

ESTUDIO MORFOLOGICO, HISTOLOGICO E HISTOQUIMICO DE LA GLANDULA VENENOSA DE ALGUNAS ESPECIES DE ALACRANES DE LOS GENEROS VEJOVIS C. L. Koch, DIPLOCENTRUS Peters Y CENTRUROIDES Marx.

Por

AMELIA SAMANO BISHOP

y

MYRIAM GOMEZ DE FERRIZ

Instituto de Biología

Según los trabajos del Profesor Carlos C. Hoffmann (1931-36), los alacranes de México son el remanente de una fauna muy antigua del continente Norteamericano. Las condiciones climatológicas adversas, especialmente el descenso de la temperatura en el norte, determinaron la emigración de esta fauna hacia el sur, y en México encontraron condiciones favorables, al grado de formar un centro de aislamiento, de evolución y más tarde de distribución. Dicho autor explica la relativa pobreza en géneros debida precisamente a que la primitiva invasión de los alacranes se limitó al sur de los Estados Unidos y a México; ésta comprende nueve géneros, más dos de una fauna Sudamericana. Sin embargo el género *Centruroides* y el *Vejovis* encontraron condiciones propicias y su evolución alcanzó un alto grado; del primero se han descrito 32 especies y subespecies y del segundo 24.

En México, los alacranes abundan en las regiones cálidas y secas del sur y particularmente en la zona del Pacífico. La fauna de alacranes de México está representada por tres superfamilias: *Scorpionidae*, *Chactoidae* y *Buthoidae*. Nuestro estudio comprende especies correspondientes a tres géneros: *Vejovis*, *Diplocentrus* y *Centruroides* y las especies son: *Vejovis mexicanus mexicanus* C.L. Koch, *Vejovis punctatus punctatus* Karsch, *Vejovis mexicanus smithi* Pocock, *Diplocentrus keyserlingi* tehuanus Hoffmann, *Centruroides limpidus limpidus* Karsch, *Centruroides limpidus tecomanus* Hoffmann y *Centruroides noxius* Hoffmann.

La biología de los alacranes es muy interesante y desde hace mucho tiempo estos arácnidos han sido sujetos de estudio.

Los alacranes son animales peligrosos por la toxicidad del veneno de la glándula situada en el telson; en las regiones donde

abundan, ocasionan numerosas muertes especialmente entre los niños. Sin embargo no todos los alacranes son igualmente venenosos, parece que existen grandes diferencias en la toxicidad.

Hace tiempo que iniciamos el estudio histológico comparado de la glándula venenosa de algunas especies y recientemente, hemos incluido la morfología, histología e histoquímica de las especies de tres géneros representativos de las tres superfamilias que han sido encontradas en el país. Hemos creído necesario añadir algunos datos derivados de estudios comparados con el propósito de lograr un conocimiento más amplio de tan interesante grupo de Arácnidos.

Numerosos investigadores han hecho excelentes estudios taxonómicos de las faunas de alacranes de diversas partes del mundo: la del noroeste de Africa ha sido revisada y reclasificada con mucha precisión. Los alacranes de México han sido estudiados por Hoffmann (1931-36) y sus observaciones ecológicas son muy valiosas.

Sobre morfología, Vachon (1952), trata someramente algunos aspectos de la glándula venenosa de una especie europea, *Buthirius vittatus* (Guérin); de las especies americanas, no existen más que nuestros trabajos sobre morfología e histología sin publicar y los estudios de tesis que asignamos a tres pasantes de Biología (Myriam Gómez Martínez, María Fernanda Ruiz Durá y Olivia Martínez). Acerca de la histoquímica no tenemos conocimiento de ningún trabajo. En México se han hecho interesantes investigaciones sobre el veneno de los alacranes (Anguiano 1934-47); en relación con mecanismos de acciones farmacológicas, fisiológicas o con alternaciones funcionales en el individuo intoxicado, Altamirano (1899), Vergara Lope (1904), Ocaranza 1923-26), Del Pozo, J. González Q. y T. H. Méndez

M. (1949) y fisiólogos de otros países como Wilson (1904), Houssay (1919) etc. De carácter inmunológico son los trabajos de Ruiz Castañeda (1933), Cervera y Varela (1936) y Anguiano (1943).

En Brasil se han hecho estudios farmacológicos de *Tityus*, este género es peligroso en ese país; los trabajos fueron realizados por C. R. Diniz y J. M. Goncalves (1925). Dichos autores llegaron a la conclusión de que el principal componente tóxico es una substancia termoestable, de bajo peso molecular y que ésta substancia está probablemente ligada a una proteína con acción sobre el músculo liso semejante a la serotonina.

MATERIAL Y METODOS

La colecta del material se realizó por el personal del Laboratorio de Histología y Embriología del Instituto de Biología; la mayor cantidad de dicho material proviene de Iguala, Gro. y de Tehuacán, Pue., otros alacranes fueron colectados en Nueva Italia, Mich., en Nayarit y en el Distrito Federal.

Se trató de mantener los ejemplares vivos en el Laboratorio para sacrificarlos en el momento apropiado. Para estudio morfológicos se utilizaron todos los alacranes que no hubieran subsistido por la escasez de alimento, (insectos vivos) y se fijaron en diferentes mezclas: Bouin, Zenker, Helly y formol al 10%. Las técnicas histoquímicas requieren material muy fresco y de ellas hablaremos posteriormente.

Este trabajo fue un verdadero problema técnico; la fijación, deshidratación e inclusión se dificultan especialmente al tratar de obtener cortes totales, las glándulas enteras no permiten una buena superficie de penetración, debido a que los reactivos solamente pueden entrar a nivel del sitio de sección en la parte terminal del artejo posterior, porque la difusión a través de la cutícula se efectúa muy lentamente. El problema de infiltración se resolvió incluyendo al vacío. Para facilitar el corte se pretendió ablandar previamente la quitina sometiendo la glándula a la acción de la potasa en ebullición, procedimiento que no dió resultados porque el tejido glandular se alteró. Se probó con éxito el decalifica-

dor de Evans y Krajain durante 12 horas, después de la fijación a base de citrato de sodio y ácido fórmico.

Se lograron cortes de 10 a 15 micras y se procedió a la tinción, la cual también se dificultó debido a la cutícula, que por su dureza no se adhiere debidamente al porta objetos y al desprenderse llevaba consigo el tejido glandular. Se probó la adhesión con gelatina en mayor concentración que la utilizada en cortes histológicos normales, seguida de calentamiento prolongado a 39°; además, antes de la tinción se cubrió con una película de celoidina al 2%. Con este procedimiento no se desprendieron los cortes, sin embargo no lo seguimos posteriormente por temor a que los arifícios de la técnica pudieran alterar la estructura. Para el estudio morfológico se utilizaron numerosas vesículas para hacer una reconstrucción a manera de mapas de los cortes que se podían obtener, ya que fue imposible lograr una serie completa de una sola vesícula.

El material para histología se preparó de diferente manera. En primer lugar se irritó al alacrán con el fin de conseguir un epitelio libre de la mayor cantidad de secreción, e inmediatamente después se seccionó la glándula separándola del metasoma. Para facilitar la fijación, deshidratación e inclusión de la glándula y no necesitándose cortes en serie, se desprendió la quitina restante para cortar la pieza. En este caso no se pueden emplear técnicas de decalcificación. Los métodos histológicos que rindieron mejores resultados son los siguientes: para el tejido conjuntivo, previa fijación adecuada, el método de Van Gieson, Mallory, Tricrómica de Masson y Gallego; para núcleos y el tejido en general hematoxilina de Harris, de Heidenhain, y Bodian. Para el condrioma los métodos de Altmann, Bensley, Goldman, Regaud y para el material de Golgi, Sudan Black, un rano-formol de Ramón y Cajal, Da Fano y Aoyama. Los ejemplares colectados para realizar este trabajo fueron numerosos, más de mil alacranes de las distintas especies mencionadas.

ANATOMIA EXTERNA DEL TELSON.

Las glándulas venenosas del alacrán están situadas en el extremo posterior del me-

tasoma en el interior del telson, el cual está cubierto de una cutícula quitinosa muy gruesa.

En la base de la vesícula, (telson) hay un pedículo cuyo tamaño varía con la especie; en la base de éste se encuentran las papilas anales y una plaquita quitinosa llamada placa pedicular. De la parte ventral del telson arranca un largo y fino agujón que utiliza como aguja hipodérmica, para inyectar el veneno. La longitud y curvatura del agujón (aculeus) así como las proporciones relativas entre éste y la vesícula son de interés taxonómico.

La parte distal de la vesícula está provista de dos cerdas simples, grandes, a partir de las cuales se considera que comienza el agujón. En la base de éste, se presenta un diente subaculear, bien desarrollado en las especies *limpidus limpidus*, *limpidus tecomanus* y *noxius* del género *Centruroides* y *Diplocentrus keyserlingi* tehuacanus pero ausente en el género *Vejovis*.

ANATOMIA INTERNA DEL TELSON.

El tegumento de los escorpiones está constituido por un epitelio simple, cubierto de una gruesa capa de cutícula, dispuesto sobre una membrana epitelial. Las células epiteliales son de forma cúbica con núcleo grande y redondo, y el protoplasma contiene gran cantidad de gránulos de pigmento de color café claro, (Fig. 1). Entre el epitelio se encuentran células glandulares cuya secreción es importante para el desarrollo de la cutícula, dichos elementos vierten su secreción al exterior a través de canales que atraviesan la cutícula de un lado a otro o pueden no abrirse al exterior, estos canales permanecen intactos o se rellenan de material cuticular constituyendo pilares que proporcionan mayor rigidez. (Fig. 2)

Exteriormente la cutícula presenta formaciones muy variadas, tales como granulaciones, puntos, espinas sensorias y estriaciones que son de interés taxonómico. La cutícula está formada de tres capas superpuestas. La capa externa o epicutícula que protege al cuerpo contra la excesiva humedad del medio ambiente o contra la desecación, esta capa contiene fenoles derivados de la tirosina contenida en la linfa. La exocuti-

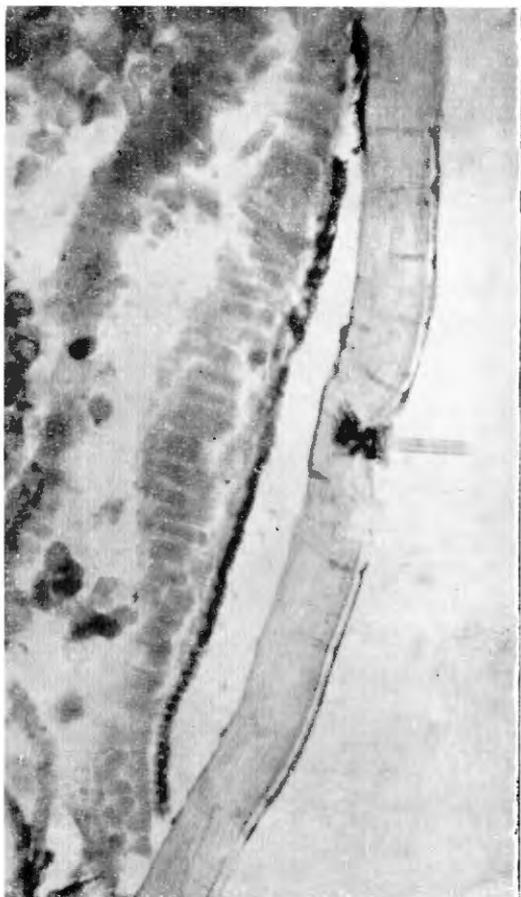


Fig. 1. Microfotografía que muestra la cutícula y el epitelio cúbico que la origina.



Fig. 2. Cutícula del telson mostrando los canales que vierten la secreción al exterior. Preparación de Ma. Fernanda Ruiz D.).

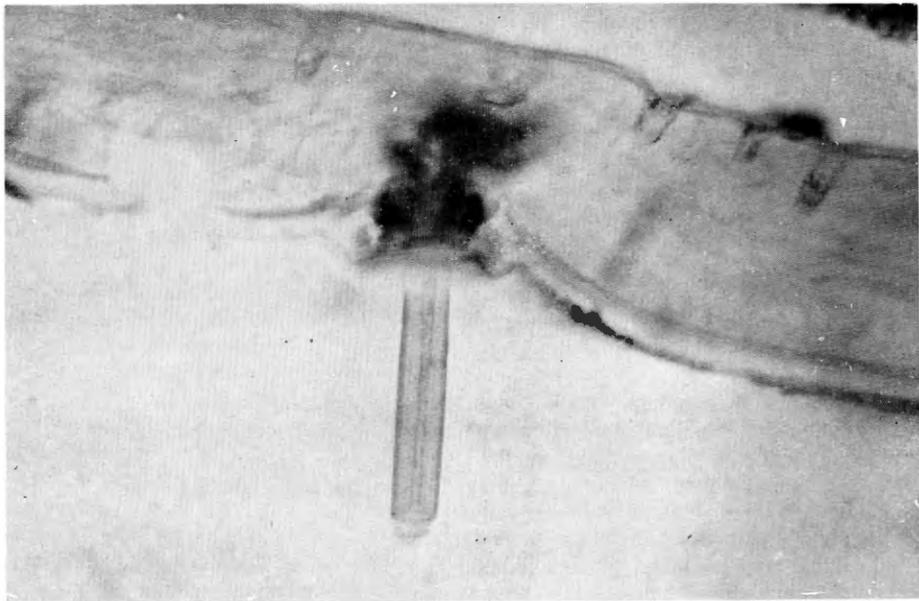


FIG. 3. La cutícula formada por tres capas superpuestas en donde se aprecia la inserción de un pelo sensorio.

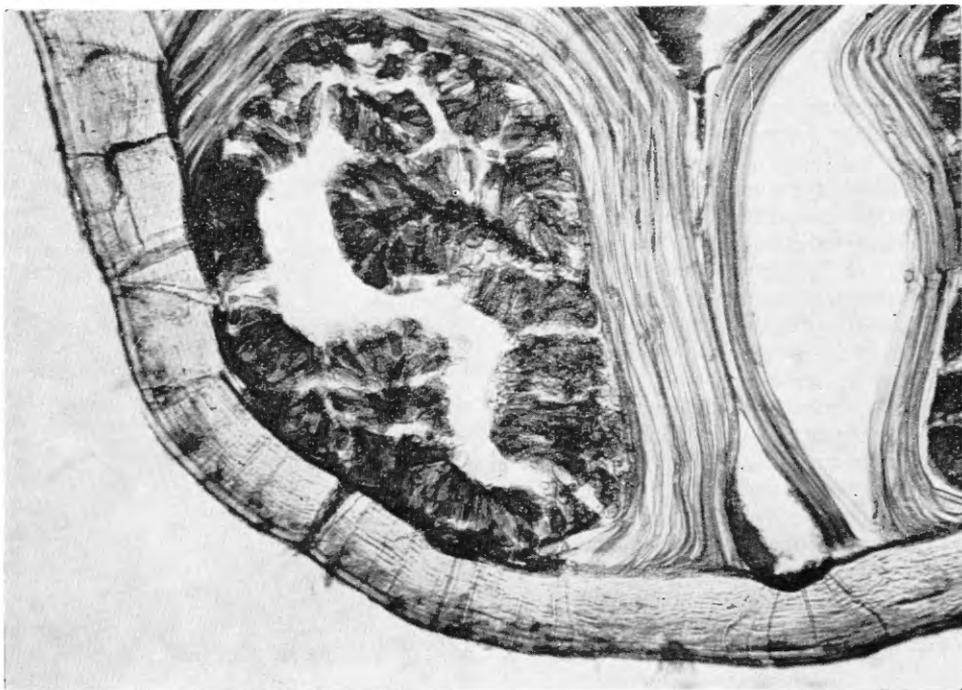


FIG. 4. Corte transversal de las glándulas venosas rodeadas de una cubierta muscular muy densa y a los lados la pared quitinosa.

cula es la capa media relativamente rígida que unida a la siguiente capa o endocutícula constituyen la parte esencial de la cutícula. La endocutícula presenta una parte preexuvial que se forma antes de la muda y otra parte exuvial que se forma después y está constituida de capas alternas de quitina y proteína (artropodina) Grassé 1949). (Fig. 3)

El tejido glandular se encuentra dispuesto simétricamente dentro de su cubierta quitinosa, constituyendo dos glándulas ovoides que adheridas a la parte lateral, se extienden ocupando toda la longitud de la vesícula dejando en la región superior un gran espacio libre, lleno de veneno y linfa. Cada una de estas glándulas ovoides se encuentra cubierta por una fuerte túnica muscular que se adhiere a los apodemas de la cutícula por la parte superior de las paredes laterales, así que envuelve a las glándulas solamente por el lado libre de quitina. (Fig. 4)

La glándula de las especies del género

Centruroides está condicionada a una abundante secreción. Está constituida por un epitelio dispuesto en elegantes proyecciones a manera de vellosidades, que amplían la superficie epitelial. En las distintas especies de este género, las vellosidades varían esencialmente en sus ramificaciones. De la parte anterior del telson se proyectan, al interior de la luz glandular, tres vellosidades que recorren longitudinalmente toda la vesícula. Estas a su vez presentan ramificaciones transversales a las primeras; están totalmente cubiertas de células epiteliales dispuestas en racimos. (Fig. 5) De la porción libre de músculo, es decir, por el único lado que la glándula está en contacto con la cutícula se presentan proyecciones también en dirección perpendicular a la longitud de la vesícula de este modo las vellosidades ocupan casi la totalidad de la cavidad vesicular, dejando solamente un espacio reducido en donde se vierte el veneno. En la parte distal de los tres pliegues longitudinales hay un espacio más o menos grande

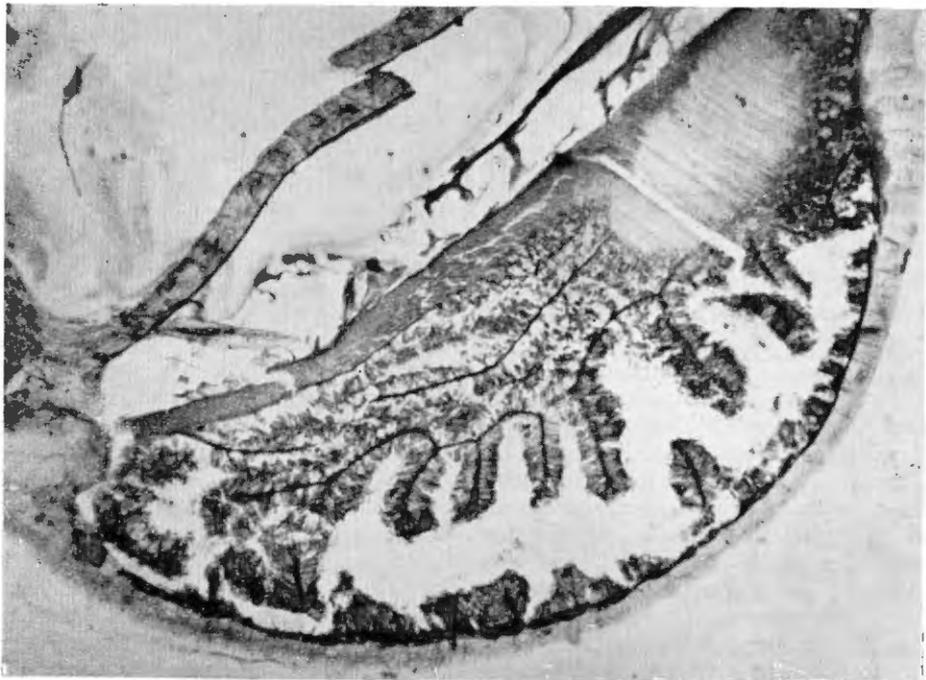


FIG. 5. Corte sagital de la glándula venenosa de *C. limpidus tecomanus*. Las vellosidades epiteliales principales se disponen a lo largo de la vesícula, mientras que las ramificaciones secundarias se orientan perpendicularmente a la cavidad glandular general.

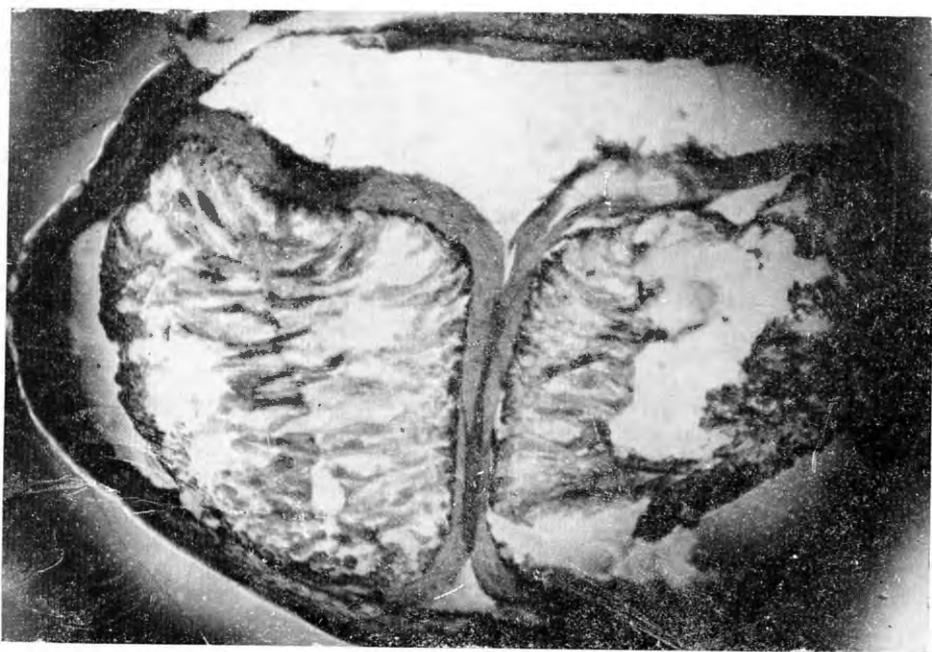


FIG. 6. Corte transversal de la glándula venenosa de *V. mexicanus mexicanus*. La longitud de las células reduce la luz de la cavidad de la glándula.

libre de epitelio que sirve de receptáculo y sitio de almacenamiento de la secreción. (Fig. 6)

Esta disposición del epitelio glandular varía ligeramente en las especies del género *Centruroides*, pero el tamaño de las células sí presenta diferencias notables, pues las células de la glándula de *C. noxius* son mucho más largas que las de las otras dos especies de *Centruroides* (*C. limpidus tecomanues* y *C. limpidus limpidus*). En *Diplocentrus keyserlingi tehuacanus*, el epitelio glandular forma vellosidades más amplias y menos largas y las células son muy variables en tamaño. En el género *Vejovis*, también el epitelio glandular se dispone regularmente sobre la membrana basal, no forma vellosidades y como las células son muy largas y convergen perpendicularmente a la cavidad, reducen la luz de tal manera que presenta la forma de un canal que se continúa posteriormente hasta que se reúnen constituyen como en las otras especies un solo canal excretor.

HISTOLOGIA

Las glándulas venenosas de los géneros que hemos estudiado, vierten el veneno en la cavidad general, amplia (*Centruroides*) o muy estrecha (*Vejovis*) y de allí es expulsado a dos conductos excretores, (Fig. 7) que son las porciones terminales de las cavidades generales de las glándulas. Los conductos excretores recorren la mayor parte del aculeus acercándose gradualmente hasta unirse en un canal excretor común que termina en el agujón (Fig. 8).

El epitelio glandular limita toda la cavidad de las dos glándulas y descansa sobre una fina membrana basal que bordea interiormente la superficie muscular y a los lados sobre el epitelio cúbico que es la capa germinativa que elabora la quitina de la cubierta de la pared del telson, así que el epitelio glandular reviste totalmente la pared interna de ambas glándulas, y consta de células cilíndricas de una sola capa, cuya altura varía en las especies de los géneros

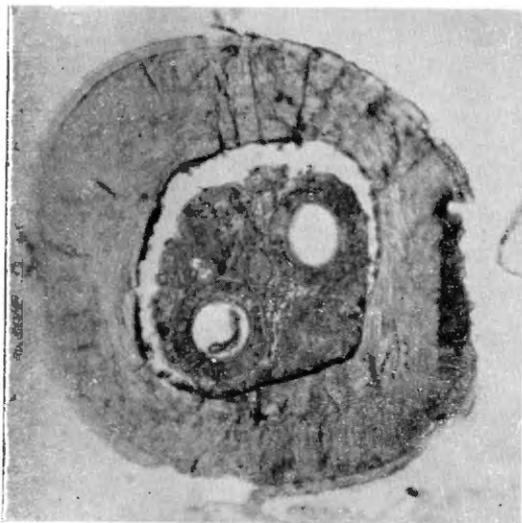


FIG. 7. Microfotografía de la porción terminal del telson, mostrando los conductos excretores de cada una de las glándulas, los cuales se encuentran revestidos de un borde interno quitinoso.



FIG. 8. Microfotografía a nivel del aculeus en donde los dos conductos excretores se han fusionado formando uno de diámetro microscópico.



FIG. 9. Preparación de las glándulas de *V. mexicanus mexicanus* en donde claramente se aprecian los núcleos de las células glandulares y el contenido en gránulos de veneno llenando la totalidad del cuerpo celular que es sumamente largo. (Prep. de Ma. F. Ruiz D.).

que hemos estudiado. Las células más largas se encuentran en las glándulas de las especies del género *Vejovis*; (Fig. 9) más cortas en *Centruroides* y una gran variabilidad en tallas en las células del epitelio de *Diplocentrus*.

De la capa epitelial interna se proyectan hacia la cavidad general, ramificaciones glandulares provistas de un eje conjuntivo. Dichas expansiones a manera de vellosidades, presentan una disposición característica para



FIG. 10. Corte sagital de la glándula venosa de *C. noxius*.

cada género. En las especies de *Centruroides*, las ramificaciones primarias son largas y recorren longitudinalmente la luz de la glándula, en *C. limpidus tecomanus* es muy frecuente encontrar tres ramificaciones paralelas a la longitud de la cavidad, las que a su vez desarrollan ramificaciones laterales de segundo y tercer orden (Fig. 5); esta complicación se observa particularmente en *C. noxius* (Fig. 10).

La disposición de las ramificaciones epiteliales, en *Diplocentrus* es diferente; las expansiones no son tan largas ni presentan ramificaciones laterales de segundo orden, todas parten del epitelio interno de revestimiento. Algunas son un poco más largas y se dirigen hacia la cavidad general, aproximadamente llegan hasta la parte central de la luz, otras son pequeñas y se proyectan perpendicularmente a la superficie de origen. En los tres géneros las vellosidades tienen eje conjuntivo sumamente fino, solamente en *Diplocentrus* es más grueso que en los otros dos (Fig. 11) géneros; en cortes longitudinales pueden observarse de 3 a 4 hileras de núcleos, independientemente

de los núcleos basales de las células glandulares.

El epitelio de la glándula venosa de las especies de *Vejovis*, está constituido por células muy largas dispuestas regularmente sobre su membrana basal y se dirigen hacia la luz de la glándula, dando el aspecto de formación en empalizada. (Fig. 12) Esta disposición de las células reduce la luz general y solamente queda un aspecto muy estrecho que es más bien un canal. El producto elaborado en sus primeras fases con frecuencia ocupa toda la célula. En las especies de *Centruroides* la secreción en formación se localiza en las porciones basal y media de las células.

En todas las especies, la forma cilíndrica de las células es muy regular solamente se altera de acuerdo con el contenido de veneno almacenado en diferentes estados de elaboración. El citoplasma aparece constantemente homogéneo en las células en reposo, en otras no se observaron modificaciones posibles por las numerosas granulaciones que ocupan gran parte del cuerpo celular. Los gránulos basales son siempre muy finos,

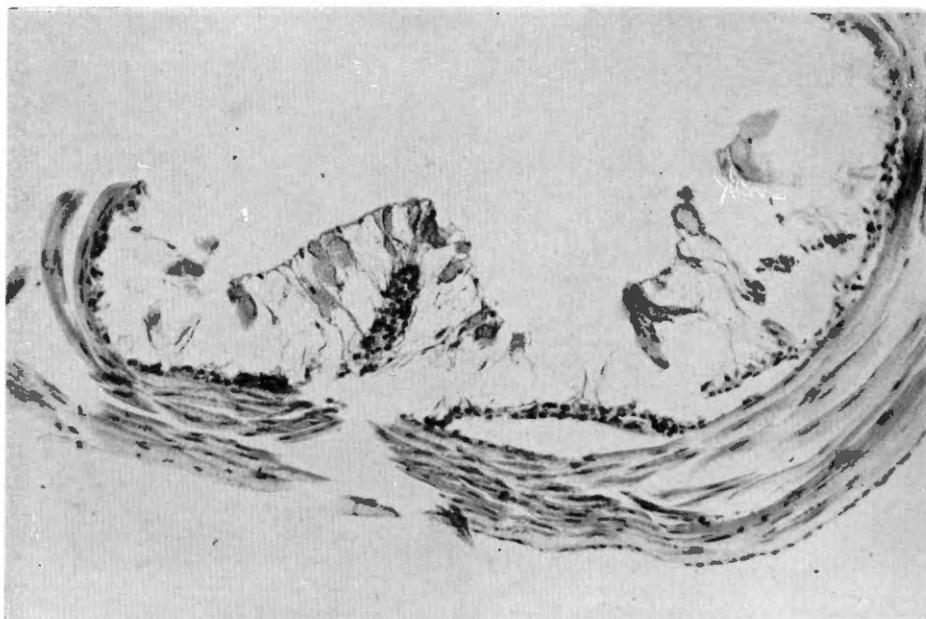


FIG. 11. Corte transversal de la glándula de *D. keyserlinge*, mostrando la característica disposición

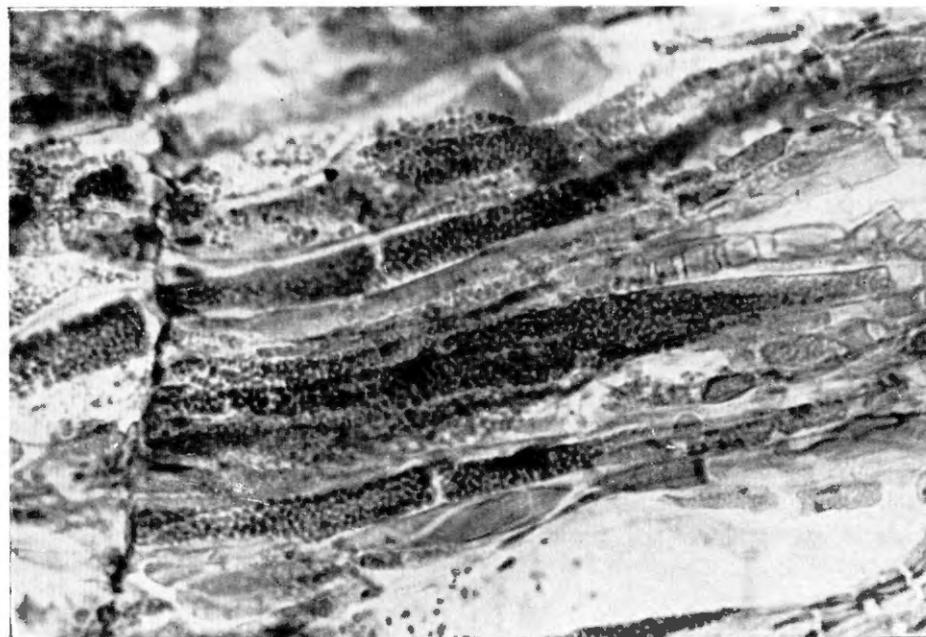


FIG. 12. Microfotografía de las células glandulares de *V. mexicanus mexicanus*, muy largas, conteniendo gránulos de veneno en la última fase de elaboración y regularmente dispuestas en empalizada.

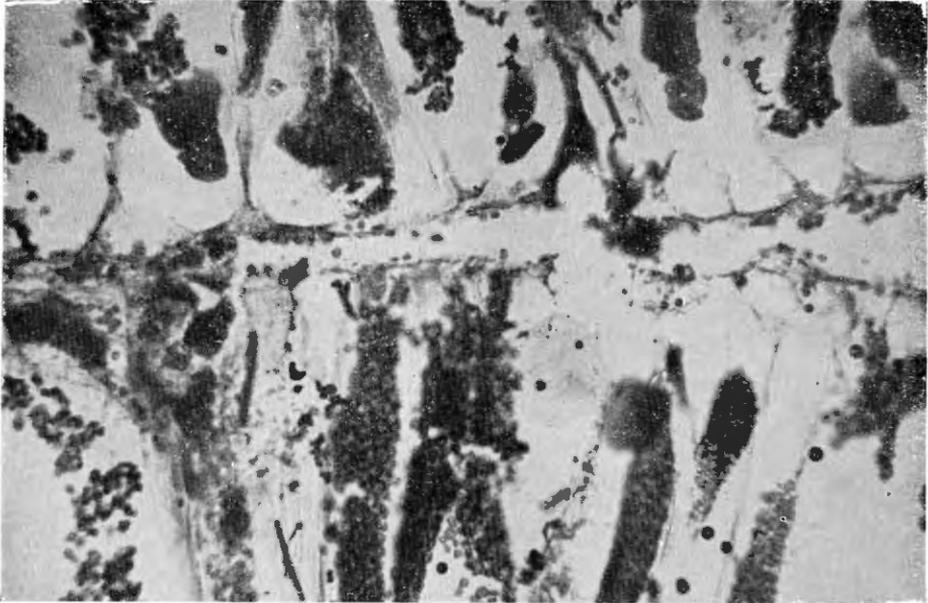


FIG. 13. Células glandulares de *V. punctatus punctatus*, ensanchadas por la gran cantidad de gránulos del veneno, lo cual modifica ligeramente la célula adoptando la forma de clava.

los más grandes ya maduros se encuentran en las porciones proximales de la superficie libre y deforman el extremo celular ensanchándolo a manera de cáliz como se aprecia en las especies de *Centruroides* y *Diplocentrus*, no así en las de *Vejovis* en donde las células en circunstancias análogas tienen la forma de clava. (Fig 13).

Basándonos en un criterio estrictamente morfológico y auxiliados solamente por el microscopio de luz y de las técnicas histológicas clásicas, consideramos que la actividad secretoria presenta cuatro fases: la fase de reposo, la de elaboración, de acumulación y la de expulsión del producto. En la fase de reposo las células presentan citoplasma homogéneo, ninguna técnica histológica reveló algún cambio; en la fase de elaboración, las células presentan en la parte basal numerosas granulaciones finas muy uniformes; en la de acumulación, en la parte media y próxima a la luz de la glándula se acumulan numerosas granulaciones de mayor tamaño, las cuales han llegado a su máximo de formación, el sitio que ocupan en la célula se distiende formando vistosos

cálices particularmente en las especies del género *Centruroides* y *Diplocentrus* o clavas en las especies de *Vejovis*. (Fig. 14). En la fase de expulsión, el veneno sale de la célula formando una saliente, en donde se observan gránulos y una pequeña cantidad de citoplasma; el comportamiento de las células durante la expulsión de la secreción nos permite considerar a estas glándulas como glándula; apocrinas. Cuando el animal es excitado el veneno es rápidamente lanzado a la cavidad general de la glándula, previa ruptura de las células en su extremo terminal. Hemos podido observar que en máximas condiciones de excitación los alacranes pueden lanzar el veneno hasta una distancia de 20 centímetros.

Los núcleos de las células epiteliales son muy grandes, esféricos, típica, pero no invariablemente dispuestos en la base celular; algunas veces se ven a los lados. (Fig 15). La posición del núcleo depende en gran parte de la cantidad de producto elaborado por la célula. Las células glandulares están provistas de membranas muy gruesas y re-

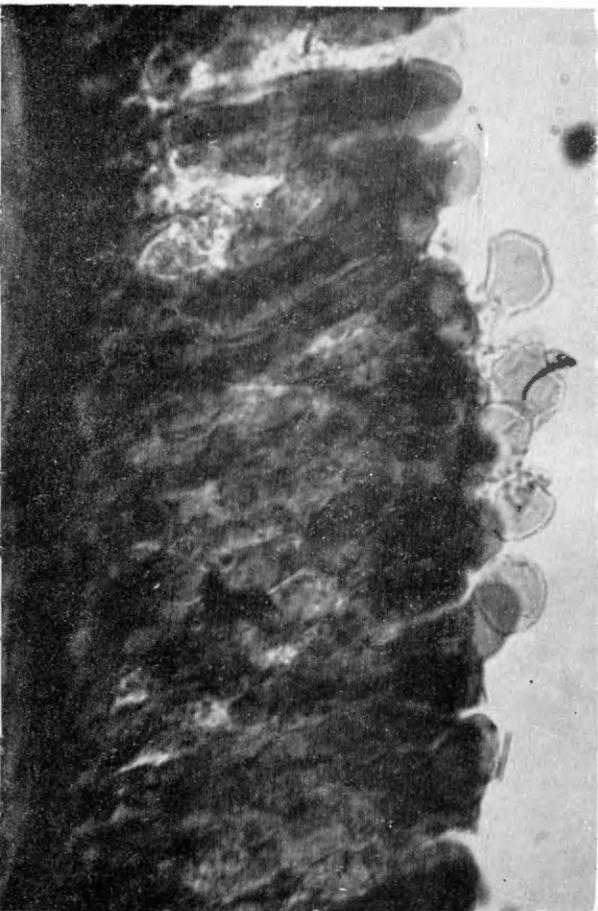


FIG. 14. Superficie de la región de una de las vellosidades epiteliales en el momento de la expulsión del veneno. *C. limpidus limpidus*.

sistentes particularmente las de las glándulas de la especie de *Diplocentrus*, que se pueden distinguir aún sin tinción.

Utilizamos diversos métodos para observar el aparato de Golgi; con el método de Aoyama se destaca con cierta claridad el aparato de Golgi, el cual aparece en forma de finas vesículas aisladas o en conjuntos de tal manera que forman un retículo colocado cerca del núcleo y orientado hacia el polo excretor de las células. (Fig 16).

Respecto al condrioma, con el método de Regaud, éste aparece en grupos de gránulos teñidos selectivamente por dicho método y se disponen en las porciones basales de las células muy cerca de su núcleo.

En torno de los elementos epiteliales se encuentran unas células de forma irregular, poseen membrana muy fina y núcleo pequeño que se tiñe intensamente con los colorantes apropiados; se les encuentra en los intersticios o en las superficies que limitan las regiones basales de las células epiteliales, a veces tienen forma de cesta o se alojan en los espacios intercelulares laterales adhiriéndose a las paredes. La autenticidad de estas células ha sido negada por algunos investigadores, pero tanto por su morfología como por su situación pensamos que son células mioepiteliales que contribuyen a



FIG. 15. Microfotografía del eje de una vellosidad en donde se insertan las células glandulares. Se ven los núcleos epiteliales y dos núcleos conjuntivos en la parte central.

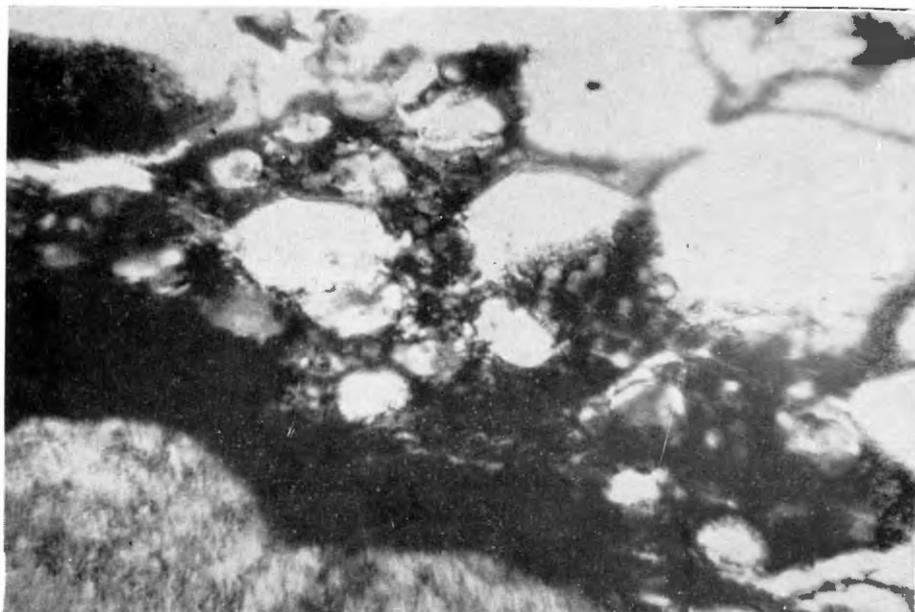


FIG. 16. El aparato de Golgi en forma de finas vesículas en torno del núcleo de dos células glandulares. *C. noxius*.

la contracción individual de las células glandulares y que su acción se suma a la contracción muscular general de la cubierta que rodea a las glándulas.

HISTOQUIMICA.

Para continuar nuestras observaciones morfológicas iniciamos en este trabajo el estudio histoquímico de las glándulas, naturalmente con las limitaciones propias de todo primer intento y de las mismas técnicas histoquímicas que al actuar sobre tejidos vivos no son efectivas en todos los casos y los resultados se reducen con frecuencia a una interpretación descriptiva y cualitativa pues solamente revelan la presencia de determinados grupos en algunas sustancias y no a las sustancias mismas, ni tampoco señalan localizaciones de sustancias puras. Sin embargo posiblemente en futuros trabajos empleando todos los recursos de técnicas histoquímicas se logren aclarar algunos puntos confusos respecto al grado de toxicidad del veneno ya que a este respecto las opiniones son contradictorias.

Glicógeno.—En vista de que el glicógeno es una sustancia muy difundida en los tejidos y tiene una gran actividad metabólica, especialmente en los fenómenos secretorios, se emplearon los métodos que ofrecieran mayor seguridad para reconocerlo pues la mayoría de las reacciones para localizar carbohidratos son poco efectivas y el glicógeno es altamente sensible al inmediato deterioro ocasionado por la muerte, y rápidamente desaparece. Una de las técnicas más experimentadas es la reacción del ácido periódico de Schiff, combinándola con un reactivo nuclear, el de Feulgen modificado por Coleman. La reacción de Feulgen en ninguno de nuestro intentos fue positiva y se procedió al empleo de la hematoxilina de Harris para destacar los núcleos. La falta de especificidad de la mayoría de las reacciones para localizar carbohidratos, y en nuestro caso del glicógeno, exige hacer a la vez preparaciones de control, sometiéndolo el carbohidrato a la acción digestiva de una enzima; nosotros empleamos la amilasa.

El producto de secreción presenta reacción positiva en todas las especies de los alacranes que hemos estudiado, pero la in-

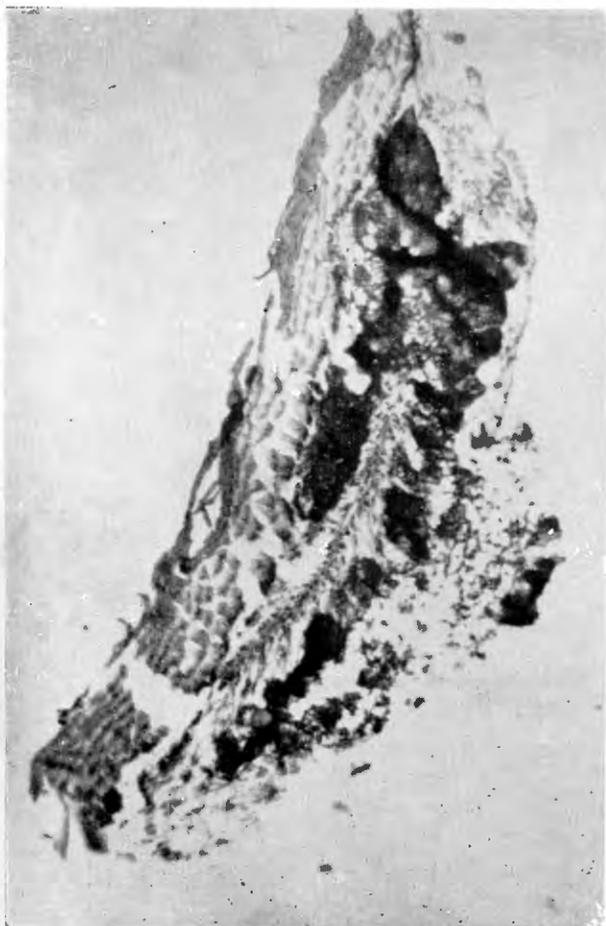


FIG. 17. Corte sagital de una vellosidad de la glándula de *C. noxius*. Las áreas oscuras corresponden al veneno acumulado en los polos excretorios de las células y en donde la reacción de Schiff resultó intensamente positiva.

tensidad de la reacción varía de sitio a sitio a medida que aumenta la concentración del veneno en el polo excretor de las células, pues se ve que la coloración se intensifica progresivamente. El veneno de las especies peligrosas, *C. limpidus limpidus*, la subespecie *tecomanus* y *C. noxius* presentan más intensamente positiva la reacción de Schiff. (Fig. 17) El glicógeno en los tejidos, ligado a otras sustancias no da con el mismo método la coloración que pudimos apreciar en las células secretorias; ya no es el

rojo intenso sino que se vuelve rojo amarillento especialmente en el músculo estriado que envuelve las glándulas.

Fosfolípidos.—Los fosfolípidos son un poco menos difíciles de detectar y como se conocen algunas técnicas bastante efectivas, se procedió a emplearlas; la que dió mejores resultados es la prueba de la hemateína ácida de Bakers. Esta reacción se basa en una formación de lacas de hemateína por postcromatización, diferenciando con ferricianuro bórico a 37°C. La reacción fué positiva en todas las especies y se pudo comprobar aún aislando el material proteico por medio de la piridina. (Fig. 18).

Proteínas en general.—Se ha considerado que el veneno es una proteína ligada a otra substancia, para unos termoestable y para otros autores termolábil. Se principió buscando las proteínas en general, empleando un método sencillo y efectivo; el método de Mazia Brewer y Albert, usando el azul de bromo-fenol mercurico, y fijando en formol. El colorante se hizo en una solución acuosa saturada de cloruro de mercurio, y después del lavado acético diluido se sometió a la acción de una solución buffer de pH 6, 7-7 para restituir al colorante su forma alcalina azul. El método es muy efectivo en la demostración morfológica y cuantitativa de la estructura celular, sin embargo es interesante conocer la abundancia o escasez del contenido protéico de las especies de los 3 géneros; la coloración característica azul oscuro es más intensa en las especies más peligrosas, *C. limpidus limpidus* y *D. keyserlingi*, (Fig. 19) y menos en *V. punctatus punctatus*, (Fig. 20). Los núcleos celulares no se observan con claridad, lo cual implicaría una mayor abundancia de proteína en el citoplasma.

Mucopolisacaridos.—En los arácnidos el mucopolisacarido más abundante es la quitina, como sabemos se encuentra formando el revestimiento externo y rodea los conductos internos en capas que varían en espesor y con el fin de localizar las células que la originan se emplearon métodos para detectar mucopolisacaridos neutros, sin resultados positivos, pues las técnicas conocidas

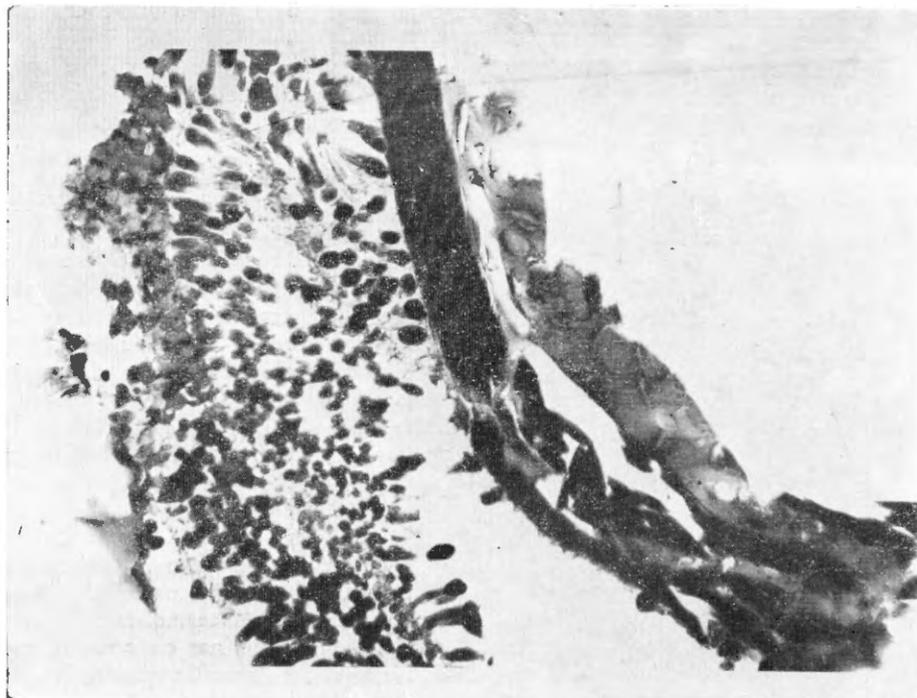


FIG. 18. Microfotografía que muestra la presencia de fosfolípidos en las áreas donde se acumulan los gránulos de veneno. *C. limpidus limpidus*.

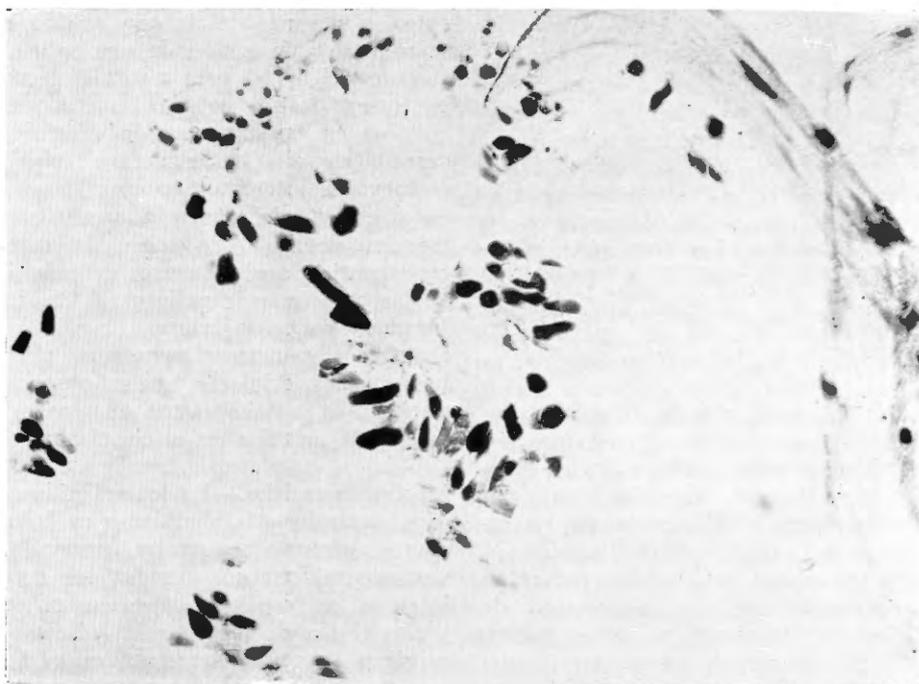


FIG. 19. Microfotografía de una vellosidad de las glándulas de *C. limpidus limpidus*. Las partes oscuras de las células corresponden a la zona intensamente teñida, característica de la reacción positiva de las proteínas en general obtenida por el Método de Mazia, Brewer y Albert.



FIG. 20. Coloración positiva de las proteínas en general en el epitelio de la glándula venenosa de *V. punctatulus punctatus*.

no revelan estados precursores de la formación de la quitina.

Mucopolisacaridos ácidos.—Se empleó el método de Hale (1946) modificado por Mowry, el cual se basa en la absorción selectiva de una solución de hierro coloidal dializado y la subsecuente conversión del hierro absorbido a su sal por medio del ferrocianuro de potasio. Obtuvimos resultados positivos en todas las especies, en el contenido celular la reacción es azul verdoso brillante, el músculo dió un color amarillo y la colágena rojo. (Fig 21)

CONCLUSIONES Y RESUMEN

El estudio de las glándulas venenosas de las especies de los tres géneros correspondientes a las tres Superfamilias que hasta la fecha han sido encontradas en México, muestra aspectos morfológicos, histológicos e histoquímicos interesantes. El plan morfológico general en todas las especies estudiadas es esencialmente semejante; las modifi-

caciones de detalle son características de cada género.

Las especies del género *Centruroides*, (el más peligroso), poseen glándulas provistas de numerosas expansiones formando vellosidades que recorren casi toda la longitud de la cavidad glandular y a su vez forman ramificaciones laterales en donde las células epiteliales se disponen en racimo. En estas especies se reduce la luz general de la cavidad pero se amplía la superficie de excreción.

En los géneros menos peligrosos, *Diplocentrus* y *Vejovis*, el epitelio no forma vellosidades tan largas ni tan ramificadas en *Vejovis*, el epitelio no desarrolla vellosidades pues las células se insertan en la membrana basal y se dirigen perpendicularmente hacia la luz de la cavidad formando un revestimiento en empalizada que reduce la luz y también la superficie de excreción.

Las fases de elaboración del veneno son semejantes en los tres géneros. Por el comportamiento de las células durante la expulsión del veneno, las glándulas son de tipo apocrino.



FIG. 21. Reacción positiva del Método de Hale para la investigación de mucopolisacáridos ácidos del contenido de veneno de la glándula de *D. Keyserlingi*.

Se han descrito las diferencias morfológicas e histológicas de las glándulas de las distintas especies, encontrado que en las especies de los géneros más peligrosos, las células epiteliales son más pequeñas y más

anchas y que las tallas son muy variables, especialmente en el género *Diplocentrus*; en las especies menos peligrosas (las del género *Vejovis*), la longitud de las células es marcadamente uniforme, son sumamente largas y el producto de secreción ocupa toda la célula desde sus primeras fases de elaboración y solamente en la etapa final debido al crecimiento de los gránulos se modifican ligeramente la forma de las células adoptando la de clava.

En el epitelio glandular se han observado unas células de forma irregular, de escaso protoplasma y núcleo pequeño, un poco aplanado el cual se tiñe intensamente con cualquier colorante nuclear. Dichas células se encuentran en la base de las células epiteliales y en los espacios intercelulares laterales de las mismas. Tanto por la situación, y relación con las otras células y por su estructura, pensamos que se trata de células mioepiteliales.

Es interesante que la morfología de la glándula venenosa presente características genéricas sumamente constantes que justifican muy bien la determinación sistemática a que corresponden. Sobre el estudio histoquímico inicial, solamente podemos señalar algunas observaciones respecto a la presencia de glicógeno en los gránulos del veneno puesto en evidencia por la reacción de Schiff especialmente, la cual resultó fuertemente positiva en las especies más peligrosas y mucho menos en las poco peligrosas. Las otras sustancias: proteínas en general, fosfolípidos y mucopolisacáridos ácidos encontrados en las células no acusan diferencias apreciables lo cual posiblemente se debe a que se emplearon técnicas poco sensibles.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALTAMIRANO F. 1899. Algunas obsevaciones fisiológicas sobre los efectos de la ponzoña del alacrán de Jojutla, Mem. Soc. Cient. Antonio Alzate. Vol. 14, pp. 327-30.
- ANGUIANO L. G. 1947. Las toxinas y el veneno de alacrán. Bol. Inst. Est. Med. Biol. México. Vol. V pp. 101-108.
- 1947. Un nuevo método para la obtención del veneno de alacrán. Bol. Inst. Med. Biol. México. Vol. V pp. 29-32.
- DEL POZO E. C. G. ANGUIANO y J. GONZALES Q. 1944. Acciones del veneno del alacrán sobre el sistema vasomotor. Rev. d. Inst. Salub. y Enferm. Trop. Vol. V (4) pp. 227-240.
- 1947. Acciones del veneno del alacrán sobre la actividad motora del músculo estriado. Rev. d. Inst. Salub. y Enferm. Trop. Vol. VIII (4) pp. 231-263.
- 1951. Mechanism, of pharmacological actions, of scorpion venoms. Reprinted from venoms. American Association for the Advanced of Science.
- 1948. The action of venom of a me-

- xican scorpion (*Centruroides noxius* Hoffman) on cholinesterasas. Reprinted from British Journal of Pharmacology and Chemotherapy, Vol. III No. 3 pp. 219.
- 1948. Mecanismo de las acciones del veneno de alacrán. Sobretiro de Gaceta Médica de México. Vol. LXXVIII (5 y 6).
- J. GONZALEZ Q. y T. H. MENDEZ. 1945. Acciones del veneno de alacrán sobre el aparato respiratorio. Rev. d. Inst. Salub. y Enferm. Trop. Vol. VI (2) pp. 77-84.
- 1948. Los efectos musculares del veneno de escorpiones mexicanos. Sobretiro del Bol. Inst. Est. Med. Biol. Vol. VI (3).
- y J. DÉRBEZ M. 1949. Relaciones entre la actividad anticolinesterásica, las propiedades de activación muscular y la toxicidad de los venenos de diversos alacranes de México. Rev. d. Inst. Salub. y Enferm. Trop. Vol. X (2) pp. 203-213.
- MAGALHAES OCTAVIO DE. 1947. O combate ao escorpionismo. Mem. Inst. Oswald Cruz. Rio de Janeiro, Bras.l. Tomo 44 pp. 425-439.
- MARTINEZ O. G. 1964. Notas generales sobre la anatomía e histología de la glándula venenosa del alacrán *Centruroides limpidus limpidus* (Karsch) Tesis profesional.
- MENDEZ PEREZ T. H. 1947. Estudios sobre la ponzoña del alacrán. III Descripción de los efectos en el hombre y en diversos animales. Bol. Inst. Est. Biol. México. Vol. V. pp. 95-99.
- «
- 1947. Estudios sobre la ponzoña del alacrán. IV mecanismos de acciones fisiológicas. Bol. Inst. Est. Med. Biol. México Vol. V. pp. 123-229.
- 1947. Estudios sobre la ponzoña del alacrán. V. Mecanismos de la muerte. Bol. Inst. Est. Med. Biol. México. Vol. V. pp. 177-180.
- PHISALIX M. 1934. Les sens biologique de la fonction venineuse. Libro Jubilar del Prof. Houssay.
- RICHARD M. FOX. Introduction to comparative Entomology. Reinhold publishing corporation New York.
- RICHARDS A. GLENN and ALBERT MILLER. 1937. Insect Development analized by experimental methods: a review.
- RUIZ DURA MARIA FERNANDA. 1963. Morfología e histología de la glándula venenosa de *Vejovis mexicanus mexicanus* C. L. Koch. (Arachnida Scorpionida). Tesis profesional.
- GOMEZ MARTINEZ MYRIAM. 1963. Morfología e histología de la glándula venenosa de *Centruroides limpidus tecomanus* Hoffman. (Arachnida Scorpionida). Tesis.