrini and Fanzago, 1877, por designación original y monotípica).

Especie tipo: *Dermanyssus sylviarum* Canestrini and Fanzago, 1877, por designación original y monotípica

Parásitos hematófagos de mamíferos y aves. Adultos con algunas setas idiosómicas, y algunas setas de pierna, excepto en *O. wernecki*, que tienen una sola ramificación en la mitad distal. Hembra con escudo dorsal completo, excepto en *O. aridus*, dejando gran parte de la región opisthonotal desarmada; j3 y J5 ausentes; máximo de 3–4 pares de setas en el margen posterior del escudo comprende Z3–Z5 y S5, con Z4 bastante pequeña cuando está presente. Placa esternal de tamaño moderado, nunca extremadamente corto; con st1–st3 en el escudo o st3 a veces fuera de éste. Placa epiginal o genital con un par habitual de setas genitales y sin setas; proceso medial poco robusto. Espina anterior de la

coxa II variable, desde ausente hasta bien desarrollada, crestas ventrales y espinas ausentes de coxae, excepto en la coxa I de *O. wernecki*; segmentos de piernas generalmente holotricos, excepto genu y tibia III y genu IV, cada uno con una seta adicional (como en adultos de otros géneros avanzados de Macronyssidae). Trocánter palpal de la hembra con pequeño proceso que surge anteriormente; Chelae sin procesos (Radovsky, 2007).

Ornithonyssus aff. *bacoti* (**Figuras 1–8; Figuras 22–23; medidas tabla 1**).

Hembra.

PLACA DORSAL (PD): Se estrecha hacia caudal, reduciéndose a nivel de las setas J1 un entre un 21–36% y a nivel de la seta S5 un su reducción es entre un 82–77% del ancho máximo (tabla 1); este estrechamiento es más evidente en los ejemplares de las localidades de P. N. Pan de Azúcar y P. N. Llanos de Challe, que en los individuos de Valle de Lluta; porción prodosomal con 11 pares de setas; el opistosoma presenta 14 setas incluyendo los tres pares de setas marginales (Z3, S5 y Z5), además de un par de microseta entre las setas Z4 y Z5. Todas las setas presentes en la placa dorsal presentan una ramificación y se extienden más allá de la base de la siguiente seta. Zona del prosoma y opistosoma descubiertas de placas es moderadamente trícosa. **GNATOSOMA:** Lo que destaca en esta parte es el epistome con una forma de hoja y desprovista de sierras o dientes en su extremo superior (Figura 8). **PERITREMAS:** En las muestras de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar, los peritremas son gruesos en comparación con los peritremas presentes en los individuos encontrados en Valle de Lluta, presentando una relación de 5,5:1, Todos los individuos presentan peritremas que inician entre la coxa III y IV, terminando en la mitad de la coxa II. La placa peritremática inicia por debajo de la coxa IV, es continua, a nivel del estigma presenta dos lóbulos, uno en la parte posterior y otro en la parte anterior, para finalizar en forma de la navaja de un cuchillo en la mitad de la coxa I. **PLACA ESTERNAL (PE):** Más ancha que larga, presentando una proporción de 2,6:1; margen posterior es cóncavo; setas st1, st2 y st3 todas presentes dentro de la

placa, lisas. **PLACA GENITAL (PG):** Porción del ovipositor ancho, rugoso, con un proceso que solapa la PE hasta la seta st2 de la PE. Presenta un estrechamiento a partir del par de setas genitales para terminar con una punta redondeada. Setas genitales lisas. **PLACA ANAL (PA):** Ancha en su porción anterior, para luego estrecharse a partir de las setas adanales, las cuales se ubican distales al margen posterior de la apertura anal. Setas paraanales y anal lisas. Todas las setas ventrales en las porciones libres de placas presentan una ramificación. **PATAS:** Patas I y IV más largas que patas I y II, presentando una proporción aproximada de 1,3:1, Todas las patas se estrechan hacia distal. Todas las setas de las patas son ramificadas. Coxa II con evidente espina anteroventral. En el caso de los ejemplares de P. N. Pan de Azúcar y P. N. Llanos de Challe las setas de coxa II y III son más cortas y anchas (como espinas), mientras que en los individuos del Valle de Lluta presentan setas con una forma setiforme. Quetotaxia de las patas normal para los dermanysoides, con gena I (2 – 3/2, 3/1 – 2); tibia I (2 – 3/2, 3/1 – 2); gena II (2 – 3/1, 2/1 – 2); gena III (2 – 1/2, 2/1 – 2); tibia (2 – 1/1, 2/1 – 2) y gena IV (2 – 2/1, 3/1 – 1), en ninguno de los casos observados se pierde alguna seta ventral de las patas, Porción distal del tarso I con zona sensorial propia del género. Trocanter del palpo con proceso ventral ubicado proximal a la seta (Figura 21 B).

Material tipo: La descripción se realizó sobre 19 ejemplares hembras. La serie tipo fue recolectada desde las localidades de Valle de Lluta (18°19'34,08"S – 70°00'31,89"O), P. N. Pan de Azúcar (26°10'39,23"S – 70°32'58,34"O) y P. N. Llanos de Challe (28°08'35,33"S – 71°06'51,87"O). Los holotipos y paratipos fueron depositados en la CDCA (Colección del Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Concepción, Chillán, Chile), bajo los números CDCA 137 – 155 (Figura 22).

Hospedadores: *Rattus rattus* Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae) y *Phyllotis darwini* (Waterhouse, 1837) (Rodentia: Cricetidae).

Observaciones: Esta especie es morfológicamente similar a *O. bacoti*, *O. monteiroi*, *O. brasiliensis*, *O. vitzthumi*, *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. y *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. Sin embargo, se diferencia de *O. bacoti* en que en esta especie el APD y LPE es de mayor tamaño, mientras que LPD y LPG son

más pequeñas que en *Ornithonyssus* aff. *bacoti* (tabla 10). Por otra parte, en *O. bacoti* se describe un epistome que disminuye de tamaño hasta un punto (Evans & Till, 1966), mientras que *Ornithonyssus* aff. *bacoti* presenta un epistome en forma de hoja lisa con el extremo distal romo, sin diseño en su parte superior como es el caso de *Ornithonyssus* sp. 2 sp.nov. y sp. 3 sp.nov. (Figuras 8, 14 y 20). *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, se diferencia de *O. monteiroi* porque esta última especie de mayor tamaño en LPD, APD, LPE, APE y LPA. Las diferencias de esta especie aff. *bacoti* con *O. vitzthumi* radican en que ésta última tiene un APA y APE superior, mientras que un LPG y LPA inferior que *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Además, según Nieri-Bastos *et al.* (2011), la PA de *O. vitzthumi* no presenta ornamentaciones, mientras que en *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, esta placa es ornamentada. Finalmente, *Ornithonyssus* aff. *bacoti* difiere de *O. brasiliensis* porque esta última especie presenta un mayor tamaño en APD, LPE, APE, LPG y LPA, mientras que sólo presenta un LPD menor que aff. *bacoti*. Nieri-Bastos *et al.* (2011) también señala que *O. brasiliensis* no presenta ornamentaciones en PA. Cabe destacar que en las descripciones de *O. monteiroi*, *O. brasiliensis* y *O. vitzthumi*, el epistome no se describe.

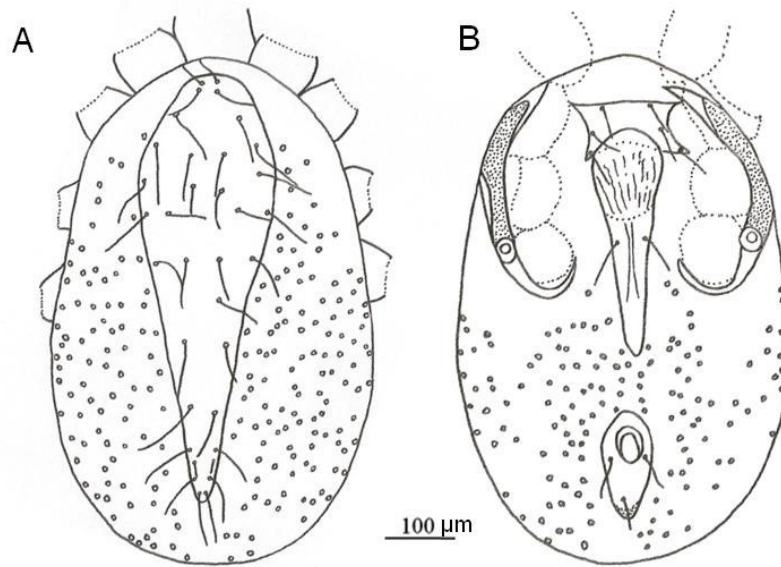


Figura 1. A. Vista dorsal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. B. Vista ventral de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Localidades de P. N. Pan de Azúcar y P. N. Llanos de Challe. Fuente: Elaboración propia.

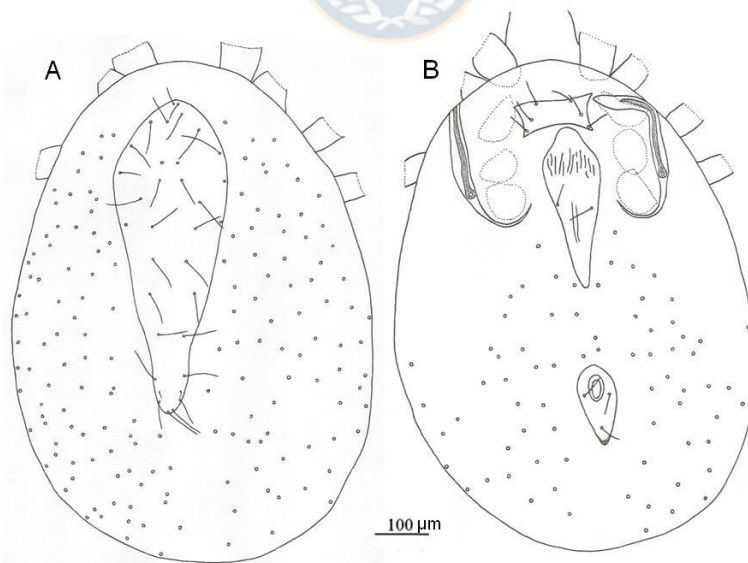


Figura 2. A. Vista dorsal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. B. Vista ventral de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Localidad Valle de Lluta. Fuente: Elaboración propia.

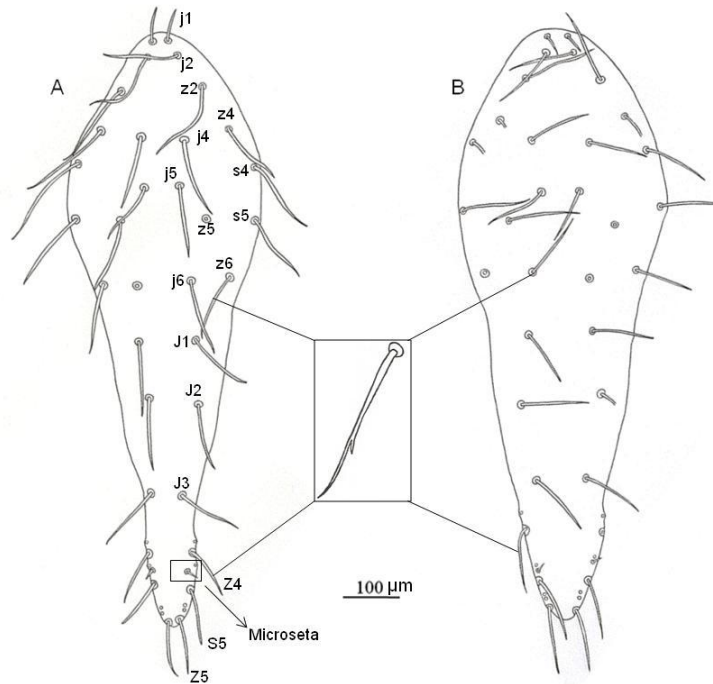


Figura 3. Placa dorsal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. Letras y números corresponden a los nombres de las setas de la placa dorsal. Seta en recuadro resalta las características setas de *Ornithonyssus* con una ramificación simple. Fuente: Elaboración propia.

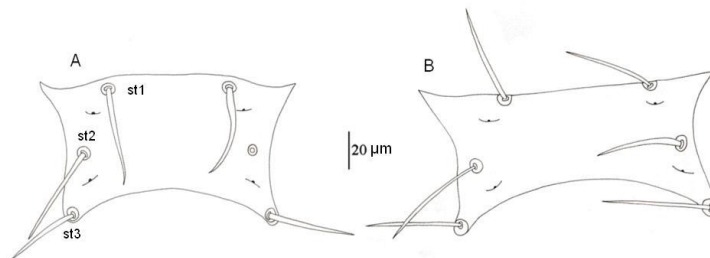


Figura 4. Placa esternal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. Setas esternales st1, st2 y st3. Fuente: Elaboración propia.

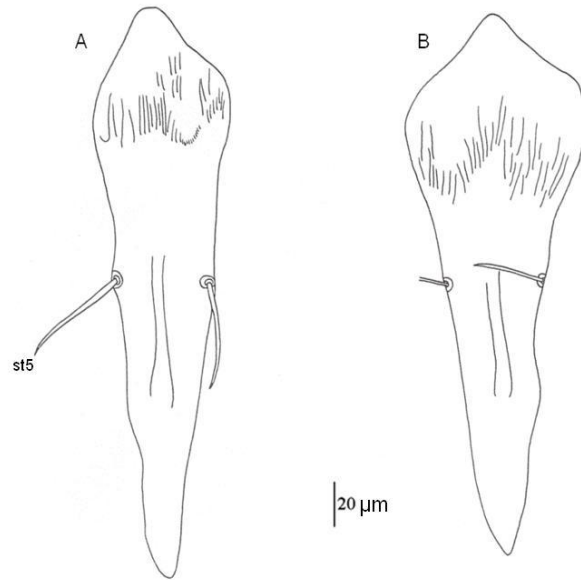


Figura 5. Placa genital de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. st5 seta genital presente en placa genital. Fuente: Elaboración propia.

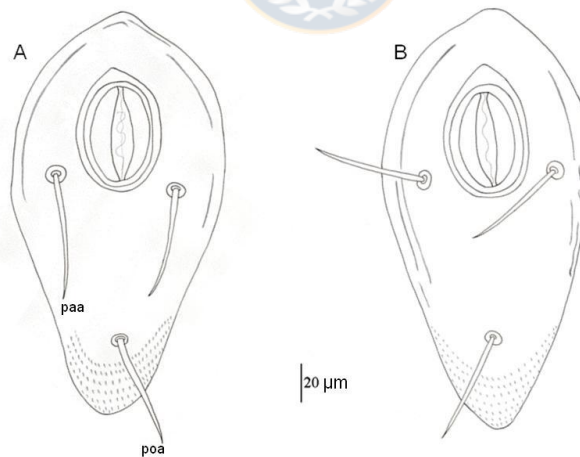


Figura 6. Placa anal de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. Setas paa (seta adanal) y poa (seta anal). Fuente: Elaboración propia.

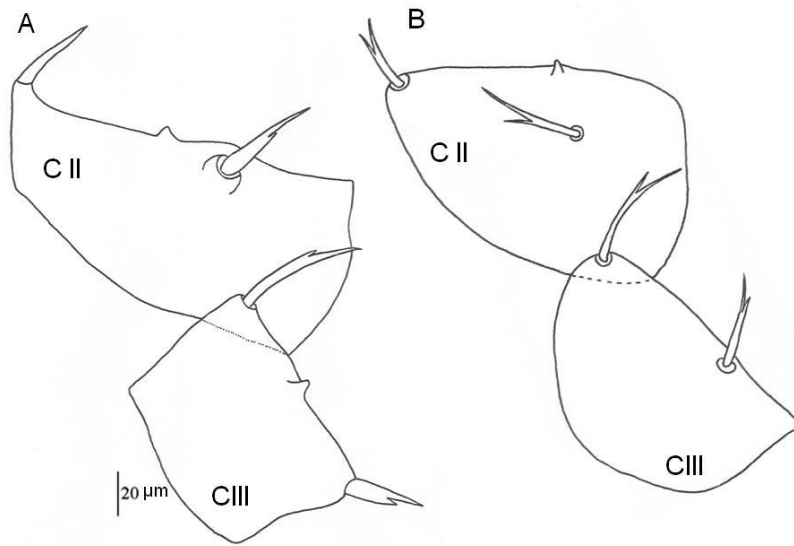


Figura 7. Comparación de setas coxales entre los ejemplares de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. A. Ejemplar tipo de P. N. Llanos de Challe y P. N. Pan de Azúcar. B. Ejemplar tipo de Valle de Lluta. coxII (C II; coxa II) y coxIII (C III; coxa III). Fuente: Elaboración propia.

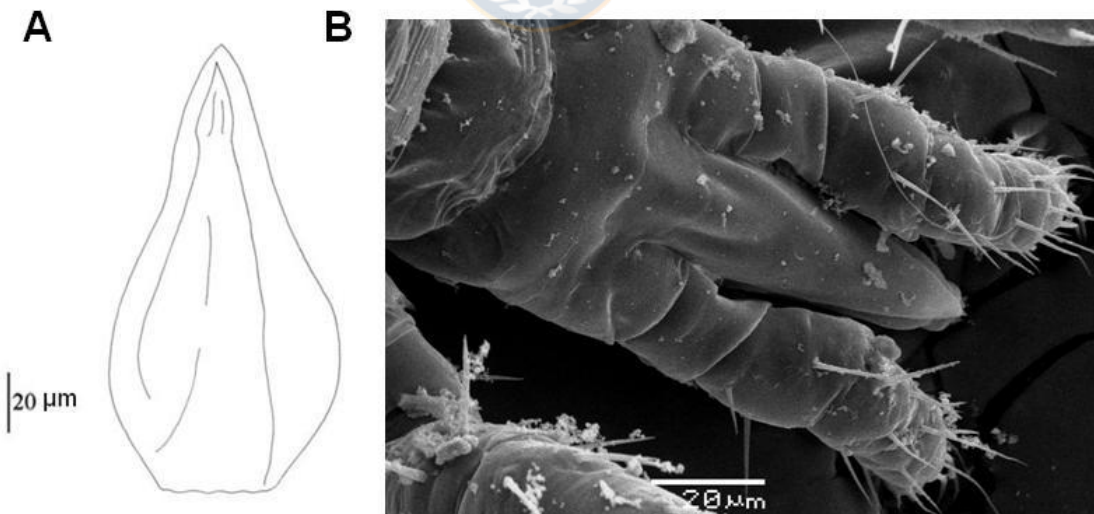


Figura 8. Epistome de *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Fuente: Elaboración propia.

Ornithonyssus sp. 2 sp. nov. (Figuras 9–14; Figuras 22–23; medidas tabla 1).

PD. Esta placa se estrecha a partir de la seta J1 a un 37,5% del total, para finalmente llegar a presentar su menor ancho a la altura de la seta S5 con una reducción de un 75,4% del ancho total. Porción prodosomal de la placa con 11 pares de setas; porción opistosomal presenta 14 pares de setas, incluyendo los tres pares de setas marginales (Z3, S5 y Z5), además de un par de microsetas entre las setas Z4 y S5. Todas las setas de la placa dorsal presentan una pequeña ramificación y se extienden más allá de la base de la siguiente seta. Zona del prosoma y opistosoma descubiertas de placas es moderadamente trícica. **GNATOSOMA.** Lo que destaca en esta parte es el epistome con una base con bordes irregulares (rugosos) y en su extremo superior se observa una gran punta y cuatro sierras o dientes de diferentes tamaños **PERITREMAS.** En muestras de P. N. Bosque Fray Jorge, R. N. Altos de Lircay, La Mina, R. N. Cerro Castillo y Parque Patagonia, los peritremas inician entre la coxa III y IV para extenderse hasta la mitad de la coxa II. Mientras que en los ejemplares de P. N. Chiloé, los peritremas se extienden hasta la mitad de la coxa I. La placa peritremal inicia por debajo de la coxa IV y se extiende hasta coxI. **PE.** Es más ancha que larga teniendo una proporción de 2,6:1; margen posterior de la placa es cóncavo y el margen anterior es recto; setas st1. st2 y st3 dentro de PE; todas las setas son lisas. **PG.** Zona del ovipositor ancha, rugosa, con un proceso anterior evidente que no logra sobrepasar las setas st2 de la PE. La PG se estrecha a partir de las setas genitales para terminar con un margen redondeado. Setas genitales son lisas. **PA.** Ancha en porción anterior, sufriendo un estrechamiento por debajo de setas adanales las que se ubican distales a la apertura anal. Setas paraanales y anal son lisas. Cribum con diseño de pequeñas espinas. Todas las setas ventrales libres de placas presentan una pequeña ramificación. **PATAS.** Patas I y IV más largas que II y III presentando una proporción aproximada de 1,2:1; todas las patas se estrechan hacia distal. Setas presentes en las patas tienen una pequeña ramificación. Coxa II presenta espina anteroventral. Quetotaxia de las patas normal para dermanysoideos, con gena I (2 – 3/2.3/1 – 2); tibia I (2 – 3/2.3/1 – 2);

gena II (2 – 3/1.2/1 – 2); gena III (2 – 1/2.2/1 – 2); tibia (2 – 1/1.2/1 – 2) y gena IV (2 – 2/1.3/1 – 1) en ninguno de los casos observados se pierde alguna seta ventral de las patas. Porción distal del tarso I con zona sensorial propia del género. Trocánter del palpo con proceso ventral ubicado proximal a la seta (Figura 21 B).

Material tipo: La descripción se realizó sobre 97 ejemplares hembras. La serie tipo fue recolectada desde las localidades de P. N. Bosque Fray Jorge (30°39'07.07"S – 71°41'09.44"O), R. N. Altos de Lircay (35°36'34.89"S – 70°57'58.68"O), La Mina (35°59'14.06"S – 70°24'06.88"O), P. N. Puyehue (40°40'42.68"S – 72°06'43.17"O), P. N. Chiloé (42°37'31.26"S – 74°06'29.91"O), R. N. Cerro Castillo (46°03'00.00"S – 72°11'00.00"O) y Parque Patagonia (47°07'41"S – 72°30'18.5"O). Los holotipos y paratipos fueron depositados en la CDCA (Colección del Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Concepción, Chillán. Chile), bajo los números CDCA 156 – 252 (Figura 22).

Hospedadores: *R. rattus* Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae) y *P. darwini* (Waterhouse, 1837) (Rodentia: Cricetidae). *Abrothrix olivacea* (Waterhouse, 1837) (Rodentia: Cricetidae), *A. longipilis* (Waterhouse, 1837) (Rodentia: Cricetidae), *A. hirta* (Thomas, 1895) (Rodentia: Cricetidae), *Loxodontomys micropus* Waterhouse, 1837 (Rodentia: Cricetidae) y *Chelemys macronyx* (Thomas, 1894) (Rodentia: Cricetidae).

Observaciones: *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. es morfológicamente similar a *O. bacoti*, *O. monteiroi*, *O. brasiliensis*, *O. vitzthumi*, *Ornithonyssus* aff. *bacoti* y *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov., sin embargo, se diferencia de *O. bacoti* porque esta especie presenta un LPE de menor tamaño, mientras que *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. es de mayor tamaño en LPD. LPG y LPA. Por otra parte, *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. tiene un epistome con una base con bordes irregulares (rugosos) y en su extremo distal se observa una gran punta, seguida de cuatro sierras o dientes de diferentes tamaños (Figura 14). Mientras que para *O. bacoti* se describe un epistome que disminuye de tamaño hasta un punto (Evans & Till, 1966). En el caso de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov esta estructura es similar en la base a la de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. pero difiere en que la punta de sp. 3 sp. nov está compuesta por una gran punta y 11 sierras o dientes de diferentes tamaños

(Figura 20). *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. se diferencia de *O. monteiroi* porque esta última especie presenta un mayor tamaño en APD y LPE, mientras que tiene un tamaño más reducido en LPG. Las diferencias que tiene con la especie *O. vitzthumi* se observan en que esta especie tiene un mayor tamaño del LPA y un menor tamaño de LPG. Además, según Nieri–Bastos *et al.* (2011) se describe que la PA no presenta ornamentaciones mientras que en *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov., esta placa es ornamentada. En cuanto a las diferencias entre *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. con respecto a *O. brasiliensis*, esta última especie presenta un mayor tamaño en LPE, mientras que presenta un menor tamaño en LPD y LPG. Nieri–Bastos *et al.* (2011) también señala que *O. brasiliensis* no presenta ornamentaciones en PA.

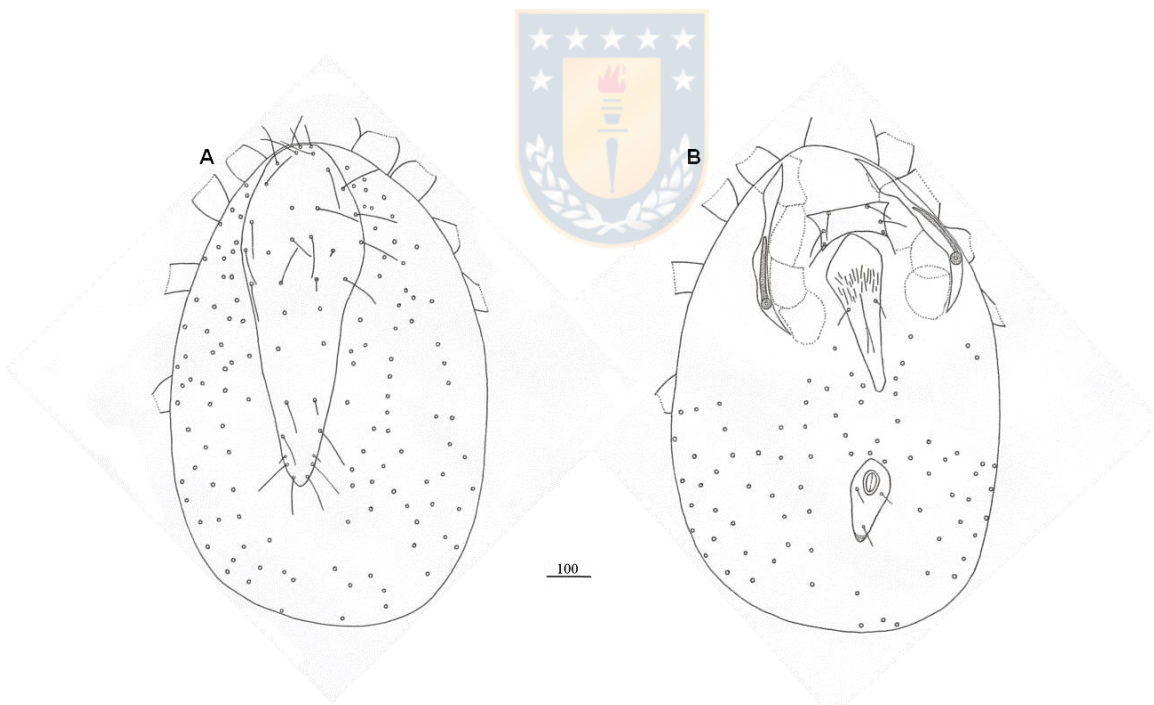


Figura 9. *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. A. Vista dorsal. B. Vista ventral. Fuente: Elaboración propia.

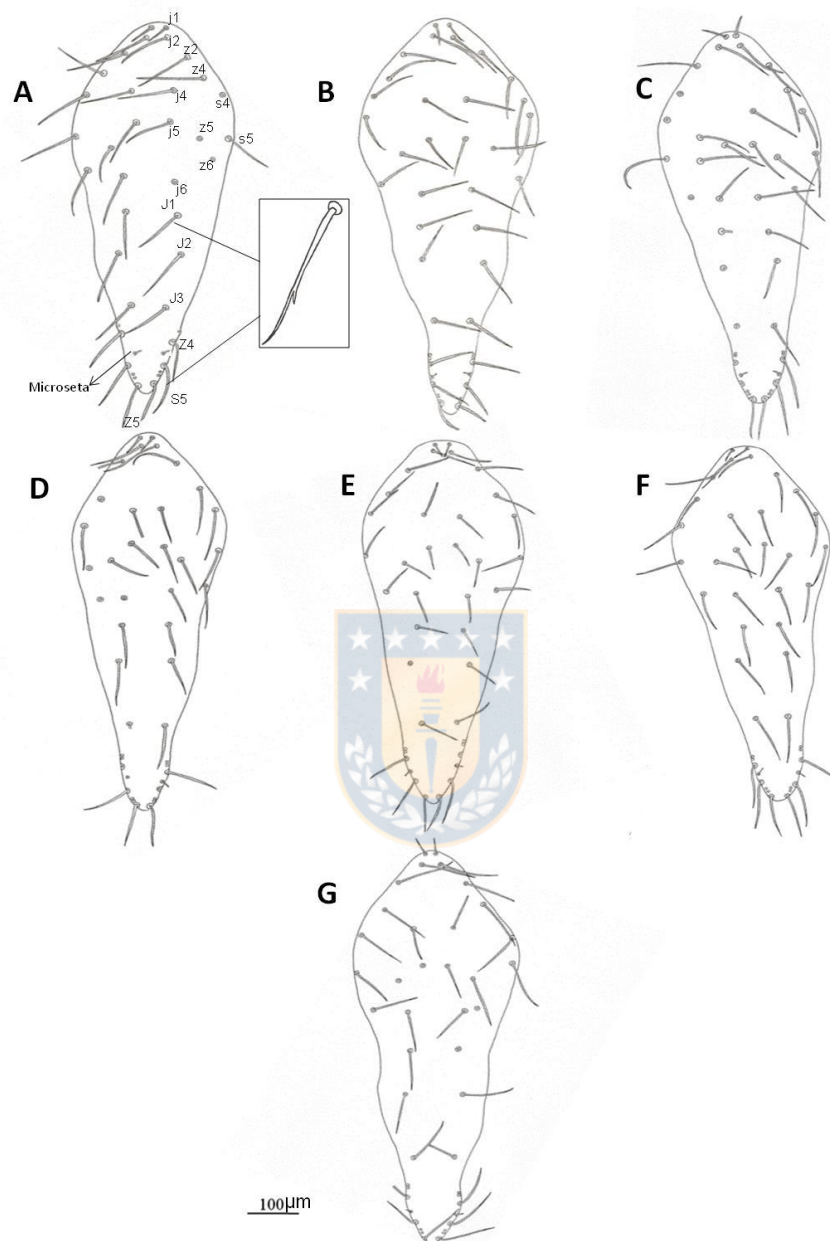


Figura 10. Variación morfológica de la placa dorsal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. en distintas localidades. A. P. N. Llanos de Challe. B. P. N. Bosque Fray Jorge. C. R. N. Altos de Lircay. D. La Mina. E. P. N. Chiloé. F. R. N. Cerro Castillo. G. Parque Patagonia. Fuente: Elaboración propia.

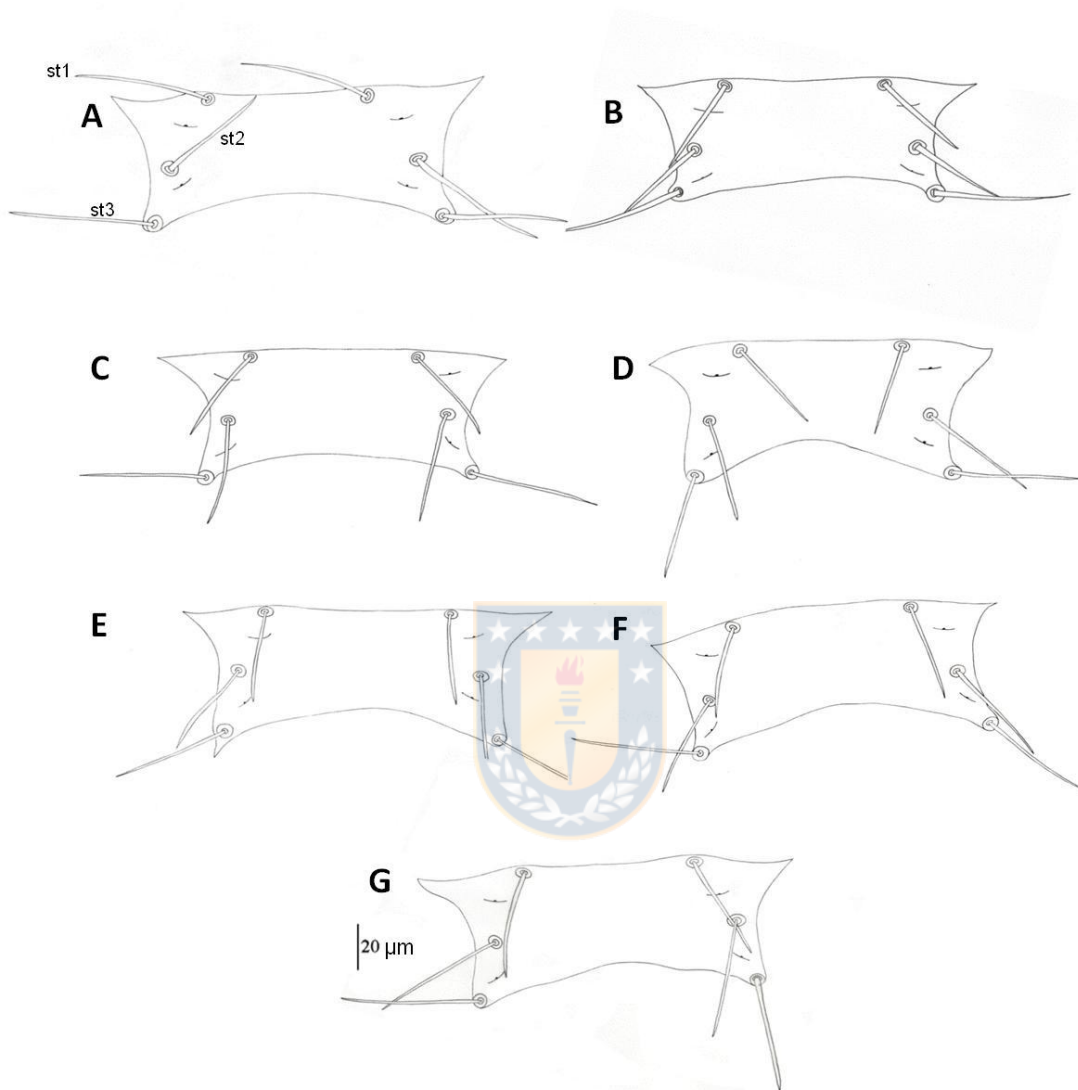


Figura 11. Variación morfológica de la placa esternal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. en distintas localidades. A. P. N. Llanos de Challe. B. P. N. Bosque Fray Jorge. C. R. N. Altos de Lircay. D. La Mina. E. P. N. Chiloé. F. R. N. Cerro Castillo. G. Parque Patagonia. Fuente: Elaboración propia.

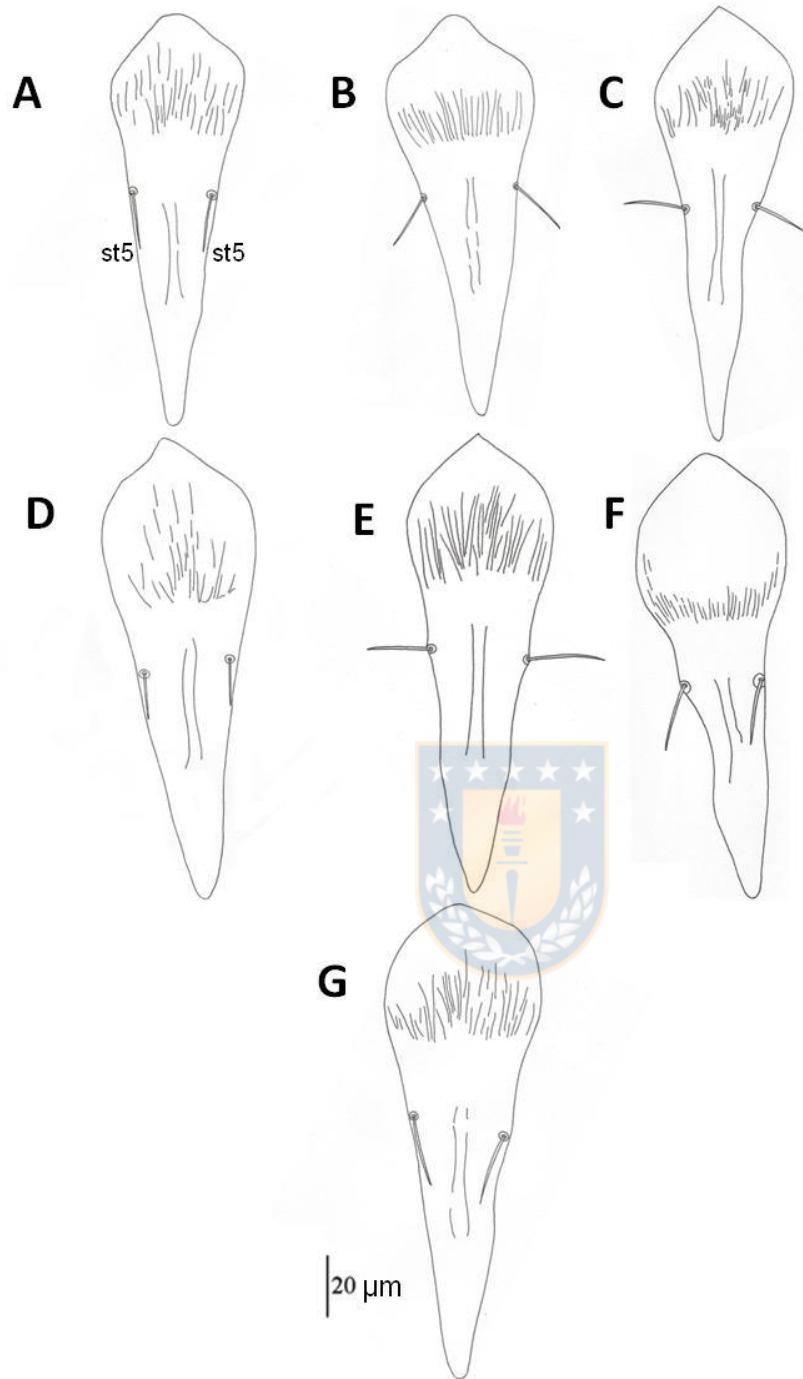


Figura 12. Variación morfológica de la placa genital de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. en distintas localidades. A. P. N. Llanos de Challe. B. P. N. Bosque Fray Jorge. C. R. N. Altos de Lircay. D. La Mina. E. P. N. Chiloé. F. R. N. Cerro Castillo. G. Parque Patagonia. Fuente: Elaboración propia.

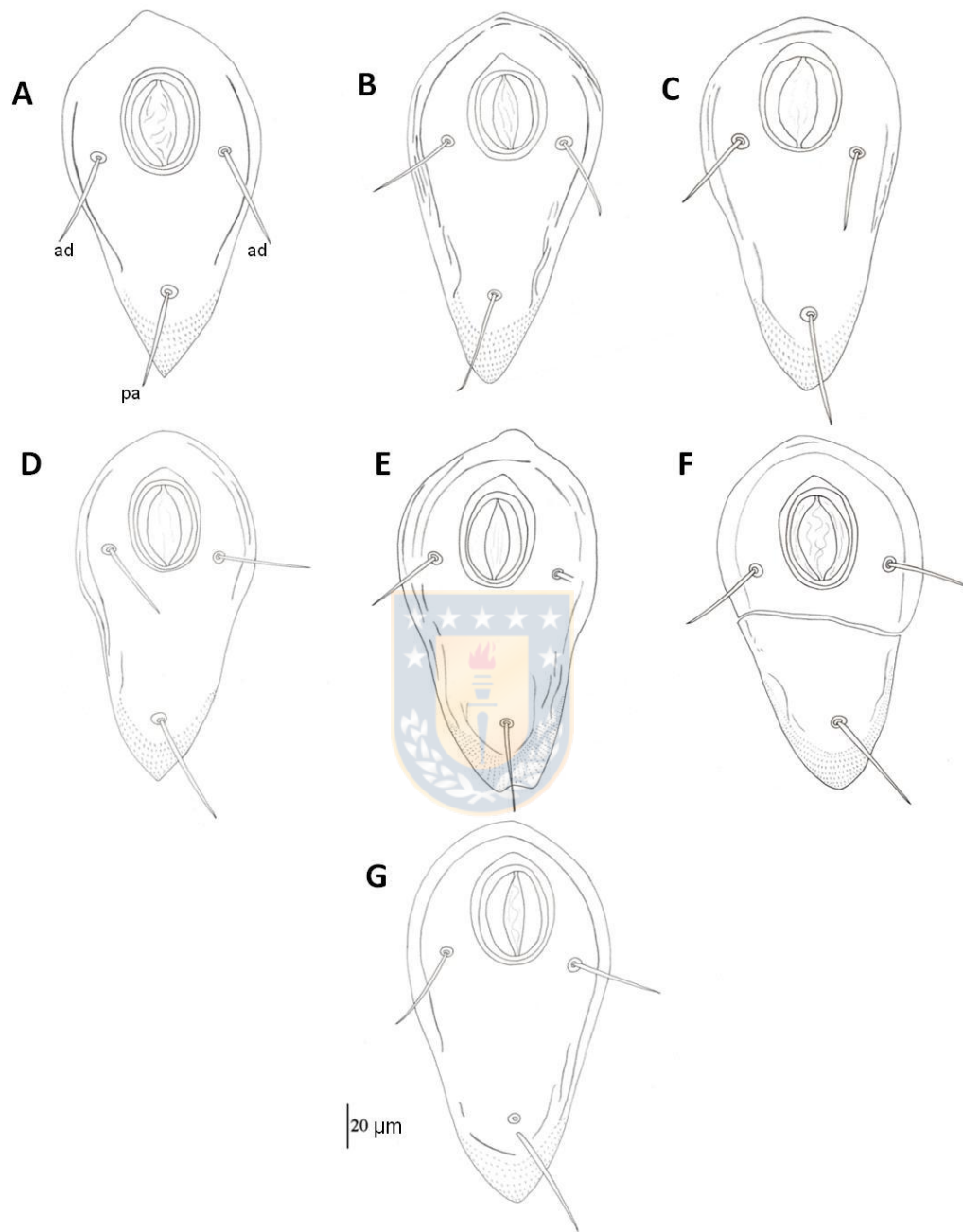


Figura 13. Variación morfológica de la placa anal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. en distintas localidades. A. P. N. Llanos de Challe. B. P. N. Bosque Fray Jorge. C. R. N. Altos de Lircay. D. La Mina. E. P. N. Chiloé. F. R. N. Cerro Castillo. G. Parque Patagonia. Fuente: Elaboración propia.

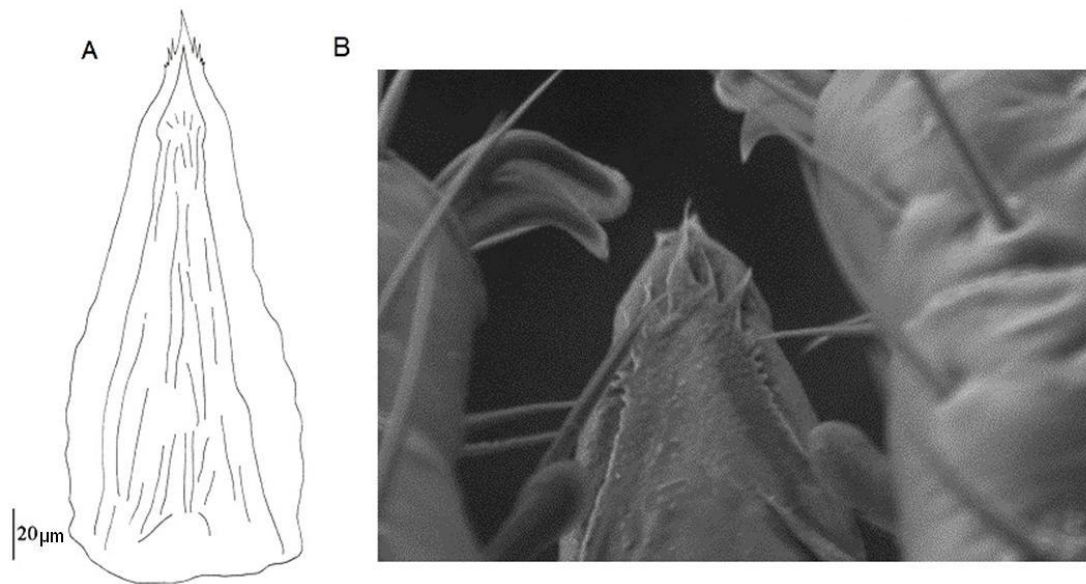


Figura 14. A y B Epistome de *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. Foto: Ma. Carolina Silva de la Fuente. Imagen obtenida mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Fuente: Elaboración propia.



Ornithonyssus sp. 3 sp. nov. (Figuras 15–20; Figuras 22–23; medidas tabla 1).

PD: Esta placa se estrecha a partir de la seta J1 a un 36,8% del total para finalmente llegar a presentar su menor ancho a la altura de la seta S5, con una reducción de un 76% del ancho total. Porción prodosomal de la placa con 11 pares de setas; porción opistosomal presenta 14 pares de setas, incluyendo los tres pares de setas marginales (Z3, S5 y Z5), además de un par de microsetas entre las setas Z4 y S5. Todas las setas de la placa dorsal presentan una pequeña ramificación y se extienden más allá de la base de la siguiente seta. Zona del prosoma y opistosoma descubiertas de placas es moderadamente trícosa.

GNATOSOMA: Lo que destaca en esta parte es el epistome con una base con bordes irregulares (rugosos) y en su extremo superior se observa una gran punta y 11 sierras o dientes de diferentes tamaños. **Peritremas:** En muestras de P. N. Bosque Fray Jorge, R. N. Altos de Lircay, La Mina, R. N. Cerro Castillo y Parque Patagonia. Los peritremas inician entre la coxa III y IV, para extenderse hasta la mitad de la coxa II. Mientras que en los ejemplares de P. N. Chiloé, los peritremas se extienden hasta la mitad de la coxa I. La placa peritremal inicia por debajo de la coxa IV y se extiende hasta CI.

PE: Es más ancha que larga, teniendo una proporción de 2,6:1; margen posterior de la placa es cóncavo y el margen anterior es recto; setas st1. st2 y st3 dentro de PE; todas las setas son lisas. **PG:** Zona del ovipositor ancha, rugosa, con un proceso anterior evidente, pero no logra sobrepasar las setas st2 de la PE. La PG se estrecha a partir de las setas genitales, para terminar con un margen redondeado. Setas genitales son lisas.

PA: Ancha en porción anterior, sufriendo un estrechamiento por debajo de setas adanales, las que se ubican distales a la apertura anal. Setas paraanales y anal son lisas. Cribum con diseño de pequeñas espinas. Todas las setas ventrales libres de placas presentan una pequeña ramificación. **Patas:** Patas I y IV más largas que II y III, presentando una proporción aproximada de 1,2:1; todas las patas se estrechan hacia distal. Setas presentes en las patas tienen una pequeña ramificación. Coxa II presenta espina anteroventral. Quetotaxia de las patas normal para dermanysoideos, con gena I (2 – 3/2.3/1 – 2); tibia I (2 – 3/2.3/1 – 2); gena II (2 – 3/1.2/1 – 2); gena III (2 – 1/2.2/1 – 2); tibia (2 – 1/1.2/1 – 2) y gena IV

(2 – 2/1.3/1 – 1). En ninguno de los casos observados se pierde alguna seta ventral de las patas. Porción distal del tarso I con zona sensorial propia del género. Trocanter del palpo con proceso ventral ubicado proximal a la seta (Figura 21 B).

Material tipo: La descripción se realizó sobre 30 ejemplares hembras. La serie tipo fue recolectada desde las localidades de Cobquecura (36°08'19.02"S – 72°47'40.28"O), R. N. Nonguén (36° 53'53.79"S – 72° 58'53.36"O) y R. N. Isla Mocha (38°21'32.75"S – 73°55'27.21"O). Los holotipos y paratipos fueron depositados en la CDCA (Colección del Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Concepción, Chillán, Chile) bajo los números CDCA 253 – 282 (Figura 22).

Hospedadores: *Abrothrix olivacea* (Waterhouse, 1837) (Rodentia: Cricetidae) y *A. hirta* (Thomas, 1895) (Rodentia: Cricetidae).

Observaciones: *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. es morfológicamente similar a *O. bacoti*, *O. monteiroi*, *O. brasiliensis*, *O. vitzthumi*, *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. y *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. Sin embargo se diferencia de *O. bacoti* porque esta nueva especie presenta un mayor tamaño en LPD, LPG y LPA, mientras que presenta un menor tamaño en APD y LPE. Por otra parte, *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. tiene un epistome con una base con bordes irregulares (rugosos) y en su extremo superior se observa una gran punta, seguida de 11 sierras o dientes de diferentes tamaños (Figura 20). Mientras que para *O. bacoti* se describe un epistome que disminuye de tamaño hasta un punto (Evans & Till. 1966). *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. se diferencia de *O. monteiroi* porque esta última especie presenta un mayor tamaño en APD y LPE, mientras que tiene un tamaño más reducido en LPG. Por otra parte, *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. difiere de *O. vitzthumi*, debido a que esta nueva especie presenta un mayor tamaño en LPE, LPG y LPA y un menor tamaño en APD. Además, según Nieri–Bastos *et al.* (2011) se describe que la PA no presenta ornamentaciones, mientras que en *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov., esta placa es ornamentada. En cuanto a las diferencias entre *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov., con respecto a *O. brasiliensis*. esta última especie presenta un mayor tamaño en LPE, mientras que presenta un

menor tamaño en LPD y LPG. Nieri-Bastos *et al.* (2011) también señala que *O. brasiliensis* no presenta ornamentaciones en PA.

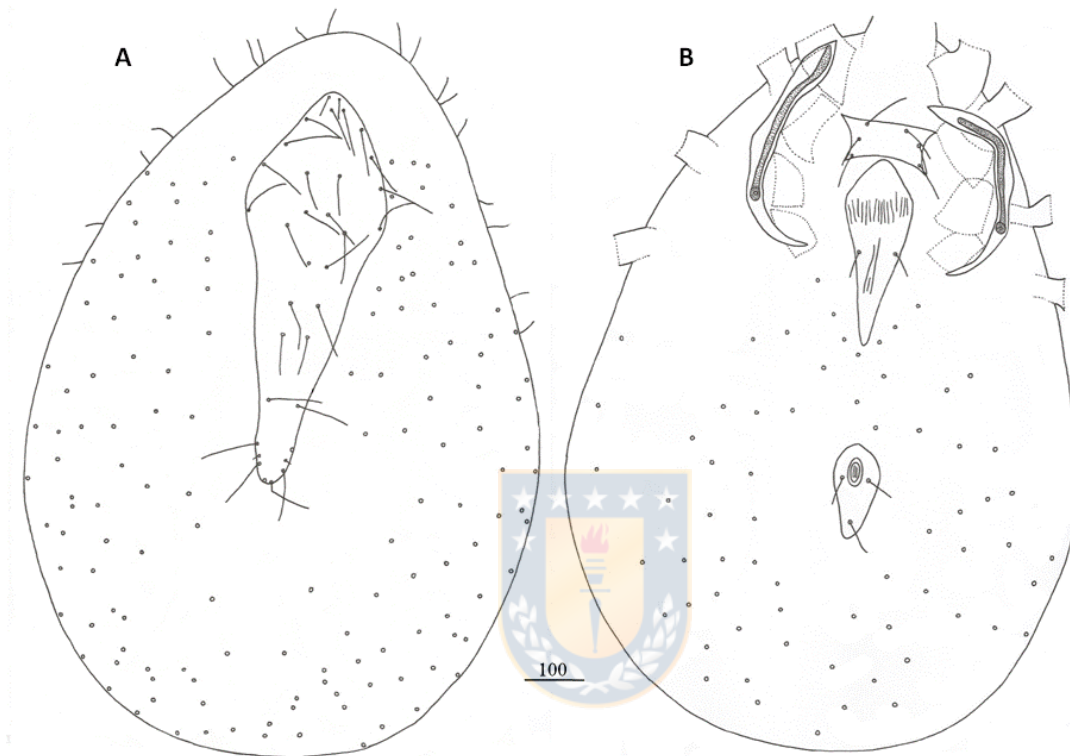


Figura 15. A. Vista dorsal (A) y ventral (B) de *Ornithonyssus* sp. 3. sp. nov.
Fuente: Elaboración propia.

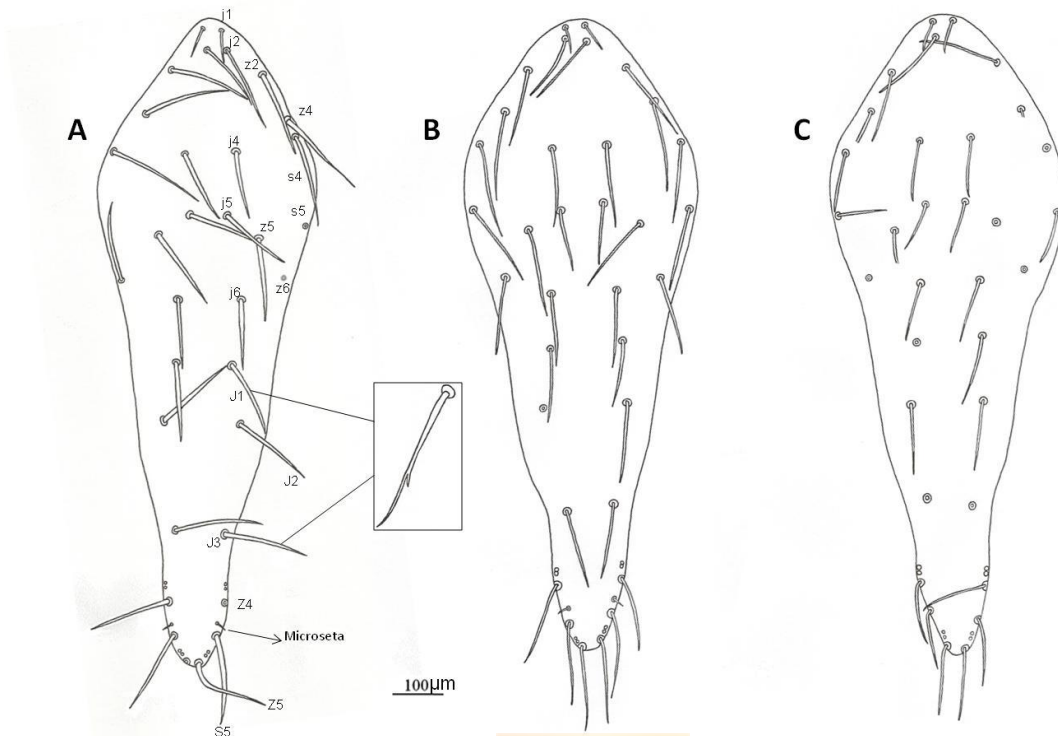


Figura 16. Variación morfológica de la placa dorsal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. en distintas localidades. A. Cobquecura. B. R. N. Nonguén. C. R. N. Isla Mocha. Fuente: Elaboración propia.

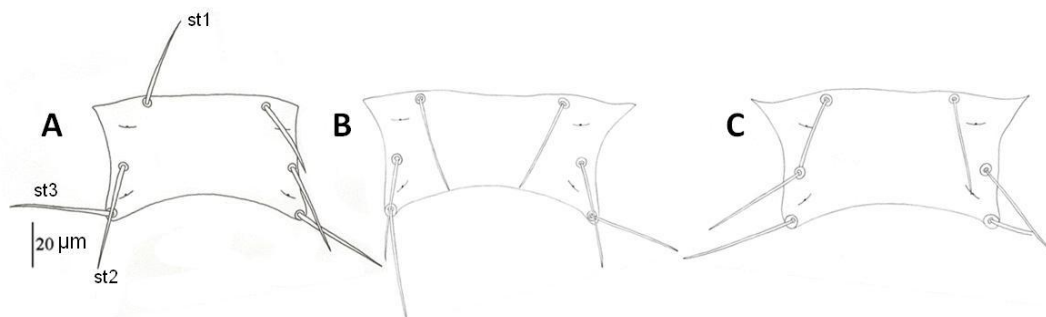


Figura 17. Variación morfológica de la placa esternal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. en distintas localidades. A. Cobquecura. B. R. N. Nonguén. C. R. N. Isla Mocha. Fuente: Elaboración propia.

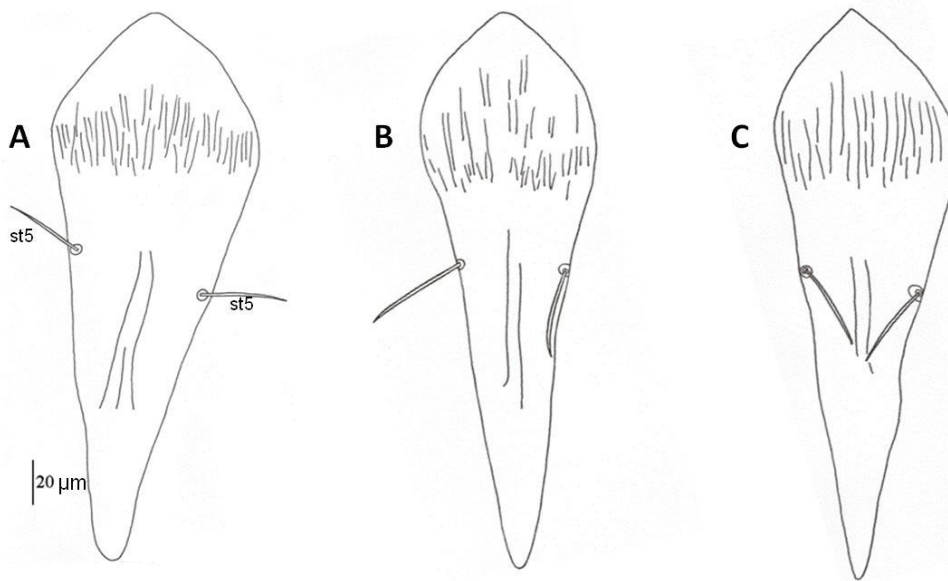


Figura 18. Variación morfológica de la placa genital de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. en distintas localidades. A. Cobquecura. B. R. N. Nonguén. C. R. N. Isla Mocha. Fuente: Elaboración propia.

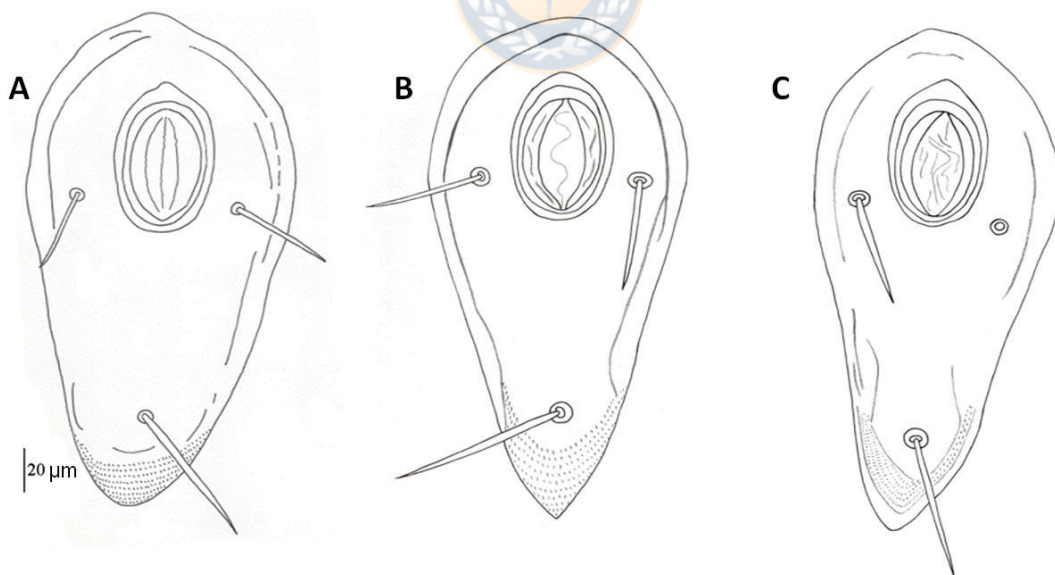


Figura 19. Variación en la forma de la placa anal de ejemplares de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. en distintas localidades. A. Cobquecura. B. R. N. Nonguén. C. R. N. Isla Mocha. Fuente: Elaboración propia.

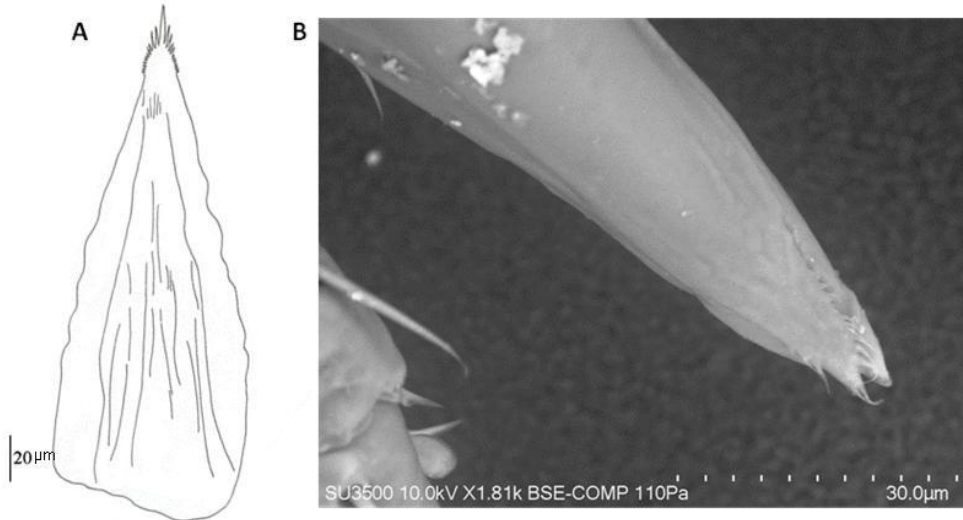


Figura 20. A y B Epistome de *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. B. Imagen en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Fuente: Elaboración propia.

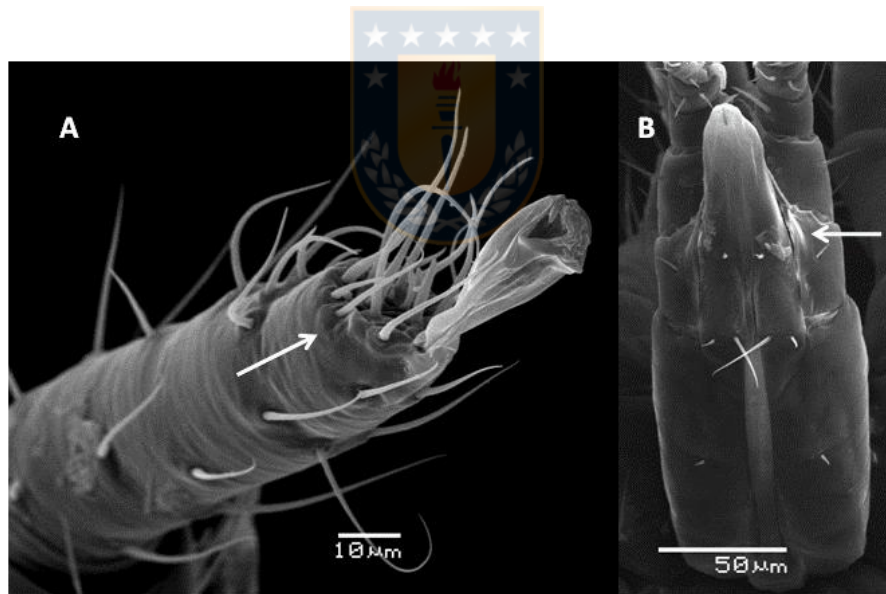


Foto 21. A. Zona sensorial tarso I. B. Palpo con proceso medio lateral. Flecha blanca señala las respectivas estructuras señaladas. *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. de P. N. Bosque Fray Jorge. Imágenes en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Fuente: Elaboración propia.

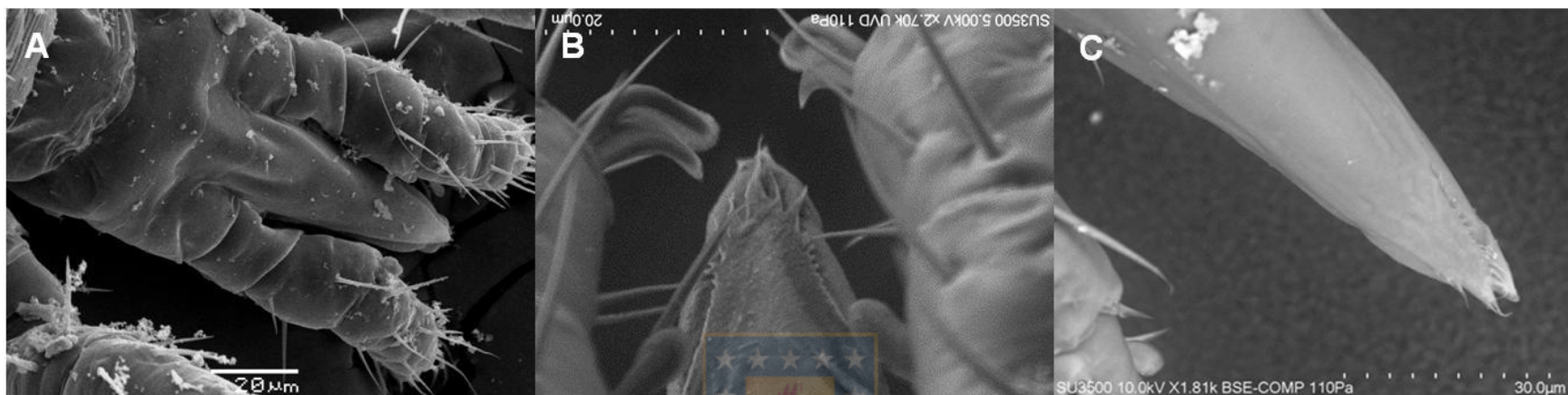


Figura 22. Comparación de epistomes. A. *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. B. *Ornithonyssus* sp. 2 nov. sp. C. *Ornithonyssus* sp. 3 nov. sp. Imágenes en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Fuente: Elaboración propia.

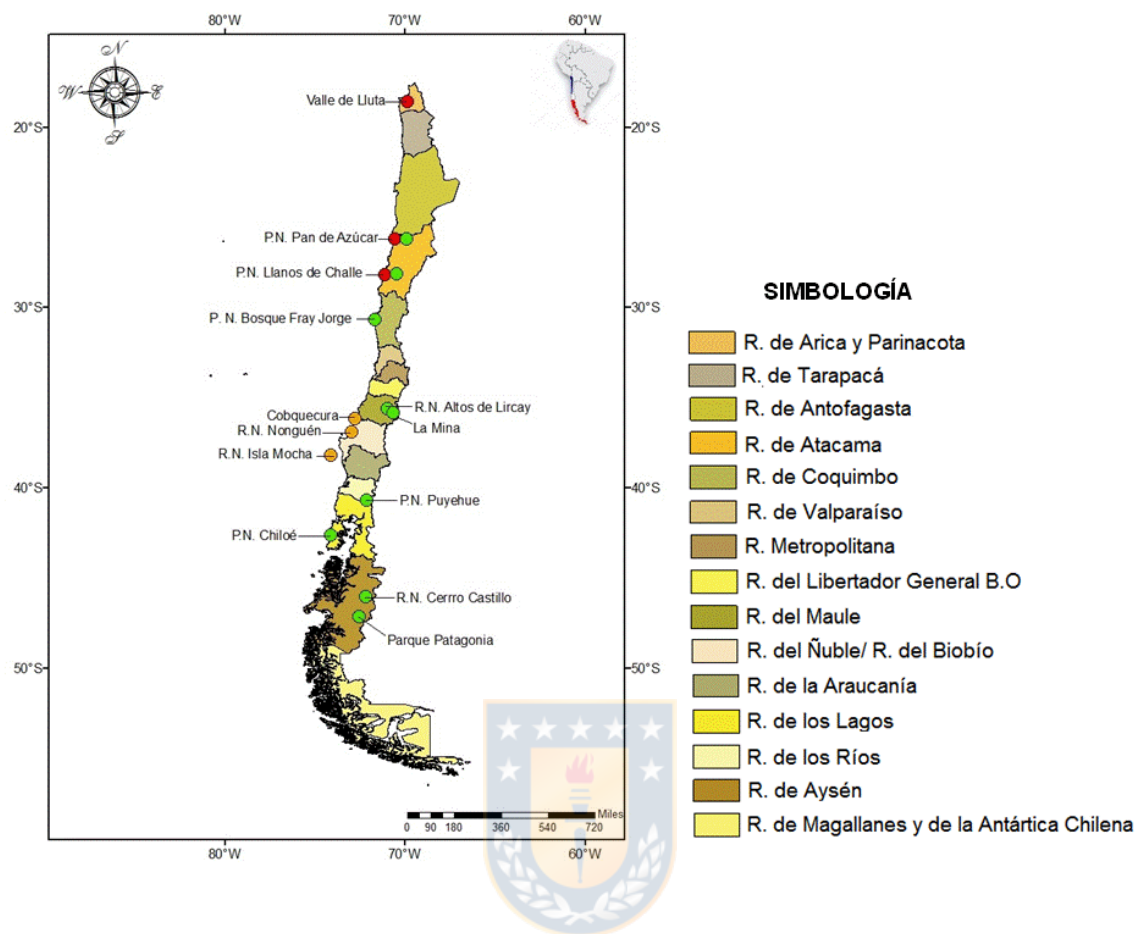


Figura 23. Distribución de las especies de *Ornithonyssus* en Chile. Puntos rojos: *Ornithonyssus* aff. *bacoti*. Puntos verdes: *Ornithonyssus* sp. 2 sp. nov. Puntos anaranjados: *Ornithonyssus* sp. 3 sp. nov. Fuente: Elaboración propia.

IV. REFERENCIAS

1. Barriga, O. O. (1965). Hallazgo en Chile de *Liponyssus bacoti* (Hirst, 1913) (Acarina, Dermanyssidae). *Boletín Chileno de Parasitología*, 20(2), 30–3.
2. Barriga, O. O. & Donckaster, R. (1965). Dermatitis humana por *Liponyssus bacoti*. Primeros casos en Chile. *Boletín Chileno de Parasitología*, 20(3), 76–8.
3. Furman, D. P. & Radovsky, F. J. (1963). A new species of *Ornithonyssus* from the White-tailed Antelope Squirrel with a rediagnosis of the genus *Ornithonyssus*. *The Pan-Pacific Entomologist*, 39(2), 75–79.
4. Jofré, L., Neira, N. I., Saavedra, T. & Díaz, C. (2009). Acarosis y zoonosis relacionadas. *Revista Chilena de Infectología*, 26(3), 248–257.
5. Krantz, G. H. & Walter, D. E. (2009). Collecting, rearing, and preparing specimens. En: Krantz, G. H. & D. E., Walter (Eds.). *A Manual of Acarology*. pp. 83–96. University Press. Texas, USA.
6. Micherdzinski, W. (1980). *Eine taxonomische analyse der Familie Macronyssidae Oudemans, 1936. I. Subfamilie Ornithonyssinae Lange, 1958 (Acarina, Mesostigmata)*. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, Kraków. pp. 133.
7. Nieri-Bastos, F. A., Labruna, M. B., Marcili, A., Durden, L. A., Mendoza-Uribe, L. & Barros-Battesti, D. M. (2011). Morphological and molecular analysis of *Ornithonyssus* spp. (Acari: Macronyssidae) from small terrestrial mammals in Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, 55(4), 305–327.
8. Radovsky, F. J. (2007). A new species of *Ornithonyssus* (Acari: Macronyssidae) in western north America and a review of nearctic species. *International Journal of Acarology*, 33(3), 223–229.
9. Radovsky, F. J. (2010). *Revision of genera of the parasitic mite family Macronyssidae (Mesostigmata: Dermanyssoidea) of the world*. Indira publishing house, West Bloomfield, USA. 171 pp.

10. Silva–de la Fuente, M. C. (2014). Ecología de ácaros Mesostigmata asociados a roedores del norte de Chile. *Tesis de Magíster*. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
11. Yunker, X. & Radovsky, F. J. (1967). The Dermanyssid Mites of Panama (Acarina : Dermanyssidae). En: Wenzel, R. L. & Tipton, V. J. (Eds.). *Ectoparásitos de Panamá*. pp. 83–104. Field Museum of Natural History, Chicago, Illinois, USA.



CAPÍTULO III

Rickettsia, *Bartonella* y *Borrelia* EN *Ornithonyssus* spp. (ACARI: MACRONYSSIDAE) DE ROEDORES DE CHILE.

I. INTRODUCCIÓN

Los ácaros hematófagos o los que se alimentan de linfa, tienen el potencial de transmitir diversos agentes patógenos, ya sean virus, bacterias, protozoos o nemátodos (Guglielmone *et al.*, 2003; Jofré *et al.*, 2009). Para que la transmisión de un patógeno sea exitosa, tres componentes deben estar presentes: el reservorio, el medio de transmisión y una población susceptible (Walter & Proctor, 2013). Muchos ácaros no sólo tienen la capacidad de transmitir patógenos, sino también actúan como reservorios de algunas zoonosis, facilitando la dispersión del agente (Philip & Burgdorfer, 1961; Saunders, 1975). Tal es el caso de ácaros hematófagos del género *Ornithonyssus*, reconocido por ser potencial vector biológico de enfermedades (Furman & Radovsky, 1963). De las 13 especies de *Ornithonyssus* descritas, cinco (*O. bacoti*, *O. bursa*, *O. silviarum*, *O. wernecki* y *O. aridus*) se han registrado parasitando, además de fauna silvestre, a humanos (Furman & Radovsky, 1963). La mayoría de las infestaciones a personas se asocian a la presencia de *R. rattus* o *R. norvegicus* en el hogar o lugar de trabajo (Cleland & Southcott, 1913; Dove & Shelmire, 1931; Saunders, 1975; Chung *et al.*, 1998; Engel *et al.*, 1998; Rosen *et al.*, 2002; Beck 2008; Rahdar & Vazirianzadeh, 2009), siendo por lo general infestaciones accidentales (infestaciones en hospedadores no habituales) y usualmente resultado de la presencia de nidos de roedores en las viviendas o la ausencia de hospedadores silvestres (Walter & Proctor, 2013). En Chile, Barriga & Donckaster (1965) reportaron por primera vez casos de dermatitis causadas por *O. bacoti*. Luego en 2007, se reportó un brote de *O. bacoti* que afectó a varios médicos que compartían la residencia en un hospital antiguo en Santiago de Chile (Jofré *et al.*, 2009).

Además de provocar dermatitis, los ácaros *Ornithonyssus* son potenciales vectores de enfermedades en animales de vida silvestre, domésticos y humanos (Radovsky, 1994). Dentro de los patógenos que transmiten destacan: **Bacterias:**

Bartonella sp., *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia recurrentis*, *Coxiella burnetii*, *Rickettsia akari*, *Rickettsia prowasekii*, *Yersinia pestis*; **Virus:** Hantavirus, Virus coxsackie, Virus de la encefalitis de San Luis, Virus Langat, Virus de la encefalitis equina del oeste; **Protozoos:** *Hepatozoon* sp.; **Nemátodos:** *Litomosoides carinii* (Azad & Beard, 1998; Choi *et al.*, 2007; Jofré *et al.*, 2009). Algunas de estas bacterias, virus y protozoos han sido considerados dentro de las enfermedades emergentes y reemergentes a lo largo del mundo (Woolhouse & Gowtage-Sequeria, 2005).

La OIE (Organización Mundial de la Salud Animal, 2017), define una enfermedad emergente como "una infección nueva, consecutiva a la evolución o la modificación de un agente patógeno existente, una infección conocida que se extiende a una zona geográfica o a una población de la que antes estaba ausente, un agente patógeno no identificado anteriormente o una enfermedad diagnosticada por primera vez". Mientras que una enfermedad reemergente hace referencia "al resurgimiento de enfermedades que ya habían sido aparentemente erradicadas o su incidencia disminuida" (Larreínaga & Berdasquera, 2000). Para que este tipo de enfermedades se presenten, son múltiples los factores que participan en este proceso: (1) Cambios demográficos y conductuales de la población, (2) Viajes internacionales y comercio, (3) Tecnología y Comercio, (4) Adaptación y cambios microbianos, (5) Fracasos en medidas de salud pública y (6) Cambios ecológicos, incluyendo cambio de uso de tierras y desarrollo económico (Morse *et al.*, 2012). Por lo tanto, considerando que en Chile, se presentan varios de los factores mencionados, es necesario estudiar posibles agentes vectores y sobre las bacterias asociadas a estos.

A continuación se presenta una pequeña reseña de los aspectos más relevantes de *Rickettsia*, *Bartonella* y *Borrelia*, bacterias que serán el foco principal de esta investigación, debido a que han sido patógenos asociadas al género *Ornithonyssus*, representan una potencial zoonosis y están clasificadas como Enfermedades Emergentes y Reemergentes.

Rickettsia

Las bacterias del género *Rickettsia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) corresponden a parásitos intracelulares obligados, limitados por una estructura trilaminar gramnegativa (Fournier & Raoult, 2007), pudiendo ser reconocidas en frotis mediante el método Giménez, que permite visualizar las rickettsias, pero no diferenciar entre especies (Giménez, 1964). Estas bacterias tienen la potencialidad de producir rickettsiosis, un grupo de enfermedades infecciosas agudas emergentes, severas y dramáticas alrededor del mundo (Barba–Evia, 2009). Para que las rickettsias se adhieran e invadan las células endoteliales de sus hospedadores, es necesario que se produzca la interacción de las proteínas de superficie de las rickettsias (OmpA, OmpB y Sca2) con los receptores celulares del mamífero hospedador (Martínez *et al.*, 2005). Un método eficaz para detectar la presencia de *Rickettsia* spp. con técnicas moleculares de PCR es la amplificación mediante PCR de los genes 16S rARN (Roux & Raoult, 1995), de la proteína 17–kDa (Carl *et al.*, 1990), citrato sintetasa (Wood *et al.*, 1987), rOmpB (Roux & Raoult, 2000) y rOmpA (Fournier *et al.*, 1998, para el grupo de las fiebres manchadas).

Toda *Rickettsia* tiene un artrópodo hospedador, que sirve como vector biológico (Fournier & Raoult, 2007). Por ejemplo, ácaros y garrapatas al morder, inoculan *Rickettsia* al vertebrado hospedador mediante la saliva. Mientras que en pulgas y piojos la infección con *Rickettsia* es a través de la heces, donde la *Rickettsia* entra por la herida producida por la mordedura una vez que el animal se rasca (e.g. *Rickettsia prowazekii*) (Fournier & Raoult, 2007). Cabe destacar que las *Rickettsias* pueden ser transmitidas a sus artrópodos hospedadores horizontalmente, mediante la alimentación, debido a que estas bacterias tienen la capacidad de multiplicarse en las glándulas salivales o verticalmente, es decir transováricamente, desde el adulto a su descendencia (Merhej & Raoult, 2011). Adicionalmente, Philip & Burgdorfer (1961), señalan otro mecanismo por el cual se transmite entre artrópodos y es a través de la infección del ovario de las garrapatas con esperma infectado con *Rickettsia* producto de la copulación. Se ha observado también que *R. rickettsii* es capaz de infectar células epiteliales del

intestino medio de algunas garrapatas (sin dañarlas), posteriormente *R. rickettsi* invade y se multiplica en otros tejidos de la garrapata, como glándulas salivales y ovarios. La infección generalizada de la garrapata con *R. rickettsi* puede tardar de 7 a 10 días (McDade & Newhouse, 1986).

Antiguamente eran aceptados dos grupos de *Rickettsias*, las asociadas al grupo de la fiebre manchada (GFM) (vector: garrapatas) y otras pertenecientes al grupo del tifus (GT) (vector: piojo del cuerpo humano o pulgas). Se separaban principalmente por su artrópodo vector, antigenicidad a lipopolisacáridos, el tipo de proteínas de la membrana externa y las diferencias en las enfermedades que provocan (Vishwanath, 1991). El GFM incluye agentes asociados a garrapatas como *R. rickettsii* (el agente de la fiebre de las montañas rocosas), *R. conorii* (agente de la fiebre manchada mediterránea), *R. africae* (agente de la fiebre por la picadura de la garrapata africana), *R. sibirica* (agente de la fiebre del norte de Asia), *R. akari* asociado con ácaros (agente de rickettsialpox) y *R. felis* asociado a pulgas (agente de la fiebre manchada de la pulga). Mientras que el grupo del tifus incluye a *R. prowazekii* asociado a piojos (agente del tifus epidémico) y *R. typhi* asociado a pulgas (agente del tifus endémico) (Ogata *et al.*, 2006). Sin embargo, debido a los últimos avances en técnicas moleculares, esta clasificación se ha modificado, incorporando a la clasificación antes señalada el grupo Bellii, que constituye una divergencia mucho más ancestral que los dos grupos anteriormente mencionados, siendo asociado a garrapatas (Stothard *et al.*, 1994; Ogata *et al.*, 2006).

Actualmente se pueden contabilizar, para el grupo de las fiebres manchadas, 36 especies, 19 especies *Candidatus* y nueve endosimbiontes asociados a garrapatas. Mientras que para el grupo del tifus existen solo dos especies asociados a piojos. Por otra parte, el grupo Bellii cuenta con tres especies y cuatro especies *Candidatus* (información disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>). De las *Rickettsias* antes mencionadas, son solo descritas para Sudamérica, *R. typhi* transmitida por pulgas en Brasil (Silva & Papaiordanou, 2004) y Colombia (Hidalgo *et al.*, 2008); *R. rickettsii* en Argentina (Paddock *et al.*, 2008) y Colombia (Hidalgo *et al.*, 2007) asociada a garrapatas; *R.*

parkeri en Argentina (Nava *et al.*, 2008), Perú (Flores–Mendoza *et al.*, 2013), Uruguay (Pacheco *et al.*, 2006) y Brasil (Silveira *et al.*, 2007); *R. massiliae* en garrapatas de Argentina (Cicuttin *et al.*, 2004); *R. felis* aisladas en pulgas de gatos de Argentina (Nava *et al.*, 2008), Chile (Labruna *et al.*, 2007a) y Uruguay (Venzal *et al.*, 2006). En Brasil esta última *Rickettsia* fue reportada en pulgas y garrapatas (Oliveira *et al.*, 2008); *R. bellii* asociada a garrapatas en Argentina (Labruna *et al.*, 2007b) y Brasil (Labruna *et al.*, 2004a,b); *R. rhipicephali* asociada a garrapatas de Brasil (Labruna *et al.*, 2007c). Además, se han detectados cuadros clínicos humanos provocados por rickettsias del grupo de la fiebre manchada en Perú (Mostoriono *et al.*, 2003) y Panamá (De Lucas *et al.*, 2013). Sumada a las anteriores especies, se deben mencionar las especies que hasta la fecha están en la categoría de *Candidatus* como *R. amblyommii* encontrada en garrapatas de Argentina (Labruna *et al.*, 2007b) y Brasil (Labruna *et al.*, 2004a,b), y *R. andeanae* encontrada en Perú (Flores–Mendoza *et al.*, 2013) y Chile (Abarca, 2013) en garrapatas.

En cuanto a ácaros (Mesostigmata y Trombidiformes), Dove & Shelmire (1931), documentaron de forma experimental que *O. bacoti* participa activamente en la transmisión de *Rickettsia* sp. a través de su picadura. El experimento consistió en la infestación de cobayos con ácaros infectados con *Rickettsia* sp. Transcurridos 10 días, los cobayos presentaron fiebre e inflamación del escroto. Luego, Pang (1941) aisló una cepa de *Rickettsia* sp. desde *O. bacoti* extraídos desde ratas de un orfanato, en el cual se presentó un gran brote de tifus. Desafortunadamente no se pudo establecer si los ácaros eran los vectores de esta enfermedad a través de sus mordeduras, pero fue una de las posibles alternativas indicadas por los autores del trabajo. Por su parte, Reeves *et al.* (2007), estudiaron *O. bacoti* aislados desde los roedores *R. norvegicus* y *R. rattus* en Egipto, logrando identificar dos genotipos de *Rickettsia* spp. Una de las cepas aisladas fue 99% similar a *R. australis*, perteneciente al grupo de las fiebres manchadas. En cuanto al grupo de las *Rickettsia* que producen tifus, Grabarev *et al.* (2009), en un estudio experimental, pudieron observar que luego de que cobayos y ratas blancas fueran mordidos por *O. bacoti* infectados con *R. typhi*, la bacteria no era transmitida por

estos ácaros. Sin embargo, es conocido que *O. bacoti* es vector de la bacteria *Rickettsia akari* causante de la rickettsiosis exantemática, cuyo reservorio natural es el roedor *M. musculus*, y probablemente *O. bacoti* no solo actúa como vector de esta *Rickettsia*, sino que también sería reservorio (Walter & Proctor, 2013). *Rickettsia akari* fue una enfermedad emergente en Nueva York en 1946, pero ahora es conocida en todo el mundo (Renvoisé *et al.*, 2012).

En Sudamérica, Nieri–Bastos *et al.* (2012), han sido los únicos que han tratado de establecer la presencia de bacterias en ácaros del género *Ornithonyssus*. Nieri–Bastos *et al.* (op.cit) determinaron en *O. wernecki* la presencia de una bacteria gramnegativa que no amplificó para los partidores clásicos utilizados para detectar *Rickettsia*, postulando que la bacteria aislada desde *O. wernecki* podría tratarse de un nuevo género de bacteria, una nueva especie con potencial patogénico o un endosimbionte del ácaro.

Cada vez existen más registros de casos de rickettsiosis en humanos en países latinoamericanos, poniendo de manifiesto el desconocimiento que se tiene sobre las *Rickettsia* dentro del diagnóstico diferencial con otros cuadros febriles (Zavala *et al.*, 2004).

Bartonella

Inicialmente la familia Bartonellaceae junto con Rickettsiales y Anaplasmataceae pertenecían al orden Rickettsiales, pero posteriormente la familia Bartonellaceae fue removida del orden Rickettsiales, principalmente por estudios moleculares del gen 16S ARNr que demostraron diferencias genéticas entre estas familias, siendo consideradas dentro del orden Rhizobiales (Brenner *et al.*, 1993). Las bacterias del género *Bartonella* son pequeños cocobacilos gramnegativos, facultativas intracelulares, aerobias, no móviles y además tienen la capacidad de crecer en un medio de cultivo (Brenner *et al.*, 1993). Un método eficaz para detectar la presencia de *Bartonella* sp. mediante técnicas moleculares de PCR, es la amplificación de los genes de la citrato sintasa (*gltA*) y de la fracción 16S del ARN ribosomal. Otros partidores utilizados en PCR para detectar *Bartonella* sp. son los del espacio intergénico del 16S – 23S ARNr (ITS), los del

gen de la riboflavin sintasa (ribC), las proteínas del choque térmico (groEL) o los del gen que codifica las proteínas que interviene en la división celular (ftsZ) (Birtles & Raoult, 1996; Zeaiter *et al.*, 2002; Blanco & Raoult, 2005).

Las especies de *Bartonella* están muy adaptadas a una gran variedad de animales y a la vez cuentan con una rápida formación de nuevas especies (Breitschwerdt & Dorsey, 2000). Es así como en el recuento realizado por Breitschwerdt & Dorsey (2000), se contabilizaban 16 especies, hoy en día en GenBank encontramos 48 especies válidas y 14 especies en estado de *Candidatus* (información disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>), siendo la mayoría de las bacterias aisladas directamente de un hospedador vertebrado, no de artrópodos vectores.

Algunas de las *Bartonella* asociadas a humanos y que tienen importancia zoonótica son: *B. clarridgeiae*, *B. alsatica*, *B. koehlerae*, *B. elizabethae*, *B. grahamii*, *B. vinsonii arupensis*, *B. vinsonii berkhoffii*, *B. washoensis*, *B. rochalimae*, *B. tamiae*, *B. baciliformes*, *B. quintana*, *B. henselae* y *Candidatus B. melophagi* (Billeter *et al.*, 2008; Pérez-Martínez *et al.*, 2010). *Bartonella baciliformes* (enfermedad de Carrion) tiene como vector un mosquito flebótomo denominado "titira" o "manta blanca" (*Lutzomyia verrucarum*) (Diptera: Psychodidae) (Maguiña *et al.*, 2001). Se limita a zonas andinas, principalmente Perú (Maguiña & Gatuzzo, 2000), aunque se han detectado casos en Ecuador y Colombia (Maguiña *et al.*, 2008). En Chile existe un caso, sin embargo, el hombre tenía antecedentes de haber estado en Perú y Bolivia (Vásquez *et al.*, 2007), siendo lo más probable un caso no endémico. *Bartonella quintana* (fiebre de las trincheras), se ha detectado principalmente en personas que abusan del consumo de alcohol y en personas sin hogar (Melter *et al.*, 2012). El piojo humano (*Pediculus humanus*), por medio de sus heces también transmite *B. quintana* (Jackson & Spach, 1996). La fiebre de las trincheras se ha registrado principalmente en la región Paleártica (Maguiña & Gatuzzo, 2000), pero existen registros de seroprevalencia en México y Bolivia, sin reportes de brotes (Bass *et al.*, 1997). En República Checa se describe un caso donde se asocia la transmisión de *B. quintana* por ácaros *Dermanyssus*. Tanto los niños como los adultos de la familia afectada presentaron fiebre, rash cutáneo (pápulas) y

lesiones vesiculares en la mucosa bucal (Melter *et al.*, 2012). La especie *Bartonella tami* descrita por Kosoy *et al.* (2008) en Tailandia, también es patógena en humanos, siendo aislada en tres géneros de ácaros, *Leptotrombidium*, *Schoengastia* y *Blankarrtia* (Acari: Trombiculidae) asociados a *R. rattus*, *Rattus argentiventer*, *Bandicota indica*, *Bandicota savilei* y *Mus cervicolor* (Rodentia: Muridae) (Kabeya *et al.*, 2010). El hecho de encontrar esta bacteria asociada a ácaros trombicúlidos constituye un riesgo zoonótico, debido a que los ácaros de la familia Trombiculidae en su estado larval son ectoparásitos de vertebrados, ocasionalmente parasitan a los humanos y se ha comprobado que participan en la transmisión de *Rickettsia* y *Orientia* (Hoffman, 1990).

Reeves *et al.* (2007), estudiaron *O. bacoti* aislados desde *R. norvegicus* y *R. rattus* en Egipto, identificando un genotipo de *Bartonella* sp., que no fue similar a ninguna especie presente en GenBank. Por otra parte, Kim *et al.* (2005) en 97 ácaros Mesostigmata extraídos desde diversas especies de roedores en Korea, encontraron una prevalencia de *Bartonella* sp. de un 19% en estos ácaros. Según los análisis, la cepa de *Bartonella* presente en este estudio se asemeja a 17 especies de *Bartonella* conocidas en GenBank.

La pulga del gato *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) es agente vector de *B. henselae*, la que produce la enfermedad del rasguño del gato, siendo el gato el principal reservorio de esta bacteria (Chomel *et al.*, 1996; Cornejo & Vizcarra, 1999). La bacteria es capaz de replicarse en el sistema digestivo de la pulga y la excreción del patógeno se produce mediante las heces (Higgins *et al.*, 1996). Esta bacteria en Chile es considerada una infección emergente desde 1992 (Wolff, 2000), capaz de causar una amplia gama de manifestaciones, desde recurrentes, prolongadas y hasta fatales (Chomel *et al.*, 1996). Adicionalmente, Pérez-Martínez *et al.* (2009), logran amplificar en Chile, *B. rochalimae* y *B. clarridgeiae*, en *Pulex irritans* y *Ctenocephalides felis*, haciendo énfasis en el posible rol vector de estas pulgas, sobre todo por el cercano vínculo entre el humano y el gato. Otra investigación desarrollada en Francia por Rolain *et al.* (2003), establecen la presencia de *B. clarridgeiae*, *B. quintana* y *B. koehlerae*, en la pulga del gato.

Existen algunos trabajos que también hacen énfasis en el potencial vector que pueden ejercer algunas especies de garrapatas en la transmisión de *B. quintana*, *B. henselae*, *B. washoensis* y *B. vinsonii berkhoffii*, especies de importancia sanitaria en humanos (Chang *et al.*, 2001; Chang *et al.*, 2002; Adelson *et al.*, 2004). Sin embargo, en ninguno de estos trabajos los autores lograron establecer si la garrapata es capaz de transmitir las bacterias.

Borrelia

Las especies incluidas en este género corresponden a espiroquetas transmitidas por artrópodos hematófagos (Barbour & Hayes, 1986), las cuales son helicoidales, con tamaños que van de los 0,2 hasta 0,3 μm de diámetro y 20 – 30 μm de longitud. Son bacterias móviles, asociadas a un hospedador y microaerófilas (Adeolu & Gupta, 2014). Las especies de *Borrelia* se dividen en dos grupos, las que producen fiebre recurrente y las que producen la enfermedad de Lyme (Wang *et al.*, 1999). Se describe que el artrópodo al ingerir sangre de un vertebrado, adquiere la *Borrelia*. La bacteria llega al intestino medio del artrópodo vector, luego pasa al hemocele donde se multiplica en la hemolinfa, alcanzando posteriormente diferentes tejidos como ganglios, glándulas salivales y órganos reproductivos. La infección se perpetúa por transmisión transovárica en los artrópodos vectores (Barbour & Hayes, 1986). Además, las especies dentro del género *Borrelia* han demostrado ser muy específicas con su artrópodo vector (Barbour & Hayes, 1986). Boero (1957), señala que cada especie de artrópodo tiene un método distinto de transmitir esta bacteria.

Para reconocer las especies de *Borrelia* por medio de análisis moleculares se utiliza comúnmente el gen 16S rARN y análisis de secuencias multilocus (Margos *et al.*, 2010; Wang & Schwartz, 2011). Además, Adeolo & Gupta (2014), proponen usar para el grupo de *Borrelia* asociadas a la enfermedad de Lyme secuencias conservadas de proteínas ampliamente distribuidas como recombinasa A, factor Trigger (Tig), proteína de quimiotaxis (CheY), etc. Mientras que para reconocer molecularmente especies dentro del grupo de la fiebre recurrente, se pueden utilizar secuencias de proteínas conservadas como nucleótido Nicotinamida

adeniltransferasa, proteína hipotética BRE16, proteína hipotética BDU327, etc. (Adeolo & Gupta, 2014).

Hasta la fecha, existen 27 especies de *Borrelia* (información disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>) y cinco especies en estado de *Candidatus*. Nueve de estas especies *Borrelia bavariensis*, *Borrelia bissettii*, *Borrelia burgdorferi* sensu estricto (s.s), *Borrelia garinii*, *Borrelia kurtenbachii*, *Borrelia lusitaniae*, *Borrelia spielmanii* y *Borrelia valaisiana*, presentan potencial patogénico en humanos (Wang *et al.*, 1999; Rudenko *et al.*, 2011). Los principales vectores de la enfermedad de Lyme son las garrapatas duras (Acari: Ixodidae) (Oliver *et al.*, 1993; Rudenko *et al.*, 2011). Sin embargo, se considera que algunas garrapatas blandas (Acari: Argasidae) (Soares *et al.*, 2000) y el piojo humano (*Pediculus humanus*) son capaces transmitir *Borrelia recurrentis* (Boero, 1957; Bourbour & Hayes, 1986).

Con respecto a los estudios realizados en patógenos de los géneros *Borrelia* asociados a ácaros Mesostigmata, Lopatina *et al.* (1999) probaron de forma experimental, que *O. bacoti* es capaz de transmitir *Borrelia burgdorferi* s.l. a ratones de laboratorio. Desafortunadamente, este es el único trabajo desarrollado en ácaros *Ornithonyssus* que demuestra la capacidad vectora de este ácaro para *Borrelia*.

En Sudamérica se desconocía la presencia de *Borrelia*, pero hace algún tiempo varios reportes de casos clínicos se han conocido (Azulay *et al.*, 1991; Need & Escamilla, 1991; Stanchi & Balague, 1993; Miranda *et al.* 2009; Carranza–Tamayo *et al.*, 2012; Barbieri *et al.* 2013; Nava *et al.* 2014; Gonçalves *et al.*, 2015). Si bien en Chile han existido algunos cuadros clínicos, cuya sintomatología es compatibles con alguna borreliosis, nunca se ha logrado aislar molecularmente la presencia de alguna *Borrelia* desde humanos (Abarca *et al.*, 1996; Neira *et al.*, 1996). Sin embargo, se destaca la presencia en Chile de *B. chilensis* perteneciente al grupo de Lyme y aislada de garrapatas de ratón colilargo (Ivanova *et al.*, 2014) y también de pudúes (Verdugo *et al.*, 2017).

Como se mencionó anteriormente, en Chile se han reportado casos de infestaciones humanas por *Ornithonyssus*. Además, se ha encontrado este género de ácaros asociado a una amplia diversidad de roedores silvestres, sinantrópicos y marsupiales (Silva–de la Fuente, 2014). La escasez de estudios enfocados en ácaros podría estar generando una subestimación de la importancia de estos artrópodos en su rol vector de patógenos (Moro *et al.*, 2005; Reeves *et al.*, 2006; Walter & Proctor, 2013). Cabe destacar que los ácaros hematófagos comparten muchas características morfológicas y fisiológicas con las garrapatas (Krantz *et al.*, 2009), además de compartir en muchas ocasiones los mismos hospedadores, por lo que los ácaros al igual que las garrapatas podrían actuar como potenciales vectores y reservorios de las bacterias mencionadas. Por lo anterior, estudios enfocados en la determinación de especies de ácaros y sus respectivas bacterias asociadas son necesarios para incrementar el conocimiento de posibles agentes vectores. Sobre todo porque en Chile ya se han registrado algunas bacterias de importancia como *B. chilensis* (perteneciente al grupo *Lyme*), *R. felis*, *B. henselae* y *B. quintana*. De esta manera, el presente trabajo constituye la primera prospección de tres géneros de bacterias *Rickettsia*, *Bartonella* y *Borrelia*, asociadas a tres nuevas especies de ácaros *Ornithonyssus* sp. presentes en roedores de Chile.

II. HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Ácaros del género *Ornithonyssus*, aisladas desde diversos roedores de Chile, albergan bacterias potencialmente patógenas.

III. OBJETIVOS.

Objetivo general:

Detectar la presencia de ADN de bacterias potencialmente patógenas en ácaros del género *Ornithonyssus* extraídos desde roedores de Chile.

Objetivos específicos:

1.1.– Determinar la presencia de ADN de *Rickettsia*, *Bartonella* y *Borrelia* en los ácaros del género *Ornithonyssus* extraídos desde roedores de Chile.

1.2.– Determinar las similitudes de las bacterias encontradas en ácaros *Ornithonyssus* extraídos desde roedores de Chile con otras secuencias encontradas en GenBank.

1.3.– Determinar si las bacterias asociadas a *Ornithonyssus* sp. corresponden a una o más especies a lo largo de Chile.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Los sitios de capturas de roedores, procesamiento e identificación de los *Ornithonyssus* y detalles sobre la extracción de ADN fue detallada en los capítulos I y II (Materiales y Métodos).

Detección de patógenos en ácaros *Ornithonyssus* mediante PCR

Mediante la extracción de ADN y PCR, se procedió a establecer la presencia de ADN de bacterias en *Ornithonyssus* spp. procedentes desde 10 de las 14 localidades analizadas de Chile. Se utilizó un total de 85 ácaros (5 por hospedador y localidad) (Tabla 3 y figura 1, capítulo I). Los partidores utilizados para la amplificación de las bacterias se encuentran en la tabla 1. Para el master mix se utilizó GoTaq® Green Master Mix (Promega) con las siguientes concentraciones: GoTaq Green Master Mix 2x (12, uL), partidore F 10uM (2 uL), partidore R 10uM (2 uL), ADN templado < 250ng (7 uL) y agua libre de nucleasa 1,5 uL. Las muestras de ADN que amplificaron para las bacterias fueron secuenciadas en Austral-omic (UACH, Valdivia). Las secuencias obtenidas fueron comparadas con secuencias de bacterias almacenadas en GenBank, donde se evaluó su similitud a través de BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), una herramienta que calcula la significancia estadística de las coincidencias entre secuencias. Se analizaron 267 pb del fragmento del gen 16S ARNr ribosomal de *Bartonella* sp. de 10 localidades de Chile. Las secuencias de *Bartonella* fueron editadas y alineadas con secuencias homólogas (37) obtenidas desde GenBank en el programa CodonCode© (2003–2007). En el mismo programa se construyó un árbol Neighbor–Joining con el modelo por distancia genética entre secuencias analizadas. Adicionalmente se generó una matriz de distancias genéticas interespecies, la cual fue calculada en el programa MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013), mediante el modelo Tamura–Nei con 10.000 bootstrap, considerando transiciones, transversiones y distribución gamma. Con estos últimos dos análisis se puede evaluar las relaciones que existen entre las bartonellas presentes en Chile y las secuencias aisladas en otras partes del mundo, además de evaluar la similitud entre las secuencias aisladas en Chile.

Tabla 1. Partidores utilizados para detectar bacterias asociadas a *Ornithonyssus* de Chile.

Bacteria	Nombre partidor	Secuencia (5'-3')	Amplicón	Gen	Referencia
<i>Bartonella</i>	BTNi	TTAGAGTGAGCGGCAAAC	356	16S ARNr	Kim <i>et al.</i> , 2005
	BTNi	TACCGTCATTATCTTCACCG			
<i>Rickettsia</i>	CS-78	GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT	401	gltA	Labruna <i>et al.</i> , 2004b
	CS-323	GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT			
<i>Borrelia</i>	5Bor-out	GTCAAACGGGATGTAGCAATAC	811	16S ARNr	Kim <i>et al.</i> , 2013
	3Bor-out	CACACTTAACACGTTAGCTTCG			

Fuente: Elaboración propia.



V. RESULTADOS

En esta primera prospección de bacterias en ácaros del género *Ornithonyssus* spp. realizada en Chile. De los 85 ácaros analizados (son los mismos utilizados para la filogenia de las especies de ácaros), 30 fueron positivos a *Bartonella* sp. (35,3%), 1 (3,3%) *Ornithonyssus* aff. *bacoti*, 15 (50%) *Ornithonyssus* sp. 2 y 12 (40%) *Ornithonyssus* sp. 3, presentes en 10 de las 14 localidades muestreadas (71,42%) (Tabla 2). Los ácaros negativos, correspondían a las siguientes localidades: Valle de Lluta (*R. rattus*), P. N. Puyehue (*Ab. sanborni*), R. N. Cerro Castillo (*Ch. macronyx*) y Parque Patagonia (*L. micropus*) (Figura 1). Ninguna muestra analizada amplificó ADN de *Rickettsia* sp. y de *Borrelia* sp.

Tabla 2. Localidades y hospedadores donde se detectó ADN de *Bartonella* en *Ornithonyssus* en Chile. Abreviación corresponde a localidad/hospedador.

Localidad	Especie de <i>Ornithonyssus</i>	Hospedador	Abreviación	Positivas /total analizadas
Socoroma	?	<i>A. xanthopygus</i>	Soc._P.x.	1/5
P. N. Pan de Azúcar*	<i>Ornithonyssus</i> aff. <i>bacoti</i>	<i>A. olivacea</i>	—————	1/5
P. N. Llanos de Challe	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	<i>P. darwini</i>	L.Ch_P.d.	1/5
P. N. Bosque Fray Jorge	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	<i>P. darwini</i>	F.J._P.d.	2/5
P. N. Bosque Fray Jorge	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	<i>A. olivacea</i>	F.J._A.o.	3/5
P. N. Bosque Fray Jorge	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	<i>A. longipilis</i>	F.J._A.l.	2/5
R. N. Altos de Lircay	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	<i>L. micropus</i>	A.L._L.m.	3/5
La Mina	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	<i>A. olivacea</i>	L.M._A.o.	2/5
Cobquecura	<i>Ornithonyssus</i> sp. 3	<i>A. olivacea</i>	Cob._A.o.	5/5
R. N. Nonguén	<i>Ornithonyssus</i> sp. 3	<i>A. hirta</i>	Non._A.h.	5/5
R. N. Isla Mocha	<i>Ornithonyssus</i> sp. 3	<i>A. hirta</i>	I.M._A.h.	2/5
P. N. Chiloé	<i>Ornithonyssus</i> sp. 2	<i>A. olivacea</i>	I.Ch._A.o.	3/5

* Secuencia amplificó para *Bartonella* sp., pero fue de mala calidad, por lo que se descartó del análisis en BLAST. Fuente: Elaboración propia.

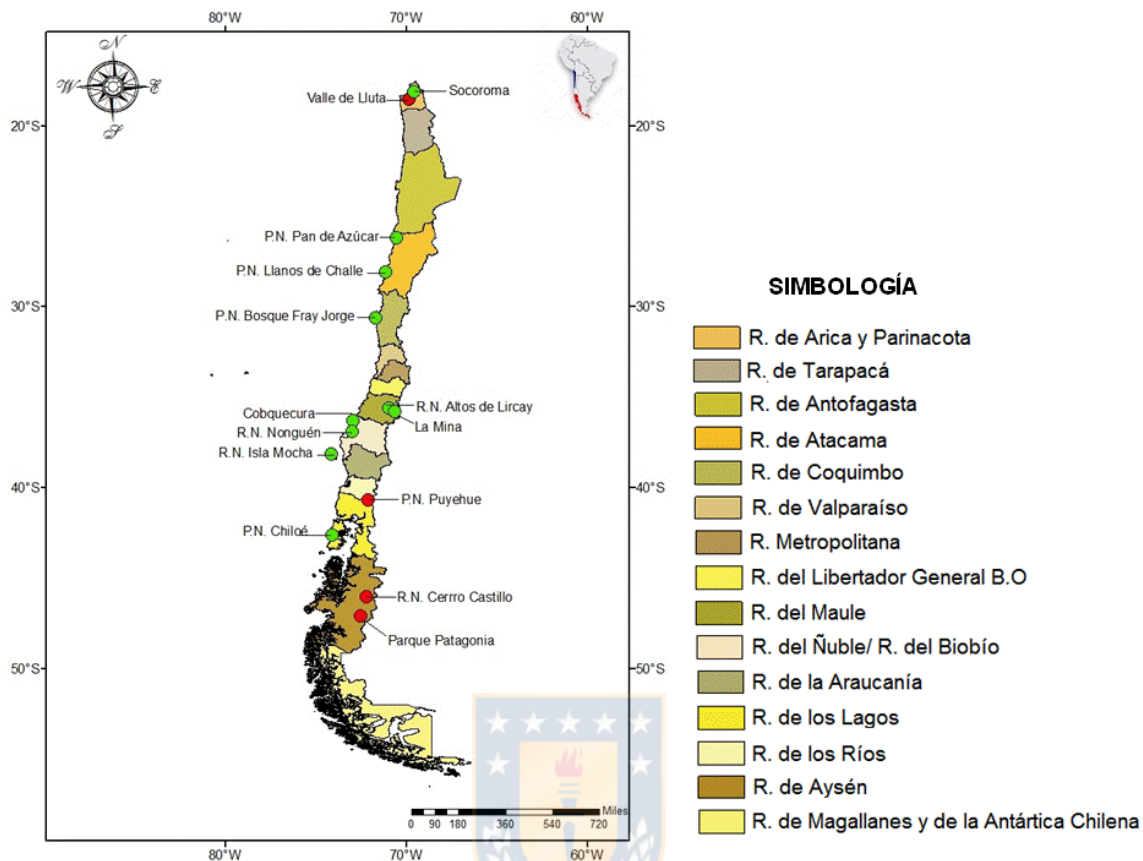


Figura 1. Mapa con la distribución de *Bartonella* sp. en ácaros *Ornithonyssus* aisladas desde roedores de Chile. Puntos verdes: localidades con ácaros positivos con ADN de *Bartonella* sp. Puntos rojos: localidades sin ácaros positivos con ADN de *Bartonella* sp. Fuente: Elaboración propia.

Las secuencias de *Bartonella* obtenidas en este estudio mostraron entre un 98 y 99% de similitud con 19 especies de *Bartonella* presentes en GenBank, siendo cuatro de ellas especies patógenas para el humano; *Bartonella washoensis*, *Bartonella grahammi*, *Bartonella henselae* y *Bartonella vinsonii* (Tabla 3). La gran mayoría de las secuencias extraídas desde GenBank, y que son similares a las secuencias chilenas, fueron obtenidas de sangre o tejido de roedores, una de ellas fue obtenida desde sangre humana (*B. vinsonii* sub. *arupensis*) y sólo dos secuencias provenían de artrópodos (una garrapata blanda y una pulga) (Tabla 4). Algo bastante novedoso fue encontrar un 100% de homología con las cepa C1–

phy y R-phy1 de *Bartonella* sp. obtenidas desde sangre de *Phyllotis* sp. en Perú. Los resultados obtenidos desde BLAST concuerdan con los obtenidos desde la matriz de distancia (Tabla 5), en la que se puede observar que entre las secuencias de Perú y Chile existe un 0% de distancia genética. Mientras que las mayores distancias se observan con *B. phoceensis*, *B. taylorii*, *B. birtlesii* y *B. washoensis* con un 1,6%. Otras bacterias que presentan una baja distancia genética con las secuencias de Chile son *B. japonica*, *B. callosciuri*, *B. silvatica*, *B. henselae* y *B. grahamii*, con un 0,8%.



Tabla 3. Porcentaje de similitud de *Bartonella* sp. detectadas en *Ornithonyssus* spp. de Chile con las secuencias depositadas en GenBank.

<i>Bartonella</i>	Número secuencia GenkBank	Homología (%)
<i>B. phoceensis</i>	NR115254 – AY515119	99
<i>B. rattaaustraliani</i>	EU111750 – NR116175	99
<i>B. japonica</i>	NR112790 – AB440632	98
<i>B. vinsonii</i> var. <i>arupensis</i>	M73230	98
<i>B. queenslandensis</i>	EU111755 – NR11617	99
<i>B. doshiae</i>	NR029368 – Z31351	98
<i>B. birtlesii</i>	NR025051 – AF204274	98
<i>B. taylorii</i>	NR029367	98
<i>B. callosciuri</i>	NR113286 – AB602530	99
<i>B. silvatica</i>	NR112791 – AB440636	98
<i>B. acomydis</i>	NR113288 – AB602534	99
<i>B. washoensis</i>	AB519066 – AB292597	99
<i>B. tribocorum</i>	NR025278 – AJ003070	99
<i>B. senegalensis</i>	NR125574 – HM636442	98
<i>B. pachyuromydis</i>	NR113287 – AB602532	99
<i>Bartonella</i> sp._Perú R-phy1 y C1 phy resp.	Z70005 – Z70006	100
<i>B. rattimassiliensis</i>	NR115255	98
<i>B. henselae</i>	JN646651 – MF374383	99
<i>B. grahamii</i>	AB426637 – NR029366	99
<i>B. florencae</i>	NR133031 – HM622139	99

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 4. Secuencias de especies de *Bartonella* extraídas desde GenBank y las analizadas en este estudio, indicando la localidad de origen y hospedador desde donde fueron aisladas. Abreviación para Chile en Tabla 2 (Localidad_Hospedador).

Bacterias	Localidad	Hospedador
<i>B. phoceensis</i>	Francia	<i>Rattus norvegicus</i> *
<i>B. vinsonii</i> var. <i>arupensis</i> – <i>B. rattaaustraliani</i> – <i>B. queenslandensis</i> – <i>B. doshiae</i>	Estados Unidos – Australia – Australia – Reino Unido	<i>Homo sapiens</i> * – <i>Uromys caudimaculatus</i> * – <i>Rattus fuscipes</i> * – <i>Microtus agrestis</i> *
<i>B. rattaaustraliani</i>	Australia	<i>Uromys caudimaculatus</i> *
<i>B. japonica</i>	Japón	<i>Apodemus argenteus</i> *
<i>B. birtlesii</i> – <i>B. taylorii</i>	Francia – Reino Unido	<i>Apodemus spp.</i> *
<i>B. callosciuri</i>	Egipto, Tailandia y Holanda	<i>Callosciurus notatus</i> *
<i>B. silvatica</i>	Japón	<i>Apodemus speciosus</i> *
<i>B. acomydis</i>	Egipto, Tailandia y Holanda	<i>Acomys russatus</i> *
<i>B. washoensis</i>	China	<i>Sciurus vulgaris orientis</i> *
<i>B. tribocorum</i> – <i>B. pachyuromydis</i> – <i>B. senegalensis</i>	Francia – Egipto, Tailandia y Holanda – Senegal	<i>Rattus norvegicus</i> * – <i>Pachyuromys duprasi</i> * – <i>Ornithodoros sonrai</i> **
<i>Bartonella</i> sp. – <i>Bartonella</i> sp. L.M._A.o. – A.L._L.m. – I.M._A.h. – F.J._A.l. – F.J._A.o. – Non._A.h. – L.Ch._P.d. – I.Ch._A.o. – Cob._A.o. – F.J._P.d. – Soc._P.x.	Chile – Perú	<i>Ornithonyssus</i> sp.** – <i>Phyllotis</i> sp.*
<i>B. rattimassiliensis</i>	Francia	<i>Rattus norvegicus</i> *
<i>B. henselae</i> – <i>B. grahamii</i>	Nueva Caledonia – Australia/ Estados Unidos – Reino Unido	<i>Ctenocephalides felis</i> **/ <i>Felis silvestris catus</i> – <i>Microtus ochrogaster</i> */ <i>Clethrionomys glareolus</i> *
<i>B. florencae</i>	Francia	<i>Crocidura russula</i> *

*En sangre humana o de roedor **En artrópodo. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5. Matriz de distancia entre las especies de *Bartonella* obtenidas desde GenBank y las secuencias obtenidas en *Ornithonyssus* de Chile utilizando el gen 16S ARNr.

Bacterias	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1 <i>Coxiella burnetii</i> (GE)		0.030	0.031	0.030	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.030	0.031	0.031	0.032	0.032	0.032	0.032	0.030	0.030	0.030	0.030	0.031	0.030
2 <i>B. phoceensis</i>	0.159		0.008	0.010	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.007	0.007	0.005	0.010	0.009	0.009	0.009	0.008	0.008	0.006	0.007	0.008	0.007
3 <i>R. rattaaustraliani</i>	0.173	0.018		0.008	0.003	0.003	0.003	0.006	0.006	0.007	0.006	0.006	0.008	0.007	0.007	0.007	0.005	0.005	0.007	0.006	0.007	0.006
4 <i>B. japonica</i>	0.163	0.025	0.018		0.009	0.009	0.009	0.010	0.010	0.008	0.008	0.009	0.010	0.009	0.009	0.009	0.006	0.006	0.009	0.008	0.009	0.008
5 <i>B. vinsonii</i> sub. <i>arupensis</i>	0.171	0.020	0.006	0.020		0.000	0.000	0.006	0.006	0.007	0.008	0.007	0.007	0.006	0.006	0.006	0.007	0.007	0.007	0.006	0.007	0.006
6 <i>B. queenslandensis</i>	0.171	0.020	0.006	0.020	0.000		0.000	0.006	0.006	0.007	0.008	0.007	0.007	0.006	0.006	0.006	0.007	0.007	0.007	0.006	0.007	0.006
7 <i>B. doshiae</i>	0.171	0.020	0.006	0.020	0.000	0.000		0.006	0.006	0.007	0.008	0.007	0.007	0.006	0.006	0.006	0.007	0.007	0.007	0.006	0.007	0.006
8 <i>B. taylorii</i>	0.171	0.020	0.014	0.025	0.008	0.008	0.008		0.000	0.008	0.009	0.008	0.008	0.007	0.007	0.007	0.008	0.008	0.007	0.007	0.008	0.007
9 <i>B. birtlesii</i>	0.171	0.020	0.014	0.025	0.008	0.008	0.008	0.000		0.008	0.009	0.008	0.008	0.007	0.007	0.007	0.008	0.008	0.007	0.007	0.008	0.007
10 <i>B. callosciuri</i>	0.159	0.012	0.014	0.016	0.012	0.012	0.012	0.016	0.016		0.006	0.005	0.008	0.007	0.007	0.007	0.006	0.006	0.005	0.004	0.006	0.004
11 <i>B. silvatica</i>	0.169	0.012	0.012	0.016	0.016	0.016	0.016	0.020	0.020	0.008		0.006	0.009	0.008	0.008	0.008	0.006	0.006	0.008	0.007	0.008	0.007
12 <i>B. acomydis</i>	0.165	0.008	0.012	0.020	0.012	0.012	0.012	0.016	0.016	0.008	0.008		0.008	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.006	0.004	0.006	0.004
13 <i>B. washoensis</i>	0.165	0.025	0.018	0.025	0.012	0.012	0.012	0.017	0.017	0.016	0.020	0.016		0.004	0.004	0.004	0.008	0.008	0.008	0.007	0.008	0.007
14 <i>B. tribocorum</i>	0.172	0.020	0.014	0.020	0.008	0.008	0.008	0.012	0.012	0.012	0.016	0.012	0.004		0.000	0.000	0.007	0.007	0.007	0.006	0.007	0.006
15 <i>B. pachyuromydis</i>	0.172	0.020	0.014	0.020	0.008	0.008	0.008	0.012	0.012	0.012	0.016	0.012	0.004	0.000		0.000	0.007	0.007	0.007	0.006	0.007	0.006
16 <i>B. senegalensis</i>	0.172	0.020	0.014	0.020	0.008	0.008	0.008	0.012	0.012	0.012	0.016	0.012	0.004	0.000	0.000		0.007	0.007	0.007	0.006	0.007	0.006
17 <i>Bartonella</i> sp. Perú	0.164	0.016	0.010	0.008	0.012	0.012	0.012	0.016	0.016	0.008	0.008	0.012	0.016	0.012	0.012	0.012		0.000	0.007	0.006	0.007	0.006
18 <i>Bartonella</i> sp. Chile	0.164	0.016	0.010	0.008	0.012	0.012	0.012	0.016	0.016	0.008	0.008	0.012	0.016	0.012	0.012	0.012	0.000		0.007	0.006	0.007	0.006
19 <i>B. rattimassiliensis</i>	0.160	0.008	0.016	0.020	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.008	0.016	0.008	0.016	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012		0.004	0.006	0.004
20 <i>B. henselae</i>	0.160	0.012	0.012	0.016	0.008	0.008	0.008	0.012	0.012	0.004	0.012	0.004	0.012	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.004		0.004	0.000
21 <i>B. florencae</i>	0.165	0.016	0.016	0.020	0.012	0.012	0.012	0.016	0.016	0.008	0.016	0.008	0.016	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.008	0.004		0.004
22 <i>B. grahamii</i>	0.160	0.012	0.012	0.016	0.008	0.008	0.008	0.012	0.012	0.004	0.012	0.004	0.012	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.004	0.000	0.000	0.004

Fuente: Elaboración propia.

VI. DISCUSIÓN

Los estudios que vinculan ácaros y sus bacterias son escasos a nivel mundial y nulos en Chile. El presente estudio corresponde a la primera búsqueda de la presencia de ADN de bacterias con importancia zoonótica (*Bartonella*, *Rickettsia* y *Borrelia*) en ácaros *Ornithonyssus* presentes en Chile, abarcando un amplio rango geográfico. Tanto *Bartonella* y *Rickettsia*, han sido reportadas en 16 especies de ácaros (Chaisiri *et al.*, 2015), mientras que *Borrelia* se ha encontrado en 10 especies de ácaros. En la presente investigación sólo se logró establecer la presencia de ADN de *Bartonella* sp. en ácaros *Ornithonyssus*. Con relación a *Bartonella*, el conocimiento de sus vectores es muy fragmentado (Breitschwerdt & Kordick, 2000), por lo que establecer en un futuro si estas nuevas especies de *Ornithonyssus* corresponden a vectores de estas bacterias es relevante, igualmente establecer el potencial patogénico de esta *Bartonella*. Cabe destacar que la bartonelosis es considerada como Enfermedad Emergente y Reemergente (Blanco & Raoult, 2005), la cual debe ser monitoreada y estudiada continuamente. Como se hacía mención anteriormente, en este trabajo se logró detectar en 10 de 14 lugares de muestreo a lo largo de Chile, la presencia al parecer de una sola genoespecie de *Bartonella* sp. (gen 16S ARN ribosomal) asociada a ácaros *Ornithonyssus* spp. ectoparásitos presentes en una gran gama de roedores silvestres e introducidos (Tablas 3 y 4). Sin embargo, para poder llegar a determinar si es sólo una genoespecie es necesario analizar más genes, obteniendo secuencias de mayor tamaño y que entreguen una mejor información filogenética.

En este trabajo, de los 10 lugares de muestreo con *Ornithonyssus* positivos a ADN de *Bartonella*, siete corresponden a áreas silvestres (50%) y tres a áreas rurales (21,4%). Nuestros resultados contrastan con otro estudio desarrollado en pulgas de roedores de Chile, donde encuentran una mayor proporción de pulgas positivas en pueblos (33,8% *gltA* y 30,9% *rpoB*) y ciudades (14,6% *gltA* y 11,0% *rpoB*) que en zonas silvestres (7,4% *gltA* y 14,8% *rpoB*) (en prensa, Moreno *et al.*, 2019). Estas diferencias podrían estar dadas por las diferencias de comportamiento de

ambos parásitos en sus hospedadores. Los roedores silvestres, hospedadores de los ácaros positivos a *Bartonella* sp., son simpátricos con especies sinantrópicas como *R. rattus* y *R. norvegicus*, lo que facilitaría la transmisión de ácaros y sus posibles bacterias al humano. Dentro de los análisis se evaluaron ácaros provenientes de *R. rattus* en la localidad de Valle de Lluta, pero fueron negativos a *Bartonella* sp. Una alternativa es que la ausencia de bacterias en la muestra de *R. rattus* analizada se podría deber a los pocos individuos analizados (5 ácaros), considerando además la baja prevalencia de bacterias en ácaros aislados desde *Rattus* spp. en otros trabajos (120 pool; 616 individuos) (Reeves *et al.*, 2007).

Birtles *et al.* (1994) por su parte, han establecido que *Bartonella* sp. no es específico de un hospedador, resultado que concuerda con lo encontrado en este estudio donde se encontró posiblemente una genoespecie de *Bartonella* en las tres especies de *Ornithonyssus* propuestas. Adicionalmente, las secuencias acá analizadas presentan un 100% de homología con secuencias de *Bartonella* sp. cepa C1-phy y R-phy1 obtenidas desde sangre de *Phyllotis* sp. de Valle de Huailacayán, Anchash y Valle de Rimac, Lima, Perú (Birtles & Raoult, 1996). Por lo tanto, se puede inferir que esta nueva genoespecie, al ser encontrada en *Ornithonyssus* spp. (hospedadores de varias especies de roedores) y en los roedores (*Phyllotis* sp.), demuestra que es una genoespecie adaptada tanto al artrópodo vector como a su vertebrado reservorio. Este tipo de adaptación no siempre ocurre, ya que por ejemplo en un estudio llevado a cabo por Tsai *et al.* (2011b), encontraron una alta prevalencia de *B. clarridgeiae* en pulgas de gatos, pero casi nula presencia de esta bacteria en la sangre de los gatos estudiados. Por esta razón, es útil conocer la interacción existente entre el hospedador-vector-parásito, para de este modo entender la dinámica de una potencial enfermedad (López-Pérez *et al.*, 2017).

El gen 16S ARNr es bastante limitado para estimar relaciones filogenéticas, producto de que las distancia inferidas a partir de este gen son muy pequeñas. Sin embargo, permite generar matrices de distancia genética, evaluar similitud de secuencias a través de la homología y realizar redes de haplotipos (Birtles & Raoult, 1996). En el presente trabajo, se entrega evidencia a través de BLAST y

matriz de homologías, que las secuencias chilenas y las peruanas (Birtles & Raoult, 1996) son iguales (tablas 3 y 5), lo que hace suponer que Chile y Perú comparten la misma nueva especie dentro del género *Bartonella*, la cual debiese ser descrita y estudiada más en detalle, principalmente porque esta especie putativa de *Bartonella* sp. presenta cierto grado de similitud con dos especies que tienen importancia en salud pública, *B. henselae* y *B. grahamii*. Del mismo modo, Birtles & Raoult (1996) quienes trabajaron con el gen 16S ARNr y *gltA*, señalaron que la geno especie del Perú no presenta similitud con *B. bacilliformis*, siendo otra especie no caracterizada. Adicionalmente, a través de BLAST, las muestras de *Bartonella* presentes en Chile son similares entre un 98 a 99% con otras 19 especies de *Bartonella* (Tabla 4). Estos resultados son similares a los encontrados por Kim *et al.* (2005) y Reeves *et al.* (2006), quienes trabajaron con el gen 16S ARNr, encontraron altas homologías con varias secuencias de especies de *Bartonella* de Genbank. Esta gran variedad de homologías de *Bartonella* en los ácaros, puede estar dada por el uso del gen 16S ARNr, como se señalaba anteriormente. Por ende, es fundamental incorporar a los análisis nuevos genes e incrementar el número de pares de bases (pb) de secuencias analizadas, de esta manera se podrá tener mayor certeza de la o las especies de *Bartonella* involucradas. En relación a *R. rattus*, esta fue la única especie hospedadora de *Ornithonyssus* que fue negativa a la presencia de *Bartonella* sp. Contrario fue el resultado de Reeves *et al.* (2007), quienes sólo en un pool de ácaros (1/120) detectaron una cepa de *Bartonella* sp. asociada a *O. bacoti* aislados desde *R. norvegicus* y *R. rattus* en Egipto. Los resultados del presente estudio pueden estar dados por el pequeño tamaño de muestra. Por lo general, se recomienda trabajar con pool de ácaros para incrementar la concentración de ADN en la muestra (Netusil *et al.*, 2013).

Si bien todos estos estudios anteriormente señalados no confirman la capacidad vectora de *Ornithonyssus*, sino sólo la ocurrencia molecular de ADN de *Bartonella* en estos ácaros. Existen otros trabajos donde los antecedentes de anamnesis y clínicos del paciente hacen sospechar que *O. bacoti* a través de su picadura, habría transmitido *B. henselae* a dos perros y su dueña (Bradley *et al.*, 2014).

Por otra parte, otras especies de ácaros han sido asociados a *Bartonella*, tales como ácaros trombicúlidos de los géneros *Leptotrombidium*, *Schoengastia* y *Blankaartia*, responsables de ser los vectores de *Bartonella tamiae* (Kosoy *et al.*, 2008). También se ha detectado *Bartonella* sp. en otras especies de ácaros como *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor* y *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Astigmata), ácaros responsables de causar alergias y contaminar alimentos. Además de *Cheyletus eruditus* (Acari: Prostigmata), un reconocido ácaro depredador de otros ácaros (Kopecky *et al.*, 2014) y recientemente ha sido reconocido como causante de dermatitis en humanos (Zanardi *et al.*, 2017). Sería interesante evaluar cómo los ácaros podrían ser potenciales vectores de diversas especies de *Bartonella*, tanto como por la picadura, como por la potencial ingesta de estos en los alimentos.

Debido a la gran cantidad de nuevas especies de *Bartonella* descritas en los últimos años mediante análisis moleculares, asociadas a enfermedades y síntomas, sumado al potencial de intercambio genético entre especies, podría generar consecuencias a largo plazo para la epidemiología y virulencia de las infecciones causadas por *Bartonella* (Alsmark *et al.*, 2004). Por lo anterior, resulta sumamente importante llevar a cabo experimentos en laboratorio para poder determinar si estos ácaros que portan *Bartonella*, son efectivos vectores biológicos (hematófagos) o mecánicos (asociados a alimentos) de estas bacterias.

En relación a la ausencia de *Rickettsia* en *Ornithonyssus* sp., esto puede deberse a que en algunas ocasiones *Rickettsia* mata al vector, como ocurre en el caso de del tifus epidémico ocasionado por *Rickettsia prowazekii*, que elimina al piojo del cuerpo humano casi en un 100% (Azad & Beard, 1998). De ser así, para demostrar la presencia de *Rickettsia* se debe considerar analizar la sangre del hospedador y no el vector. A pesar de este antecedente, existen investigaciones donde se ha aislado ADN de *Rickettsia* desde *O. bacoti* (8/120 pool; 616 individuos) (Reeves *et al.*, 2007). Los autores atribuyen esta baja prevalencia de *Rickettsia* a la gran movilidad de los ácaros, por lo que los positivos pueden provenir de otro hospedador infectado, además se desconoce la patogenicidad de la bacteria sobre las especies de *Ornithonyssus*. Si se aumentara la cantidad de

muestra y se estudian muestras en pool, se podría detectar la presencia de *Rickettsia* en las nuevas especies de *Ornithonyssus* sp. presentes en Chile. Esto mismo concluye Reeves *et al.* (2006), quienes tampoco logran amplificar ADN de *Rickettsia* desde ácaros dermanysosideos (11 ácaros Macronyssidae). Para el caso de las garrapatas, se señala que la mayoría de las veces el porcentaje de muestras positivas a *Rickettsia* es bajo y el número de muestra influye directamente en el resultado (Guedes *et al.*, 2005). A pesar de la baja prevalencia de *Rickettsia* encontrada en *Ornithonyssus*, se ha demostrado de forma experimental la transmisión de *Rickettsia* sp. (tifus epidémico) a cobayos a través de la picadura de *Ornithonyssus bacoti* (Dove & Shelmire, 1931), basándose principalmente en la sintomatología que presentaron los cobayos post exposición a los ácaros infectados. Sería interesante poder repetir análisis similares y confirmar mediante ADN la presencia de *Rickettsia*.

Por otra parte, la ausencia de *Borrelia* en las especies de *Ornithonyssus* analizadas en este estudio, puede deberse a que esta bacteria no es capaz de adherirse y sobrevivir en el intestino de este artrópodo, pasar del epitelio del ácaro a la hemolinfa, viajar a través de las glándulas salivares, hasta finalmente ser transmitido a la sangre del hospedero, tal como ocurre en varias especies de garrapatas (Krupka *et al.*, 2007; Rodríguez–González, 2013). O simplemente este estudio no logró pesquisar *Borrelia* ya que la cantidad de *Ornithonyssus* analizados no fue suficiente, lo que indicaría además una baja prevalencia de esta bacteria en comparación con otras bacterias. Del mismo modo, otros estudios en *O. bursa* de aves, no detectaron la presencia de *Borrelia*, *Bartonella* y *Rickettsia*, atribuyendo este resultado al bajo número de muestras (4 pool de 10 a 13 ácaros) (Lareschi *et al.*, 2017). Caso contrario es el reportado por Netusil *et al.* (2013), quienes detectan *Borrelia burgdorferi* s.l. (221 ácaros; 9/81 pool) de ácaros Mesostigmata provenientes de *Apodemus flavicollis* (Rodentia: Cricetidae) de República Checa. Además, se ha demostrado experimentalmente que *Borrelia* sp. (grupo Lyme) sobrevive en *O. bacoti* aproximadamente 21 días y a través de la picadura de este ácaro es transmitida en ratones blancos (Lopatina *et al.*, 1999). Es posible que la limitada sobrevivencia de *Borrelia* en estos ácaros dificulte la

obtención de esta bacteria a través de técnicas moleculares, sobre todo cuando los ácaros son obtenidos directamente desde el hospedador en estado silvestre y no bajo condiciones de laboratorio. Cabe recordar que los ácaros *Ornithonyssus* se mueven libremente sobre sus hospedadores silvestres y en algunas ocasiones bajan al nido (Strandtmann & Wharton, 1958), por lo que encontrar individuos positivos puede volverse complejo.

En definitiva, conocer a fondo la interacción que existe entre los ácaros y las bacterias asociadas a ellos es dificultosa, por lo que incrementar el número de investigaciones en este sentido podría ayudar a entender de mejor manera estas interacciones. Chaisiri *et al.* (2015), en su revisión señalan que la literatura que describe la interacción entre ácaros y bacterias es cinco veces menor que la existente con garrapatas y 20 veces menor que la relacionada con insectos, siendo los ácaros subvalorados como potenciales vectores de enfermedades. Es por este motivo, que se necesitan más estudios que ayuden a establecer asociaciones de ácaros con bacterias, muchas de las cuales podrían ser nuevas especies. Futuros análisis con la incorporación de más partidores, así como también el uso de secuencias genéticas de mayor longitud, son necesarias para llegar a determinar qué especies de *Bartonella* están presentes en Chile. Adicionalmente, llegar a determinar la real capacidad vectora de las distintas especies de *Ornithonyssus*, requiere el análisis de mayor cantidad de ejemplares de ácaros, ver el grado de patogenicidad de las bacterias tanto en fauna silvestre como en humanos.

VII. CONCLUSIONES

1.1.– A través de técnicas moleculares se detectó la presencia de ADN de *Bartonella* sp. asociado a *Ornithonyssus* aff. *bacoti* (3,3%), *Ornithonyssus* sp. 2 (50%) y *Ornithonyssus* sp. 3 (40%). No se detectó la presencia de ADN de *Borrelia* ni *Rickettsia* en las muestras analizadas.

1.2.– La secuencia de *Bartonella* determinada en Chile tiene un 100% de similitud con la especie de *Bartonella* sp. detectada anteriormente en Perú, desde sangre de *Phyllotis* sp. Adicionalmente, se determinó un 98 – 99% de similitud con 19 especies de *Bartonella* presentes en GenBank.

1.3.– Las secuencias de *Bartonella* sp. aisladas desde las tres especies de *Ornithonyssus* a lo largo de Chile utilizando el 16S ARNr ribosomal, tienen un 0% de divergencia genética.



VIII. REFERENCIAS

1. Abarca, K. (2013). Identificación de *Rickettsia andeanae* en dos regiones de Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 30(4), 388–394.
2. Abarca, K., Ribera, M., Prado, P., Lobos, T., Palacios, O., Ferres, M., Mesa, T. & Vial, P. (1996). Neuroborreliosis in Chile. Report of a child probably infected by imported pets. *Revista Médica de Chile*, 124(8), 975–979.
3. Adelson, M. E., Rao, R. S., Tilton, R. C., Cabets, K., Eskow, E., Fein, L., Occi, J. L. & Mordechai, E. (2004). *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes scapularis* Ticks Collected in Northern New Jersey. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6), 2799–2801.
4. Adeolu, M. & Gupta, R. S. (2014). A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus *Borrelia* into two genera: the emended genus *Borrelia* containing only the members of the relapsing fever *Borrelia*, and the genus *Borrelia* gen. nov. containing the members of the Lyme disease *Borrelia* (*Borrelia burgdorferi* sensu lato complex). *Antonie van Leeuwenhoek*, 105(6), 1049–72.
5. Alsmark, C., Frank, A., Karlberg, O., Legault, B., Ardell, D., Canback, B., Eriksson, A., Naslund, K., Handley, S., Huvet, M., La Scola, B., Holmberg, M. & Andersson, S. (2004). The louse-borne human pathogen *Bartonella quintana* is a genomic derivative of the zoonotic agent *Bartonella henselae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(26), 9716–21
6. Azad, A. F. & Beard, C. B. (1998). Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. *Emerging Infectious Diseases*, 4(2), 179–186.
7. Azulay, R. D., Azulay-abulafia, L., Azulay, D. R. & Azulay, M. M. (1991). *International Journal of Dermatology*, 30(8), 569–572.
8. Barba-Evia, J. (2009). Fiebre manchada de las Montañas Rocosas. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 56(3), 193–208.
9. Barbieri, A. M., Venzal, J. M., Marcili, A., Almeida, A. P., González, E. M. & Labruna, M. B. (2013). *Borrelia burgdorferi* sensu lato Infecting Ticks of the *Ixodes ricinus* Complex in Uruguay: First Report for the Southern Hemisphere. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13(3), 147–153.

10. Barbour, A. G. & Hayes, S. F. (1986). Biology of *Borrelia* species. *Microbiological Reviews*, 50(4), 381–400.
11. Barriga, O. O. & Donckaster, R. (1965). Dermatitis humana por *Liponyssus bacoti*. Primeros casos en Chile. *Boletín Chileno de Parasitología*, 20(3), 76–8.
12. Bass, J. W., Vincent, J. M. & Person, D. A. (1997). The expanding spectrum of *Bartonella* infections: I. Bartonellosis and trench fever. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 16(1), 2–10.
13. Beck, W. (2008). Occurrence of a house-infesting Tropical rat mite (*Ornithonyssus bacoti*) on murides and human beings. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 6(4), 245–249.
14. Birtles, R. J., Harrison, T. G. & Molyneux, D. H. (1994). Grahameella in small woodland mammals in the U.K.: Isolation, prevalence and host specificity. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 88(3), 317–327.
15. Billeter, S., Levy, M. G., Chomel, B. B. & Breitschwerdt, E. B. (2008). Vector transmission of *Bartonella* species with emphasis on the potential for tick transmission. *Medical and Veterinary Entomology*, 22(1), 1–15.
16. Birtles, R. J. & Raoult, D. (1996). Comparison of partial citrate synthase gene (gltA) sequences for phylogenetic analysis of *Bartonella* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(4), 891–897.
17. Blanco, R. J. & Raoult, D. (2005). Enfermedades producidas por *Bartonella* spp. *Formación Médica Continuada*, 23(5), 313–320.
18. Boero, J. J. (1957). *Las garrapatas de la República Argentina (Acarina: Ixodoidea)*. Universidad de Buenos Aires Departamento Editorial, Argentina.
19. Bradley, J., Mascarelli, P., Trull, Ch., Maggi, R. & Breitschwerdt, E. (2014). *Bartonella henselae* Infections In An Owner and Two Papillon Dogs Exposed to Tropical Rat Mites (*Ornithonyssus bacoti*). *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, 14(10), 703–709.

20. Brenner, D. J., O'Connor, S. P., Winkler, H. H. & Steigerwalt, A. G. (1993). Proposals To Unify the Genera *Bartonella* and *Rochalimaea* with Descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov. and *Bartonella elizabethae* comb. nov. and To Remove the Family Bartonellaceae from the Order Rickettsiales. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43(4), 777–786.
21. Breitschwerdt, E. & Kordick, D. (2000). *Bartonella* Infection in Animals: Carriership, Reservoir Potential, Pathogenicity, and Zoonotic Potential for Human Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(3), 428–438.
22. Carl, M., Tibbs, C. W., Dobson, M. E., Paparello, S. & Dasch, G. A. (1990). Diagnosis of Acute Typhus Infection Using the Polymerase Chain Reaction. *The Journal of Infectious Diseases*, 161(4), 791–793.
23. Carranza–Tamayo, C. O., da Costa, J. N. & Bastos, W. M. (2012). Lyme disease in the state of Tocantins, Brazil: report of the first cases. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 16(6), 586–589.
24. Chaisiri, K., McGarry, J. W., Morand, S., & Makepeace, B. L. (2015). Symbiosis in an overlooked microcosm: a systematic review of the bacterial flora of mites. *Parasitology*, 142(09), 1152–1162.
25. Chang, C. C., Chomel, B. B., Kasten, R. W., Romano, V. & Tietze, N. (2001). Molecular evidence of *Bartonella* spp. in Questing adult *Ixodes pacificus* ticks in California. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(4), 1221–1226.
26. Chang, C. C., Hayashidani, H., Pusterla, N., Kasten, R. W., Madigan, J. E. & Chomel, B. B. (2002). Investigation of *Bartonella* infection in ixodid ticks from California. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 25(4), 229–236.
27. Choi, Y. J., Lee, E. M., Park, J. M., Lee, K. M., Han, S. H., Kim, J. K. & Jang, W. J. (2007). Molecular detection of various rickettsiae in mites (Acari: Trombiculidae) in Southern Jeolla Province, Korea. *Microbiology and Immunology*, 51(3), 307–312.

28. Chomel, B. B., Kasten, R. W., Chi, B., Yamamoto, K., Gurfield, A. N., Abbott, R. C. & Koehler, J. E. (1996). Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(8), 1952–1956.
29. Chung, S. L., Hwang, S. J., Kwon, S. B., Kim, D. W., Jun, J. B. & Cho, B. K. (1998). Outbreak of rat mite dermatitis in medical students. *International Journal of Dermatology*, 37(8), 591–594.
30. Cicuttin, G. L., Rodríguez–Vargas, M., Jado, I. & Anda, P. (2004). Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la Ciudad de Buenos Aires. Comunicación preliminar. *Revista Argentina de Zoonosis*, 1(1), 8–10.
31. Cleland, J. B. & Southcott, R. V. (1913). Injuries and disease of man in Australia attributable to animals. *Journal of Tropical Medicine*, 16(2), 43–47.
32. Cornejo, W. & Vizcarra, H. (1999). *Bartonella henselae*: Nuevo patógeno en humanos. *Anales de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 60(4), 281–292.
33. De Lucas, J., García, E., García, G., Castro, A., Lyons, C. & Bermúdez, S. (2013). Nuevo caso de rickettsiosis humana en Panamá, a partir de evidencia serológica y clínica. *Revista Médica de Panamá*, 33(2), 40–43.
34. Dove, W. & Shelmire, B. (1931). The tropical rat mite, *Liponyssus bacoti* Hirst, 1914: cause of a skin eruption of man, and a possible vector of endemic typhus fever. *The Journal of the American Medical Association*, 96(8), 579–584.
35. Engel, P. M., Welzel, J., Maass, M., Schramm, U. & Wolff, H. H. (1998). Tropical Rat Mite Dermatitis: Case Report and Review. *Clinical Infectious Diseases*, 27(6), 1465–1469.
36. Flores–Mendoza, C., Florin, D., Felices, V., Pozo, E., Graf, P., Burrus, R. & Richards, A. (2013). Detection of *Rickettsia parkeri* from within Piura, Peru, and the First Reported Presence of Candidatus *Rickettsia andeanae* in the Tick *Rhipicephalus sanguineus*. *Vector–borne and Zoonotic diseases*, 13(10), 1–4.

37. Fournier, P. E., Roux, V. & Raoult, D. (1998). Phylogenetic analysis of spotted fever group rickettsiae by study of the outer surface protein rOmpA. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48(3), 839–849.
38. Fournier, P. E. & Raoult, D. (2007). Section I: Rickettsia and human rickettsioses. *Bacteriology, Taxonomy and Phylogeny of Rickettsia*. En: Raoult, D. & Parola, P. (Eds.). *Rickettsial Diseases*. pp. 1–13. CRC, Press, USA.
39. Furman, D. P. & Radovsky, F. J. (1963). A new species of *Ornithonyssus* from the White-tailed Antelope Squirrel with a rediagnosis of the genus *Ornithonyssus*. *The Pan-Pacific Entomologist*, 39(2), 75–79.
40. Giménez, D. (1964). Staining rickettsiae in yolk-sac cultures. *Stain Technology*, 39(3), 135–140.
41. Gonçalves, D. D., Moura, R. A., Nunes, M., Carreira, T., Vidotto, O., Freitas, J. C. & Vieira, M. L. (2015). *Borrelia burgdorferi* sensu lato in humans in a rural area of Paraná State, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), 571–575.
42. Grabarev, P. A., Suroviatkin, A. V., Tikhonova, L., Mishchenko, O. A. & Potapenko, O. V. (2009). Experimental study of the inoculative transmission of *Rickettsia typhi* by gamasid mites (Gamasidae) *Ornithonyssus bacoti*. *Meditinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*, Apr–Jun(2), 47–49.
43. Guedes, E., Leite, R., Prata, M., Pacheco, R., Walker, D. & Labruna, M. (2005). Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(8), 841–845.
44. Guglielmone, A., Estrada-Peña, A., Keirans, J. E. & Robbins R. G. (2003). *Las garrapatas (Acari: Ixodida) de la región zoogeográfica neotropical*. INTA. Rafaela, Argentina.
45. Hidalgo, M., Orejuela, L., Fuya, P., Carrillo, P., Hernandez, J., Parra, E. & Valbuena, G. (2007). Rocky mountain spotted fever, Colombia. *Emerging Infectious Diseases*, 13(7), 1058–1060.

46. Hidalgo, M., Salguero, E., de la Ossa, A., Sánchez, R., Vesga, J. F., Orejuela, L. & Valbuena, G. (2008). Murine typhus in Caldas, Colombia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 78(2), 321–322.
47. Higgins, J. A., Radulovic, S., Schriefer, M. E. & Azad, A. F. (1996). *Rickettsia felis*: a New Species of Pathogenic Rickettsia Isolated from Cat Fleas. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(3), 671–674.
48. Hoffmann, A. (1954) Contribuciones al conocimiento de los trombicúlidos mexicanos (Acarida: Trombiculidae) (6a parte). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas de México*, 8, 17–30.
49. Ivanova, L. B., Tomova, A., González–Acuña, D., Murúa, R., Moreno, C. X., Hernández, C. & Cabello, F. C. (2014). *Borrelia chilensis*, a new member of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex that extends the range of this genospecies in the Southern Hemisphere. *Environmental Microbiology*, 16(4), 1069–80.
50. Jackson, L. & Spach, D. H. (1996). Emergence of *Bartonella quintana* Infection among Homeless Persons. *Emerging Infectious Diseases*, 2(2), 141–144.
51. Jofré, L., Neira, N. I., Saavedra, T. & Díaz, C. (2009). Acarosis y zoonosis relacionadas. *Revista Chilena de Infectología*, 26(3), 248–257.
52. Kabeya, H., Colborn, J. M., Bai, Y., Lerthusnee, K., Richardson, J. H., Maruyama, S. & Kosoy, M. Y. (2010). Detection of *Bartonella tami* DNA in ectoparasites from rodents in Thailand and their sequence similarity with bacterial cultures from Thai patients. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 10(5), 429–434.
53. Kim, E., Bauer, C., Grevelding, C. & Quack, T. (2013). Improved PCR/nested PCR approaches with increased sensitivity and specificity for the detection of pathogens in hard ticks. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 4(5), 409– 416 .
54. Kim, C. M., Kim, J. Y., Yi, Y. H., Lee, M. J., Cho, M., Shah, D. H. & Chae, J. S. (2005). Detection of *Bartonella* species from ticks, mites and small mammals in Korea. *Journal of Veterinary Science*, 6(4), 327–334.

55. Kopecky, J., Nesvorna, M. & Hubert, J. (2014). Bartonella-like bacteria carried by domestic mite species. *Experimental and Applied Acarology*, 64 (1), 21–32.
56. Kosoy, M., Morway, C., Sheff, K. W., Bai, Y., Colborn, J., Chalcraft, L. & Petersen, L. R. (2008). *Bartonella tamiae* sp. nov., a newly recognized pathogen isolated from three human patients from Thailand. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(2), 772–5.
57. Krupka, M., Raska, M., Belakova, J., Horynova, M., Novotny, R. & Weigla, E. (2007). Biological aspects of lyme disease spirochetes: unique bacteria of the *Borrelia burgdorferi* species group. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky Olomouc Czech Repub*, 151(2), 175–186.
58. Labruna, M. B., Whitworth, T., Bouyer, D. H., McBride, J., Camargo, L. M. A., Camargo, E. P., Popov, V. & Walker, D. H. (2004a). *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* Ticks from the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 41(6), 1073–1081.
59. Labruna, M., Whitworth, T., Horta, M., Bouyer, D., McBride, J., Pinter, A., Popov, V., Gennari, S. & Walker, D. (2004b). *Rickettsia* Species Infecting *Amblyomma cooperi* Ticks from an Area in the State of Sao Paulo, Brazil, Where Brazilian Spotted Fever Is Endemic. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1), 90–98.
60. Labruna, M. B., Ogrzewalska, M., Moraes-Filho, M., Lepe, P., Gallegos, J. L. & López, L. (2007a). *Rickettsia felis* in Chile. *Emerging Infectious Diseases*, 13(11), 4–5.
61. Labruna, M., Pacheco, R., Nava, S., Branda, P., Richtzenhain, L. & Guglielmone, A. (2007b). Infection by *Rickettsia bellii* and Candidatus "*Rickettsia amblyommii*" in *Amblyomma neumanni* Ticks from Argentina. *Microbial Ecology*, 54(1), 126–133.
62. Labruna, M., Pacheco, R., Richtzenhain, L. & Szabo, M. (2007c). Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* Ticks in the State of Sao Paulo, Brazil. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(3), 869–873.

63. Lareschi, M., Cicuttin, G., De Salvo, M., Ibáñez, L. & Montalti, D. (2017). El ácaro de aves tropicales *Ornithonyssus bursa* (Acari: Mesostigmata: Macronyssidae) parasitando al estornino pinto *Sturnus vulgaris* (Aves: Passeriformes: Sturnidae), un ave invasiva en el centro de Argentina. Una aproximación a la fauna bacteriana de este ácaro. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(2), 454–458.
64. Larreinaga, C. & Berdasquera, D. (2000). Enfermedades emergentes y reemergentes: factores causales y vigilancia. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 16(6), 593–597.
65. López-Pérez, A., Osikowicz, L., Montenieri, Y., Rubio, L., Moreno, K., Gage, K., Suzán, G. & Kosoy, M. (2017). Prevalence and Phylogenetic Analysis of Bartonella Species of Wild Carnivores and Their Fleas in Northwestern México. *EcoHealth*, 14(1), 116–129.
66. Lopatina, V., Vasil'eva, I. S., Gutova, V. P., Ershova, A. S., Burakova, O. V., Naumov, R. L., & Petrova, A. D. (1999). An experimental study of the capacity of the rat mite *Ornithonyssus bacoti* (Hirst, 1913) to ingest, maintain and transmit Borrelia. *Meditsinskaia parazitologija i parazitarnye bolezni*, Apr–Jun(2), 26–30.
67. McDade, J. & Newhouse, V. (1986). Natural history of *Rickettsia rickettsii*. *Annual Review of Microbiology*, 40, 287–309.
68. Maguiña, C., Garcia, P. J., Gotuzzo, E., Cordero, L., Spach, D. H. & Alberto, A. (2001). Bartonellosis (Carrion's Disease) in the Modern Era. *Clinical Infectious Diseases*, 33(6), 772–779.
69. Maguiña, C. & Gotuzzo, E. (2000). Bartonellosis: New and old. *Infectious Disease Clinics of North America*, 14(1), 1–22.
70. Maguiña, C. P., Ugarte, C. A., Breña, J. P., Ordaya, E. E., Ventosilla, P. R., Huarcaya, E. F. & Henriquez, C. A. (2008). Actualización de la enfermedad de Carrión. *Revista Médica Herediana*, 19(1), 36–41.

71. Margos, G., Hojgaard, A., Lane, R. S., Cornet, M., Fingerle, V., Rudenko, N., Ogdeng, N., Aanensen, D., Fishi, D. & Piesman, J. (2010). Multilocus sequence analysis of *Borrelia bissetii* strains from North America reveals a new *Borrelia* species, *Borrelia kurtenbachii*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 1(4), 151–158.
72. Martínez, J. J., Seveau, S., Veiga, E., Matsuyama, S. & Cossart, P. (2005). Ku70, a Component of DNA-Dependent Protein Kinase, Is a Mammalian Receptor for *Rickettsia conorii*. *Cell*, 123(6), 1013–1023.
73. McDade, J. E. & Newhouse, V. F. (1986). Natural history of *Rickettsia rickettsia*. *Annual Review of Microbiology*, 40, 287–309.
74. Melter, O., Arvand, M., Votýpka, J. & Hulínská, D. (2012). *Bartonella quintana* Transmission from Mite to Family with High Socioeconomic Status. *Emerging Infectious Diseases*, 18(1), 163–165.
75. Merhej, V. & Raoult, D. (2011). Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. *Biological Reviews*, 86(2), 379–405.
76. Moreno-Salas, L., Espinoza-Carniglia, M., Lizama-Schmeisser, N., Torres, L.G., Silva-de la Fuente, M.C., Lareschi, M., González-Acuña, D. (2019). Fleas of black rats (*Rattus rattus*) as reservoir host of *Bartonella* spp. in Chile. *PeerJ* 7:e7371
77. Miranda, J., Mattar, S., Perdomo, K. & Palencia, L. (2009). Seroprevalencia de Borreliosis, o Enfermedad de Lyme, en una Población Rural Expuesta de Córdoba, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 11(3), 480–489.
78. Moro, V., Chauve, C. & Zenner, L. (2005). Vectorial role of some Dermanssoid mites (Acari, Mesostigmata, Dermanssoidea). *Parasite*, 12(2), 99–109.
79. Morse, S., Olival, K., Kosoy, M., Billeter, S., Patterson, B., Dick, C. & Dittmar, K. (2012). Global distribution and genetic diversity of *Bartonella* in bat flies (Hippoboscoidea, Streblidae, Nycteribiidae). *Infection, Genetics and Evolution*, 12(8), 1717–1723.

80. Mostorino, R., Anaya, E., Mendoza, L. & Rosas, A. (2003). Identificación de una nueva área de infección por rickettsias del grupo typhi: estudio de un brote de tifus en Huánuco. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 20(1), 15–21.
81. Nava, S., Elshenawy, Y., Eremeeva, M. E., Sumner, J. W., Mastropaolo, M. & Paddock, C. D. (2008). *Rickettsia parkeri* in Argentina. *Emerging Infectious Diseases*, 14(12), 1894–1897.
82. Nava, S., Barbieri, A. M., Maya, L., Colina, R., Mangold, A. J., Labruna, M. B., Venzal, J. M. (2014). *Borrelia* infection in *Ixodes parvicinus* ticks (Acari: Ixodidae) from northwestern Argentina. *Acta Tropica*, 139, 1–4
83. Need, J. T. & Escamilla, J. (1991). Lyme Disease in South America?. *The Journal of Infectious Diseases*, 163, 691–182.
84. Neira, O., Cerda, C., Alvarado, M. A., Palma, S., Abumohor, P., Wainstein, E., Guzmán, L., Juliet, C., Pérez, C., Raggio, X., Rojas, I., Honorato, H., Alcaíno, H. & Fredes, F. (1996). Lyme disease in Chile. Prevalence study in selected groups. *Revista Médica de Chile*, 124(5), 537–544.
85. Netušil, J., Žáková, A., Vostal, K., Norek, A. & Stanko, M. (2013). The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in certain ectoparasites (Mesostigmata, Siphonaptera) of *Apodemus flavicollis* and *Myodes glareolus* in chosen localities in the Czech Republic. *Acta Parasitologica/ Witold Stefański Institute of Parasitology*, 58(3), 337–41.
86. Nieri–Bastos, F. A. (2012). Avaliação da infecção por *Rickettsia* spp. em *Amblyomma triste* Koch (Acari: Ixodidae) e em algumas espécies de *Ornithonyssus* Sambon (Acari: Macronyssidae). Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, Brasil.
87. Ogata, H., La Scola, B., Audic, S., Renesto, P. & Blanc, G. (2006) Genome sequence of *Rickettsia bellii* illuminates the role of amoebae in gene exchanges between intracellular pathogens. *PLoS Genetic*, 2(5), e76.

88. Oliveira, R., Galvão, M., Mafra, C., Chamone, Ch. Calic, S., Silva, S. & Walker, D. (2002). *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. Fleas, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 8(3), 317–319.
89. Oliver, J. H., Owsley, M. R., Hutcheson, H. J., James, M., Chen, C., Irby, W. S., & McLain, D. K. (1993). Conspicuity of the ticks *Ixodes scapularis* and *I. dammini* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 30(1), 54–63.
90. Pacheco, R. C., Venzal, J. M., Richtzenhain, L. J. & Labruna, M. B. (2006). *Rickettsia parkeri* in Uruguay. *Emerging Infectious Diseases*, 12(11), 1804–1805.
91. Paddock, C. D., Fernandez, S., Echenique, G. a, Sumner, J. W., Reeves, W. K., Zaki, S. R. & Remondigni, C. E. (2008). Rocky Mountain spotted fever in Argentina. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 78(4), 687–692.
92. Pang, K. H. 1941. Isolation of Typhus Rickettsia from Rat Mites During Epidemic in an Orphanage. *Experimental Biology and Medicina*, 48(1), 266–267.
93. Pérez–Martínez, L., Venzal, J., González–Acuña, D., Portillo, A., Blanco, J., & Oteo, J. (2009). *Bartonella rochalimae* and Other *Bartonella* spp. in Fleas, Chile. *Emerging Infectious Diseases*, 15(7), 1150–1151.
94. Pérez–Martínez, L., Blanco, J. R. & Oteo, J. A. (2010). Tratamiento de las infecciones por *Bartonella* spp. *Revista de Española de Quimioterapia*, 23(3), 109–114.
95. Philip, C. B. & Burgdorfer, W. (1961). Arthropod vectors as reservoirs of microbial disease agents. *Annual Review of Entomology*, 6, 391–412.
96. Rahdar, M. & Vazirianzadeh, B. (2009). A case report of tropical rat mite infestation *Ornithonyssus bacoti* (Dermanyssidae: Acarina) in Ahvaz, SW Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 2(2), 78–80.
97. Radovsky, F. J. (1994). The evolution of parasitism and the distribution of some Dermanyssoid mites (Mesostigmata) on vertebrate hosts. En: Marilyn, A.H. (Ed.). *Mites Ecological and evolutionary analyses of life–history patterns*. pp. 186–217. Chapman & Hall, New York, USA.

98. Reeves, W. K., Dowling, A. P. & Dasch, G. A. (2006). Rickettsial agents from parasitic Dermanyssoidea (Acari: Mesostigmata). *Experimental and Applied Acarology*, 38(2–3), 181–188.
99. Reeves, W. K., Loftis, A. D., Szumlas, D. E., Abbassy, M. M., Helmy, I. M., Hanafi, H. A. & Dasch, G. A. (2007). Rickettsial pathogens in the tropical rat mite *Ornithonyssus bacoti* (Acari: Macronyssidae) from Egyptian rats (*Rattus* spp.). *Experimental and Applied Acarology*, 41(1–2), 101–107.
100. Renvoisé, A., Van't wout, J. W., Van der Schroeffer, J. G., Beersma, M. F. & Raoult, D. (2012). A case of rickettsial pox in Northern Europe. *International Journal of Infectious Diseases*, 16(3), e221–e222.
101. Rodríguez–González, I. (2013). Actualización acerca de *Borrelia burgdorferi* sensu lato y enfermedad de Lyme. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 65(2), 149–165.
102. Rolain, J. M., Franc, M., Davoust, B. & Raoult, D. (2003). Molecular Detection of *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *Rickettsia felis*, and *Wolbachia pipientis* in Cat Fleas, France. *Emerging Infectious Diseases*, 9(3), 338–342.
103. Rosen, S., Yeruman, I. & Braverman, Y. (2002). Dermatitis in humans associated with the mites *Pyemotes tritici*, *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus bacoti* and *Androlaelaps casalis* in Israel. *Medical and Veterinary Entomology*, 16(4), 442–444.
104. Roux, V. & Raoult, D. (1995). Phylogenetic analysis of the genus *Rickettsia* by 16S rDNA sequencing. *Research in Microbiology*, 146(5), 385–396.
105. Roux, V. & Raoult, D. (2000). Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer–membrane protein rOmpB (ompB). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(4), 1449–1455.
106. Rudenko, N., Golovchenko, M., Grubhoffer, L. & Oliver, J. H. (2011). Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. *Ticks and Tick Borne Diseases*, 2(3), 123–128.

107. Saunders, R. C. (1975). Venezuelan Macronyssidae (Acarina: Mesostigmata). *Brigham Young University Science Bulletin, Biological Series*, 20(2), 75–90.
108. Silva–de la Fuente, M. C. (2014). Ecología de ácaros Mesostigmata asociados a roedores del norte de Chile. *Tesis de Magíster*. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
109. Silva, L. J. & Papaiordanou, P. M. (2004). Murine (endemic) typhus in Brazil: case report and review. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 46(5), 283–5.
110. Silveira, I., Pacheco, R., Szabó, M., Ramos, H. & Labruna, M. (2007). *Rickettsia parkeri* in Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 13(7), 1111–1113.
111. Soares, C. O., Ishikawa, M. M., Fonseca, A. H. & Yoshinari, N. H. (2000). Borrelioses, agentes e vetores. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 20(1), 1–19.
112. Stanchi, N. O. & Balague, L. J. (1993). Lyme disease: antibodies against *Borrelia burgdorferi* in farm workers in Argentina. *Revista de Saude Publica*, 27(4), 305–307.
113. Stothard, D., Clark, J. & Fuerst, P. 1994. Ancestral Divergence of *Rickettsia bellii* from the Spotted Fever and Typhus Groups of *Rickettsia* and Antiquity of the Genus *Rickettsia*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(4), 798–804.
114. Strandtmann, R. W. & G. W. Wharton. (1958). A manual of mesostigmatid mites parasitic on vertebrates. *Institute of Acarology*. Meryland, USA.
115. Tsai, Y., Chang, Ch., Chuang, S., & Chomel, B. (2011a). *Bartonella* species and their ectoparasites: Selective host adaptation or strain selection between the vector and the mammalian host?. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 34 (4), 299– 314.

116. Tsai, Y., Lin, Ch., Chomel, B., Chuang, S., Tsai, K., Wu, W., Huang, Ch., Yu, J., Sung, M., Kass, P., & Chang, Ch. (2011b). *Bartonella* Infection in Shelter Cats and Dogs and Their Ectoparasites. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, 11(8), 1023–1030.
117. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725–2729.
118. Verdugo, C., Jiménez, O., Hernández, C., Álvarez, P., Espinoza, A., & González-Acuña, D. (2017). Infection with *Borrelia chilensis* in *Ixodes stilesi* ticks collected from *Pudu puda* deer. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 8(5), 733–740.
119. Vásquez, T. P., Chanqueo, C. L., García, C. P., Poggi, M. H., Ferrés, G. M., Bustos, M. M. & Piottante, B. A. (2007). Angiomatosis bacilar por *Bartonella quintana* en un paciente con infección por virus de inmunodeficiencia humana. *Revista Chilena de Infectología*, 24(2), 155–159.
120. Venzal, J. M., Pérez-Martínez, L., Félix, M. L., Portillo, A., Blanco, J. R. & Oteo, J. A. (2006). Prevalence of *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis* from Uruguay. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1078: 305–308.
121. Vishwanath, S. (1991). Antigenic relationships among the rickettsiae of the spotted fever and typhus groups. *FEMS Microbiology Letters*, 65(3), 341–344.
122. Walter, D. E. & Proctor, H. C. (2013). *Mites: ecology, evolution, and behaviour: life at a microscale*. Springer, NY, USA.

123. Wang, G. & Schwartz, I. (2011). Genus *Borrelia*. In: Krieg, N., Staley, J., Brown, D., Hedlund, B., Paster, B., Ward, N., Ludwig, W. & Whitman, W., (Eds.). En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes*. pp. 484–531. Springer; New York.
124. Wang, G., Van Dam, A. P., Schwartz, I. & Dankert, J. (1999). Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 633–653.
125. Wood, D. O., Williamson, L. R., Winkler, H. H., & Krause, D. C. (1987). Nucleotide sequence of the *Rickettsia prowazekii* citrate synthase gene. *Journal of Bacteriology*, 169(8), 3564–3572.
126. Wolff, M. (2000). Cambios epidemiológicos en las enfermedades infecciosas en Chile durante la década 1990–2000. *Revista Médica de Chile*, 130(4), 353–362.
127. Woolhouse, M. E. & Gowtage-Sequeria, S. (2005). Host Range and Emerging and Reemerging Pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 11(12), 1842–1847.
128. Zanardi, B., Couto, J., Stainki, D. & Monteiro, S. (2017). Dermatitis by *Cheyletus eruditus* in man. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 9, 63–64.
129. Zavala, J., Ruiz, A. & Zavala, J. (2004). Las Rickettsias del grupo de las fiebres manchadas: Respuesta inmune y sus proteínas inmunodominantes. *Revista Médica de Chile*, 132(3), 381–387.
130. Zeaiter, Z., Liang, Z. & Raoult, D. (2002). Genetic classification and differentiation of *Bartonella* species based on comparison of partial *ftsZ* gene sequences. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(10), 3641–3647.