

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

REVISTA DEL MUSEO DE LA PLATA

(NUEVA SERIE)

XIII

Zoología 135

ESTADOS LARVALES DE TREMATODES DIGENEOS EN MOLUSCOS
MARINOS MYTILUS PLATENSIS d'ORB. Y BRACHYDONTES
RODRIGUEZI d'ORB.

Por MARTA RITA MORRIS (×)

SUMMARY: different larval stages were found in *Mytilus platensis* d'Orbigny and *Brachyodontes rodriguezii* d'Orbigny belonging to the Gasterostomata suborder, trematodes characterized by the possession of a mouth in the midventral surface of the body and the presence of a single saclike intestine.

INTRODUCCION

Pocos son los trabajos sobre el tema del epígrafe realizados en el país: Castellanos Z.A. de 1961, describió en *Mytilus platensis* d'Orb. el esporoquiste y los diferentes estados de formación de cercarias en su interior en el género *Bucephalus*, sin dar detalles ni medidas de las mismas; Szidat, L., 1963, realizó investigaciones parasitológicas en *Brachyodontes rodriguezii* d'Orb., encontrando dos especies de cercarias de trematodes de la familia Bucephalidae, detallando la morfología y biología de estos parásitos; el mismo investigador en 1965 hace una breve descripción morfométrica de las cercarias de la familia Bucephalidae halladas en *Mytilus platensis*; Penchaszadeh, R., 1970, hace referencia a la distribución ecológica de *Mytilus platensis* en el área costera bonaerense.

Hemos considerado de importancia efectuar un estudio más detallado con miras a conocer mejor la morfología y biología de las formas larvales de estos digeneos, ya que parasitan a especies algunas de ellas de gran importancia económica, con el deseo además de aclarar posteriormente su ciclo biológico, estableciendo cuáles son sus hospedadores definitivos que probablemente lo sean peces del litoral de la provincia de Buenos Aires.

MATERIAL Y METODOS

El mejillón *Mytilus platensis* es una especie sedentaria o fija que vive sobre fondos blandos; su explotación comercial se practica en forma exclusiva sobre los bancos circalitorales, áreas tradicionales donde el bivalvo presenta buena talla y máxima densidad poblacional. Este hecho lo distingue fundamentalmente de *Mytilus edulis* y otras espe-

(*) Museo de La Plata, División Zoología Invertebrados

En la región costera de la provincia de Bs. As., se hallan dos de dichos bancos: uno al noreste de Mar del Plata; el otro en el sudeste de puerto Quequén, Necochea.

Para el presente trabajo se utilizó material cedido por el establecimiento E.P.A.S. que depende de la Cooperativa Marplatense de Pesca y del depósito del comercio "Pesca-mar" de La Plata.

Durante el período de dos años: abril de 1977 a marzo de 1979, se procesaron 46 lotes con un total de 1.089 ejemplares (Porcentaje de Parasitismo, PP = 3,58 ‰).

El material a la vista de *Brachyodontes rodriguezi*, se obtuvo del mejillón existente en la zona de punta Canteras (Mar del Plata), recolectado durante la marea baja con la ayuda de una espátula.

De este bivalvo fueron examinados 11 lotes con un total de 398 especímenes (PP = 0,75 ‰), durante el período 1978-1979

Todas las descripciones que siguen se basan en las observaciones realizadas sobre material fresco ya que es fundamental en el estudio de los estados larvales el efectuarlo al microscopio "in vivo", a fin de poder investigar las estructuras internas.

Se trata de mantener estas formas en solución fisiológica al 0,8 ‰ o en agua de mar; a veces se utilizan recipientes estériles con el agregado de antibióticos de amplio espectro, a fin de evitar el desarrollo microbiano.

Parte del material fue además sometido a las técnicas de fijación, coloración, montaje y cortes histológicos.

Para realizar el aislamiento e identificación específica de *Pseudomonas*, se sembró en el medio de V.A.M. que es de enriquecimiento (vaselina-arena-medio mineral), el cual ofrece como única fuente de carbono la vaselina y se incubó a la temperatura ambiente de 48 a 72 horas. A partir de los tubos de V.A.M. en los que se observa turbidez se realiza el aislamiento transfiriendo una ansada a los medios King "A" y King "B" que son selectivos, los cuales favorecen la formación de pirocianina y fluoresceína respectivamente.

ANOTACIONES SOBRE FURCOCERCARIAS DE MYTILUS PLATENSIS D'ORBIGNY

Los especímenes infestados observados lo estaban parasitados exclusivamente por esporocistos y cercarias pertenecientes al suborden *Gasterostomata* Odhner, 1905, familia *Bucephalidae* Poche, 1907, que se caracteriza por la localización ventral de la boca en la mitad del cuerpo y la presencia de un intestino sacular simple o tubular.

Los adultos del grupo son parásitos del tracto digestivo y celoma de peces teleosteos; trabajando sobre formas marinas, Tennent (1906) describió originalmente el ciclo de vida de un *Gasterostomado*.

De acuerdo al grado de infestación en los mitílidos estudiados podemos agruparlos en las siguientes categorías:

1º) En individuos en los cuales la infección es reciente se puede observar sobre la glándula reproductora, una pequeña mancha irregular algo blanqueca respecto al tejido circundante: corresponde a los jóvenes esporocistos, formados por una vesícula central con cortas ramificaciones.

2º) En un estado más avanzado, las ramificaciones del esporocisto crecen en longitud y se transforman en "tubos germinales", los que ocupan el espacio intercelular del órgano citado.

3º) Ya gran parte del tejido del mejillón ha sido reemplazado por una masa fibrilar de color blancoque corresponde a los "tubos germinales". Haciendo una disección de la masa visceral se observa que los esporocistos no sólo penetran en las gónadas sino tam-

bien en la glándula digestiva, palpos y en la pared del pericardio. Los esporocitos contienen acúmulos de células germinales o cercarias inmaduras.

4º) En este estado los tejidos del molusco hospedador aparecen casi completamente destruidos por el gran número de esporocistos y furcocercarias.

La coloración del manto de los moluscos parasitados difiere según el sexo, siendo en la mayoría de los casos anaranjado rojizo en las formas femeninas y blanco amarillento en las masculinas.

Los moluscos fueron examinados durante todos los meses del año; hicimos una división térmica de este período por estaciones según las hidroisotermas mensuales en fría y cálida, que comprenden los meses de mayo a octubre y de noviembre a abril respectivamente. La máxima infestación fue registrada durante los meses correspondientes a la estación cálida (diciembre, enero y febrero).

Las formas libres o furcocercarias se pueden obtener, aunque es más difícil, colocando los moluscos supuestamente infectados en acuarios. Las cercarias maduras son impulsadas fuera por el sifón exhalante; estas nadan activamente durante dos horas y luego se sumergen en el fondo.

ESPOROCISTO

El esporocisto (fig. 1), se presenta como una cavidad irregular con una o más ramificaciones cilíndricas que son los tubos germinales, los que crecen en longitud varios milímetros; generalmente tienen un diámetro uniforme (0,1 mm) pero en algunas porciones pueden sufrir estrechamientos. El extremo final de los tubos es redondeado y de mayor diámetro que el resto; contienen masas germinales y cercarias en diferentes estados de desarrollo. En los cortes se observa que los tubos tienen una fina y homogénea cutícula formada por células de apariencia uniforme, debajo de la cual se visualiza la masa de tejidos muscular. En algunos casos se observa un marcado estrangulamiento en los tubos, al parecer causado por una constricción de la musculatura circular.

Las dimensiones de los esporocistos, dispuesto en los espacios intercelulares de los tejidos del hospedador, son de alrededor de 0,321/0,041 mm. (largo/ancho).

En los órganos reproductores la formación de los productos sexuales queda prácticamente inhibida.

CERCARIA

Existen pocos estudios de las cercarias en lo que respecta a los estados de desarrollo del sistema excretor y de los diferentes órganos que preceden a la emergencia del caracol.

En las cercarias (figura 2) se distingue: el cuerpo, el tronco caudal o cotilo y las furcas o apéndices laterales.

El cuerpo de la cercaria está cubierto por una fina cutícula; debajo de ella se encuentra una capa de células epidermales las que dan al contorno del cuerpo una imagen irregular y a mayor profundidad, la musculatura circular y la longitudinal. De forma alargada, mide 0,22/0,09 mm.; en el extremo anterior se halla el órgano cefálico o de penetración, de aspecto piriforme, con la porción evaginable lobulada y cubierta de espinas. A ambos lados se localizan tres pares de glándulas de penetración.

Observadas las cercarias al microscopio bajo un cubreobjetos es posible apreciar la exudación de un material viscoso por las glándulas de penetración. En las cercarias vivas, teñidas con rojo Neutro, las glándulas de penetración toman color rosado y el cuerpo un intenso amarillo; de este viraje de color se deduce que las primeras son ácidas y el segundo de naturaleza básica.

El cuerpo cambia continuamente de forma por ser muy contráctil, alargándose y

afinándose o acórtandose y aumentando de diámetro.

En la superficie ventral y media del cuerpo se abre la boca en medio de una ventosa muscular, seguida inmediatamente por una faringe formada por masas de musculatura circular, longitudinal y radial, la que se continúa por un corto esófago abierto en un intestino sacular.

El sistema excretor es del tipo mesostomado. En el extremo posterior del cuerpo se localiza la vesícula excretora, de cuya porción media y de cada lado de la misma parte un corto ducto que se divide casi inmediatamente en un conducto colector anterior y otro posterior; estos ductos se extienden hacia el extremo cefálico y caudal respectivamente, recibiendo al mismo tiempo otros en cuyos extremos se hallan las células flami-geras, contándose de cada lado doce protonefridios dispuestos en grupos de cuatro. En la parte posterior de la vesícula toma origen un tubo colector caudal que se bifurca, desembocando en un poro excretor.

Los órganos reproductivos se localizan en posición posterior a la ventosa oral; son rudimentarios, distinguiéndose como una alargada masa de núcleos que se colorean intensamente.

Los órganos del cuerpo están incluidos en un tejido parenquimatoso. Los núcleos de las células de estos tejidos son prominentes y se tiñen fácilmente.

La porción media de la cola o cotilo que se conecta directamente con el extremo posterior del cuerpo tiene una pared gruesa y esférica. En la cercaria viva se observan cuerpos circulares y refringentes sobre la pared de la misma; cuando estos cuerpos se colorean se vuelven uniformemente oscuros y aparecen como sólidas y homogéneas estructuras.

Las furcas son excepcionalmente llamativas por longitud —0,3315/0,089 mm— y contractibilidad. Son cónicas; se originan en el cotilo y se van afinando hacia el extremo libre, recubiertas por una cutícula delgada y uniforme debajo de la cual se halla el saco muscular formado por haces de fibras longitudinales y circulares. En las furcas los cuerpos refringentes se extienden todo a lo largo en dos filas una a cada lado de la línea media, desde la base al extremo final. Se piensa que estos cuerpos son productos de la actividad excretora; estructuras similares han sido vistas en las larvas de otros trematodes.

Observando una secuencia de cercarias en diferente estado de maduración (fig. 3-4-5 y 6) distinguimos una línea transversal extendida de un extremo al otro de la pared del cuerpo; esta línea va a determinar posteriormente la constricción entre el cuerpo y la cola o cotilo. Las furcas rudimentarias son visibles como cortas y anchas proyecciones separadas; a medida que avanza el desarrollo puede observarse su delimitación cada vez más precisa.

Las infestaciones de *Mytilus platensis* por trematodes de la familia *Bucephalidae* afectan a ambos sexos.

Observaciones microscópicas

La observación a través de cortes histológicos permite apreciar que el parénquima gonadal manifiesta destacadas transiciones en su constitución, en los especímenes parasitados por esporocistos y cercarias de la familia *Bucephalidae* (fig. 11 y 12).

Estos estados larvales, presentes en número muy grande, están en íntimo contacto entre sí; en general la infestación es intensiva, ocupando todo el espacio del manto y alcanzando los acinos genitales.

Los esporocistos (fig. 13 y 14) contienen las masas germinales, los embriones de las cercarias o las cercarias listas para emerger; algunos muestran una pared delgada cuyas células exhiben un citoplasma saliente y núcleo turgente. En los esporocistos en camino de degeneración, la pared está en parte desprovista de epidermis y en comunicación directa con los amebocitos.

Se observan células adipogranulosas, donde el citoplasma presenta grumos que indica depósito de reservas, en este caso mucopolisacáridos.

Alrededor del parásito hay acumulación de amebocitos y linfocitos que según los autores son denominados quistes, nódulos o granulomas (fig. 9).

En algunos especímenes parasitados la proliferación es muy intensa: los amebocitos son muy abundantes en las lagunas sanguíneas del borde del manto, en otros casos se encuentra en número reducido, con citoplasma poco granuloso lo que podría indicar que su capacidad de defensa es débil.

El grado de parasitismo es muy variable; en algunas formas se puede observar que no alcanza a todos los órganos, tratándose de los comienzos de la infestación; en otros cortes en cambio se observa una invasión total de los órganos y tejidos (fig. 10).

En los individuos no parasitados el tejido conectivo se desarrolla cerca o junto a las estructuras compactas como son los gonoductos, el tubo digestivo y la zona de inserción de las branquias.

Hemos podido detectar paralelamente que alteraciones en el aspecto morfológico del mejillón pueden ser debidos a una acción microbiana.

A temperaturas próximas a las de congelación se pudo comprobar cambios provocados por bacterias del género *Pseudomonas*, fenómeno que suele llamarse "agriado" aunque en realidad se trata de un proceso proteolítico.

El agriado es producido por modificación del PH el cual ha sido utilizado para determinar la calidad microbiológica de los mejillones, estableciéndose el siguiente rango:

PH	6,2 - 5,9	buena calidad
	5,8 - 5,7	regular calidad
	5,6 - 5,5	alterados
	5,2 y menor	estado de putrefacción (agrios)

El género bacteriano *Pseudomonas* es el responsable de este tipo de alteración en *Mytilus platensis*; se trata de bacilos Gram-Negativos de fácil tinción por los colorantes de anilina corrientes.

A los efectos de establecer si se trata o no de alguna especie patógena para el hombre, se tomó material de la superficie de la masa visceral y manto del bivalvo, sembrándose en los medios corrientes de laboratorio en aerobiós. Las colonias en agar son grandes, irregulares y translúcidas. Luego se siguieron los pasos mencionados al principio para el aislamiento e identificación específica de *Pseudomonas*; en nuestro caso se observó sólo la producción de fluoresceína, tratándose en consecuencia de una especie no patógena.

ANOTACIONES SOBRE FURCOCERCARIAS EN BRACHYDONTES RODRIGUEZI D'ORBIGNY

Los especímenes parasitados lo estaban con esporocistos y cercarias pertenecientes al suborden *Gasterostomata* Odhner, 1905, familia *Bucephaliidae* Poche, 1907. Los estados larvales se localizan en el hepatopáncreas y gónada.

ESPOROCISTO

El esporocisto (fig. 8) ofrece la forma irregular típica de la familia, muy ramificado; los tubos germinales llegan a invadir por completo la cavidad visceral del mejillón.

Exteriormente están recubiertos por una fina cutícula; el diámetro del esporocisto no es uniforme, mostrando cada tanto constricciones y ensanchamientos. En el inte-

rior hay acúmulos de masas germinales y hacia los extremos de los tubos encontramos cercarias en diferente grado de maduración.

Los esporocistos presentan una coloración amarilla más intensa en las zonas correspondientes a las masas germinales.

CERCARIA

El cuerpo es alargado, mide 0,356/0,1125 mm. revestido por una tenue cutícula.

En el extremo anterior (fig. 7) presenta el denominado órgano cefálico o anterior, provisto de seis pares de glándulas de penetración que facilitan la entrada en el segundo hospedador intermediario; estas glándulas se reúnen en ductos que desembocan en el extremo anterior donde la cutícula muestra varias hileras de espinas. El órgano de penetración es contráctil y en el ejemplar vivo se lo ve proyectarse con nitidez hacia el exterior.

Un poco por debajo de la región media del cuerpo aparece la ventosa oral o ventral cuya pared presenta fibras musculares radiales; en el fondo de la misma se abre la boca, continuándose con un intestino sacular extendido en dirección anterior y dentro del cual resultan visibles en ocasiones concreciones de color pardo.

En el extremo posterior del cuerpo se localiza la vesícula excretora piriforme, con su extremo afinado dirigido hacia el cotilo; el aparato excretor es del tipo mesostomado. De la vesícula excretora parte un corto ducto que se bifurca en dos canales excretores laterales; un canal colector anterior y otro posterior que reciben los canalículos de las células flamígeras, reunidas en cuatro grupos de tres células cada uno. Del extremo caudal de la vesícula se origina un canal excretor también bifurcado que termina en un poro excretor a la altura del cotilo.

La porción media de la cola o cotilo mide 0,05/0,088 mm., dividiéndose en dos furcas muy largas de 0,975/0,025 mm.; en algunos ejemplares las furcas son muy finas, asumiendo el aspecto de flagelos y llegando a superar en dos o tres veces las medidas dadas. Las cercarias tienen movimientos muy activos por el continuo batir de las furcas, que exhiben un buen desarrollo de la musculatura circular y longitudinal.

BIBLIOGRAFIA

- CASTELLANOS, Z. J. A. de, 1961 - Estados larvales de Trematodes *Bucephalidae* en el mejillón *Mytilus platensis*.
Notas del Museo de La Plata t: XX N° 188: 21-24.
- KING, E., WARD, M. y RANEY, D., 1954 - Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein.
J. Lab. Clin. Med. 44:301.
- PENCHASZADEK, P. E., 1970 - Estudios sobre el mejillón comercial.
Bol. Inf. Inst. de Biología Marina 1:6-8;
- SZIDAT, L., 1963 - Los parásitos de los Mitflidos y los daños por ellos causados. I. Los parásitos de los mejillines *Brachyodontes rodriguezii* y *Semimytilus algosus*.
Neotrópica 9 N° 29:80.

- 1965 - Los parásitos de los Mitílidos y los daños por ellos causados II. Los parásitos de "*Mytilus platensis edulis*" (d' Orb.) Museo Bernardino Rivadavia. Comunicaciones.

TENNENT, D., 1906 - A study of the life history of *Bucephalus haimeanus* a parasite of the oyster..
Quart. J. Micr. Sc., 49: 635-690.

WOODHEAD, A. E., 1929 - Life history studies on the Trematoda family Bucephalidae.
Trans. Amer. Micr. Soc., 48 (3): 256-275.

EXPLICACION DE LAS LAMINAS

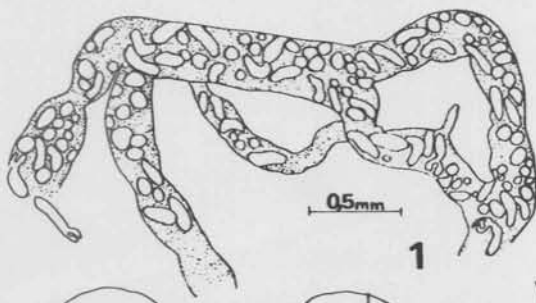
- 1 - Esporocisto de la cercaria de Bucephalidae en *Mytilus platensis*.
- 2 - Cercaria de Bucephalidae.
- 3,4,5 y 6 - Diferentes estados de desarrollo de la cercaria.
- 7 - Cercaria de Bucephalidae en *Brachyodontes rodriguezii*.
- 8 - Esporcisto de la cercaria de Bucephalidae.

ABREVIATURAS: B: boca; CEA: canal excretor anterior; CEP: canal excretor posterior; CF: células flamíferas; CO: cotilo; CU: cutícula; DG: ductos de las glándulas de penetración; ES: espinas; FM: fibras musculares; FU: furcas; GLP: glándulas de penetración; GR: gránulos refringentes; I: intestino; OC: órgano cefálico; PA: parénquima; PE: poro excretor; PG: primordio genital; VE: vesícula excretora; VO: ventosa oral.

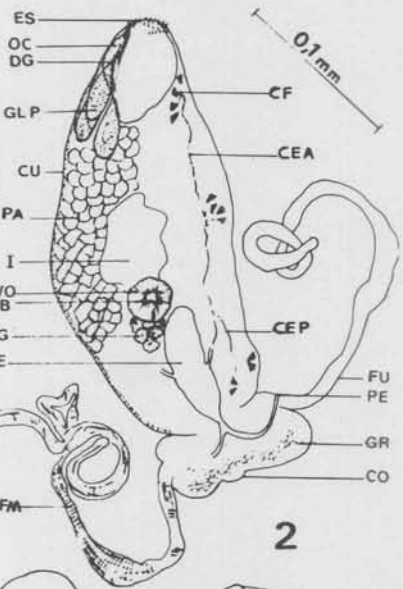
Cortes histológicos de *Mytilus platensis* infestados por trematodes de la familia Bucephalidae.

- 9 - Granuloma
- 10 - Sección a nivel de la glándula digestiva.
- 11 y 12 - Sección a nivel de la gónada.
- 13 y 14 - Corte de un esporocisto.

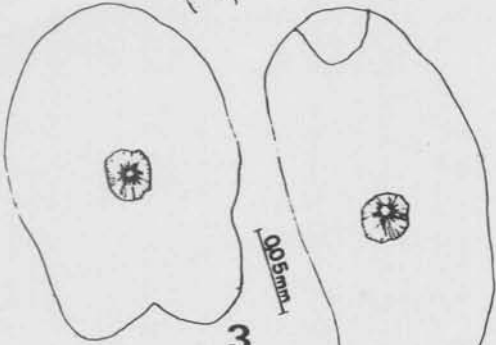
ABREVIATURAS: AM: amebocitos; CE: cercarias; CI: ciegos intestinales; ES: esporocisto vacío; GD: gónada; NCI: núcleo de las células intestinales; TC: tejido conectivo.



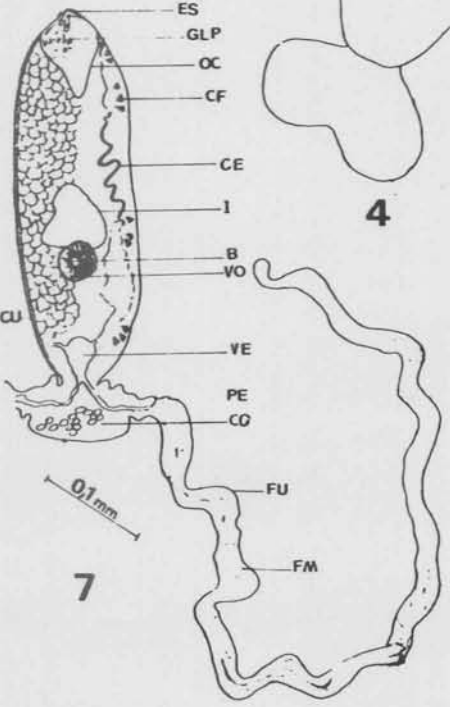
1



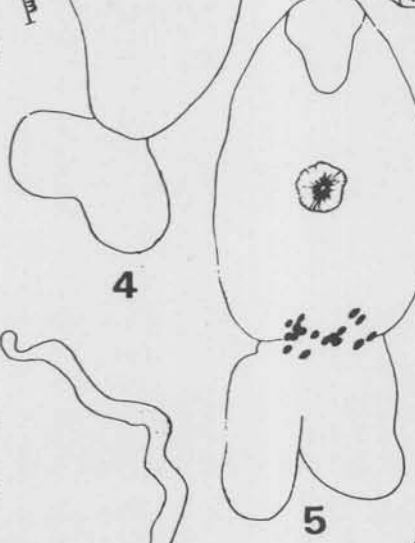
2



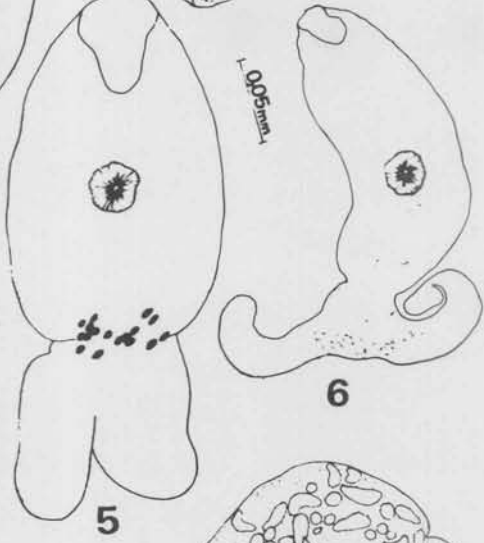
3



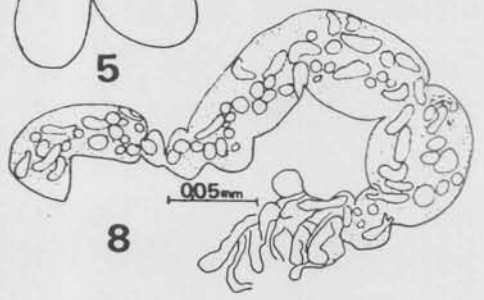
7



4



5



8

- ES
- OC
- DG
- GLP
- CU
- PA
- I
- VO
- B
- PG
- VE
- CF
- CEA
- CEP
- FU
- PE
- GR
- CO
- FM

- ES
- GLP
- OC
- CF
- CE
- I
- B
- VO
- CU
- VE
- PE
- CO
- FU
- FM

