

# PROCTOECES MACULATUS (LOOS, 1901; ODHENR, 1911) (TREMATODA, DIGENEA): ORIGEN Y DESARROLLO DE UNA ESTRUCTURA SENSORIAL DE LA CERCARIA

J. FERRER

Ferrer, J., 1981 (1983). *Proctoeces maculatus* (Loos, 1901; Odhenr, 1911) (Trematoda, Digenea): origen y desarrollo de una estructura sensorial de la cercaria. *Misc. Zool.*, 7: 25-33. Barcelona.

The present study is based on the sensory structures of the cercaria of *Proctoeces maculatus* (Trematoda, Digenea), and in order to observe them under the electron microscope we proceeded to carry a double fixing of the material with glutaraldehyde and OsO<sub>4</sub> and to a subsequent inclusion in araldite. The sensory structure under study consists in a cavity in the skin of the cercaria inside which there is a cilium that lengthens basally in a nerve end. This structure is formed in virtue of a bulbous formation appearing immediately below the skin cytoplasm, and is related with unciliated organs described in other trematode larvae and with their possible mechanoreceptor functions.

J. Ferrer, Dpto. de Morfología microscópica, Fac. de Biología, Univ. de Barcelona, Av. Diagonal 645, Barcelona 28.

## INTRODUCCION

En el presente estudio es el mejillón de la costa gallega, *Mytilus edulis* el hospedador de los esporocistos de *Proctoeces maculatus*, de la familia Fellodistomatidae, los cuales dan lugar directamente a cercarias. Distintas referencias describen formas larvarias de tremátodos redistomatidos parasitando al mejillón, dando los autores de las mismas distintos nombres específicos a las formas encontradas *Cercaria tenuans* COLE 1935, *C. milfordensis* UZMANN 1935, *C. brachidontis* HOPKINS 1954. En 1959 STUNKARD & UZMANN encuentran en mejillones de la costa atlántica americana formas adultas, identificándolas con la especie *Proctoeces maculatus* (LOOS, 1901; ODHNER, 1911). Mucho más recientemente WARDLE (1980) incluye a las tres formas larvarias mencionadas dentro de esta especie.

El ciclo biológico de *Proctoeces maculatus* ha sido descrito en aguas mediterráneas francesas (MARTINEZ, 1972), interviniendo en el mismo, además del mejillón como primer hospedador intermediario (en el que se

desarrollan los esporocistos y las cercarias (fig. 1)) un poliqueto nereidomorfo en el cual se desarrollan las metacercarias, siendo finalmente un pez lábrido el hospedador definitivo. En aguas atlánticas americanas se han descrito ciclos biológicos de *P. maculatus* restringidos totalmente al mejillón (SYPEK, 1979).

Ultraestructuralmente, el tegumento de los tremátodos en general y el de la cercaria en particular, se revela formando por un estrato citoplasmático continuo, anucleado, que descansa sobre una lámina basal debajo de la cual está la musculatura. En la cercaria de *P. maculatus* (figs. 2, 3) el tegumento aparece extremadamente vesiculoso, fruto de la secreción de distintas células glandulares tegumentarias que durante el desarrollo de la cercaria van diferenciándose en el parénquima de la misma. Es en este territorio citoplasmático tegumentario donde se encuentran las estructuras sensoriales de la cercaria, las cuales, evidentemente, durante este desarrollo y al mismo tiempo durante la formación del tegumento, presentan distintas fases de diferenciación.

Los órganos sensoriales de los organismos parásitos han sido relativamente poco estudiados en comparación con los de los organismos libres, pues ha habido una tendencia a considerar a los organismos parásitos como seres vivientes de comportamiento pasivo y prácticamente insensibles frente a los estímulos externos. Sin embargo, recientemente, la microscopía electrónica ha puesto de manifiesto la existencia de toda una serie de estructuras sensoriales en organismos parásitos que hacen pensar que son realmente capaces de dar respuestas frente a los cambios físicos y químicos del medio interno del hospedador o del externo, según la fase del ciclo biológico. Con todo, el estudio de estas estructuras, en general ha sido llevado a cabo solamente bajo el punto de vista morfológico, sin profundizar en los aspectos neurofisiológico y etológico.

A nivel de plelmintos parásitos, la mayoría de modelos de órganos sensoriales descritos tiene como característica común la de poseer uno o varios cilios, con modificaciones más o menos ostensibles. Así a nivel de los Monogenea (LYONS, 1969) han sido señaladas estructuras uniciliadas asociadas a bulbos nerviosos a las que se ha atribuido una función mecanorreceptora, y estructuras pluriciliadas de posible función quimiorreceptora, concretamente en el oncomiracidio de *Entobdella solae*; también en este mismo organismo se han detectado fotorreceptores multiciliados en los que no se ha puesto de manifiesto la existencia de pigmento alguno; el adulto de *Entobdella solae* tiene estructuras sensoriales uniciliadas. En los Cestoda caben destacar estructuras uniciliares bulbares en *Taenia hidatidena* cuyo cilio presenta la misma longitud que la de los microtricos que se forman el tegumento de estos plelmintos (FEATHERSTONE, 1972).

En los Diogenea se ha puesto de manifiesto órganos sensoriales ciliados en todas las fases del ciclo biológico. A nivel de miracidio, caben destacarse los fotorreceptores ciliados de *Diplostomum spataceum* (BROOKER, 1972) y los quimio y mecanorreceptores pluri y uniciliados respectivamente de

*Fasciola hepatica* (WILSON, 1970); el esporocisto de *Bacciger bacciger* contiene elementos sensoriales bulbares uniciliados (MATRICON-GONDRAN, 1971 b), así como los adultos de *Cyathocotyle bushiensis* (ERASMUS, 1967), *Schistosoma mansoni* (MORRIS-THREADGOLD, 1967), *Transversotrema patialense* (WHITFIELD, 1979) y *Clonorchis sinensis* (FUJINO y otros, 1979).

A nivel de cercaria se han indicado estructuras quimiorreceptoras pluriciliadas en *Echinostoma paraensei* (MATRICON-GONDRAN, 1971 b) pero las uniciliadas son las más frecuentemente encontradas: *Fasciola hepatica* (DIXON-MERCER, 1965); *Diplostomum phoxini* (BIBBY-REES, 1971); *Echinostoma paraensei*, *Bacciger bacciger*, *paraphostomum segregatum* (MATRICON-GONDRAN, 1971 b); *Zoogonoides viviparus* (KOIE, 1971). En todos estos casos el cilio de la estructura sensorial está en contacto directo con el medio exterior, al igual que lo que ocurre en la estructura descrita en *Proctoeces maculatus*, aunque en *Schistosoma mansoni* se han encontrado receptores uniciliados en los que el cilio está recubierto por una vaina de tegumento (NUTTMAN, 1971). Los cilios de estas estructuras presentan en corte transversal la disposición típica de 9 pares de microtúbulos periféricos más un par de microtúbulos centrales (BIBBY-REES, 1971; KOIE, 1971).

#### MATERIAL Y METODOS

Los lotes de mejillones examinados son de batea, procedentes de la costa gallega, encontrándose un porcentaje medio de infestación del orden del 1%.

Los órganos infestados por los esporocistos son preferentemente el manto y la gónada, aunque pueden ser otros los órganos afectados como por ejemplo el hepatopáncreas y el órgano de Bojanus.

In vivo, el colorante vital utilizado con mejores resultados ha sido el rojo neutro al 0,01%, presentándose el mayor contraste, a nivel de cercaria, en el momento en que está

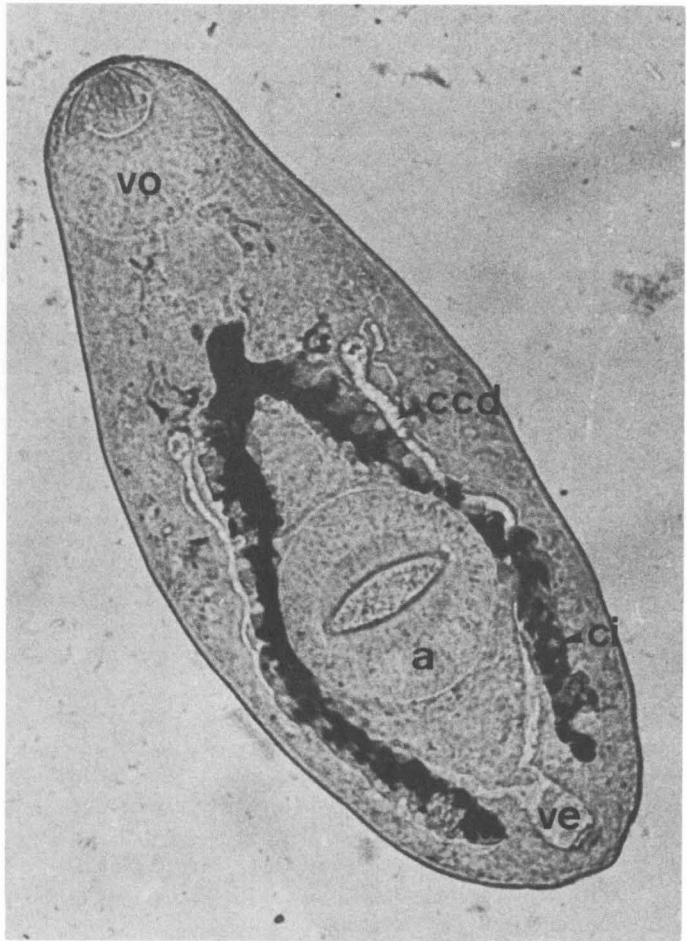


Fig. 1. Cercaria teñida vitalmente con rojo neutro. vo: ventosa oral; ccd: conducto colector descendente; a: acetábulo; ci: ciego intestinal; ve: vesícula excretora. 1200X.

ya está totalmente inmóvil y a punto de sucumbir (fig. 1).

Para el estudio al microscopio electrónico el material ha sido sometido a una doble fijación con glutaraldehído al 3% tamponado con Sörensen a pH 7,2 durante dos horas a 4° C, seguido de una posfijación con OsO<sub>4</sub> al 1 ó 2% tamponado igualmente con Sörensen. El medio de inclusión ha sido preferentemente la araldita. Los cortes ultrafinos obtenidos con un Reichert Ultracut, han sido sometidos a un contrastado con acetato de uranio al 2% en solución acuosa seguido del citrato de plomo, preparado según la técnica de Reynolds. Los cortes ultrafinos han sido

observados con un microscopio electrónico de transmisión Philips EM 200, del Servicio de Microscopia Electrónica de la Universidad de Barcelona.

## RESULTADOS

La cercaria de los tremátodos se desarrolla en el interior de redias o esporocistos, a partir de la llamada bola germinativa, que no es más que un apelonamiento de células a modo de mórula. La epidermis embrionaria de la cercaria se forma a expensas de las células más periféricas de dicha bola (REES,

1976), teniendo lugar una fusión de membranas y una degeneración de núcleos. Esta epidermis se transforma en el tegumento de la cercaria propiamente dicho, gracias a distintas células glandulares tegumentarias aparecidas a nivel del parénquima, cuyas vesículas de secreción van a parar a dicha epidermis, mediante la emisión, por parte de estas células, de procesos o pseudópodos citoplasmáticos por los que se canalizan las mencionadas vesículas, hecho comprobado durante el desarrollo de la cercaria de *Bacciger bacciger* (MATRICON - GONDRAN, 1971a) y de *Cryptocotyle lingua* (REES, 1976).

En el caso de *Proctoeces maculatus*, cuyas cercarias se desarrollan en el interior de esporocistos, de los que se dan distintas generaciones (MARTINEZ, 1972), se suceden dos aportes glandulares en la formación del tegumento (FERRER, 1982): Un primer aporte glandular está representado por vesículas de contenido denso a los electrones (fig. 2) mientras que un segundo aporte está constituido por un conjunto vesiculoso mixto, en el sentido de que se trata de dos tipos de vesículas, unas de contenido denso a los electrones parecido al de las del primer tipo y otras de contenido denso a los electrones parecido al de las del primer tipo y otras de contenido totalmente claro. Cuando la cercaria es emitida por el esporocisto, el tegumento aparece completamente repleto de este segundo contenido glandular (fig. 3).

La estructura sensorial, objeto de estudio en la presente nota, corresponde al modelo de órgano o estructura sensorial más frecuentemente descrito en los termátodos, es decir, aquella compuesta por un solo cilio y éste en contacto directo con el exterior.

En un primer estadio de diferenciación, la futura estructura sensorial aparece como una formación bulbar de  $1.2 \mu\text{m}$  de diámetro con un contenido granuloso denso a los electrones, situada inmediatamente debajo del territorio citoplasmático tegumentario, quedando un estrecho espacio intermembranoso de  $150 \text{ \AA}$  de grosor entre la membrana unitaria basal del tegumento y la de la

formación bulbar (fig. 4). Apicalmente se puede apreciar una densificación citoplasmática a ambos lados de este espacio intermembranoso. En un siguiente estadio, el contenido del bulbo se presenta sensiblemente más laxo (fig. 5) apareciendo vesículas de unos  $800 \text{ \AA}$  de diámetro y de contenido claro: la parte apical se abre, quedando el interior del bulbo comunicado con el territorio tegumentario. En fases posteriores (figs. 7, 6) en el interior de la formación bulbar se observa, además de un incremento del número de las vesículas de contenido claro, mitocondrias y neurotúbulos de la terminación nerviosa asociada a la futura estructura sensorial; la abertura del bulbo queda rodeada por una unión septada entre la membrana tegumento; inmediatamente debajo de esta unión septada se pueden apreciar dos densificaciones correspondientes a sendos verticilos o collares que también rodean a la abertura, a la vez que a nivel de la misma aparece incipientemente la raíz ciliar. Durante la formación del cilio (figs. 7, 8) el citoplasma tegumentario, situado justo por encima de la abertura de la formación, desaparece dejando un espacio en el cual el cilio en formación está ya en contacto con el exterior. Al final del proceso la estructura consiste en el cilio dentro de una hoquedad practicada en el tegumento de la cercaria (fig. 9).

## DISCUSION

Como anteriormente se ha apuntado, los receptores sensoriales de platelmintos están asociados a una formación nerviosa bulbar, es decir que su arquitectura básica es la de un bulbo existente a nivel de tegumento, que apicalmente presenta la terminación o terminaciones ciliares; en el interior del bulbo se encierran por regla general vesículas de contenido claro, mitocondrias y la raíz o raíces ciliares que se prolongan interiormente con un haz más o menos ostensible de microtúbulos (neurotúbulos).

En el caso concreto de la estructura bulbar uniciliada, con la cual se identifica la estudia-

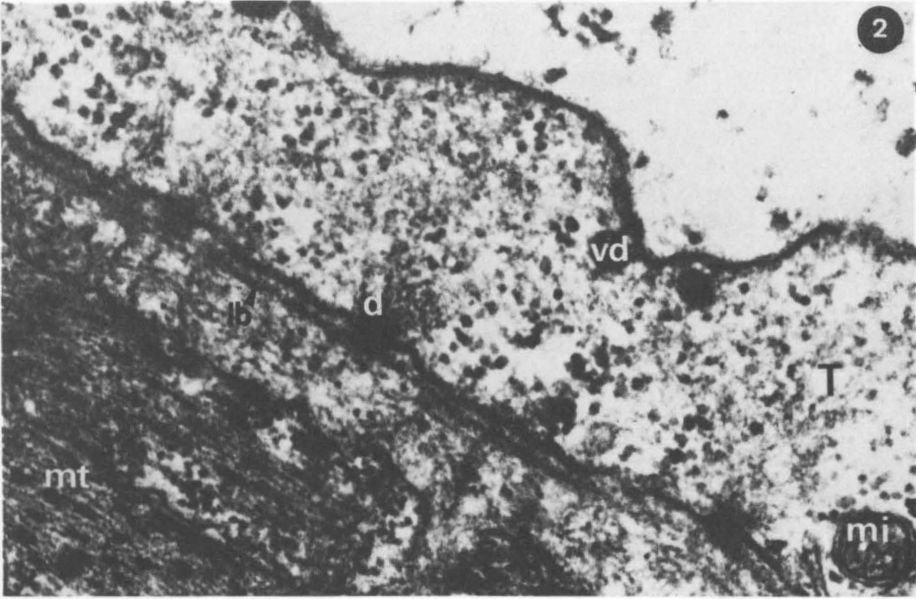


Fig. 2. Tegumento (T) de la cercaria joven. vd: vesícula densa; d: desmosoma; mi: mitocondria; lb: lámina basal; mt: musculatura cortada transversalmente. 61.500X.

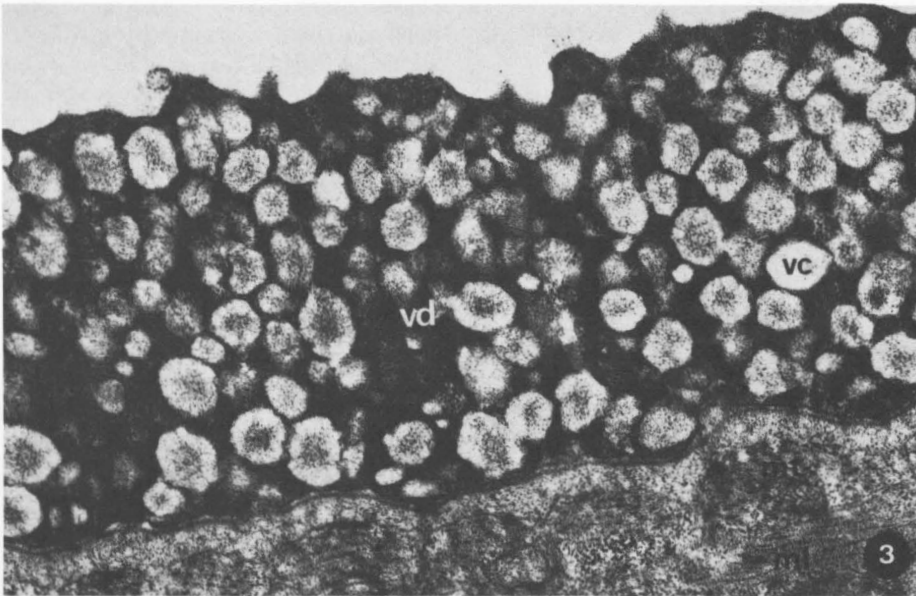


Fig. 3. Tegumento de la cercaria madura. vd: vesícula densa; vc: vesícula clara; mt: musculatura cortada transversalmente; ml: musculatura cortada longitudinalmente. 25.500X.

da en la presente nota, se presentan variaciones bajo el punto de vista ultraestructural, fundamentalmente a nivel de vesículas, en cuanto a número y tamaño, y a nivel de raíz ciliar. La estructura descrita en la cercaria de *Proctoeces maculatus*, en el presente trabajo, se puede identificar con bastante exactitud con la señalada en la cercaria joven de *Bacciger bacciger* (*Cercaria pectinata*): la raíz ciliar es muy exigua y se prolonga interiormente por una masa fibrosa difusa en el bulbo formado por los neurotúbulos; las vesículas son relativamente abundantes con un diámetro medio de 800 Å (fig. 7). Este tipo de raíz ciliar contrasta con el hallado en los receptores uniciliados análogos de la redia de *Paraphostomum segregatum* (MATRICON — GONDRAN, 1971b) o de la fase juvenil preadulto de *F. hepatica* (BENNET, 1975), el cual consiste en una raíz relativamente larga y con una clara estriación transversal.

Bajo el punto de vista citoquímico, el contenido de las vesículas mencionadas se puede relacionar con las colinesterasas, de acuerdo con el tratamiento histoquímico hecho en diversos platelmintos por HALTON & MORRIS (1969).

Ontogenéticamente, estos receptores se empiezan a diferenciar en un estado relativamente avanzado del desarrollo de la cercaria, cuando la epidermis embrionaria ya ha recibido el primer aporte glandular y se ha transformado en el tegumento propiamente dicho. De este modo, en este estadio de desarrollo, una prolongación dendrítica de una célula nerviosa integrada en la masa nerviosa central, llega al tegumento y, atravesando la lámina basal del mismo, pero quedando rodeada directamente por la membrana citoplasmática basal, adopta la forma bulbar característica y se establece una unión septada entre las membranas citoplasmáticas del bulbo nervioso y la basal del tegumento.

La unión septada es una característica comúnmente hallada en todos los receptores sensoriales mencionados, tanto a nivel de los Digenea, como en Monogenea y Cestoda. Cabe destacar el hecho que en *Proctoeces maculatus* (fig. 8) la distancia existente entre las

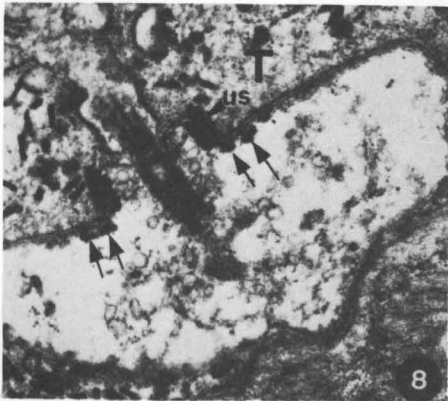
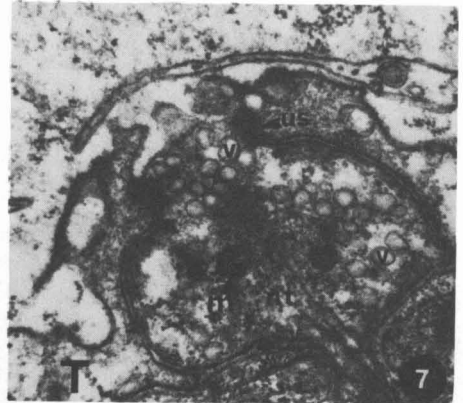
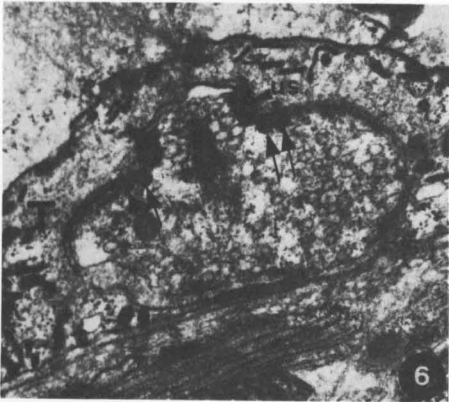
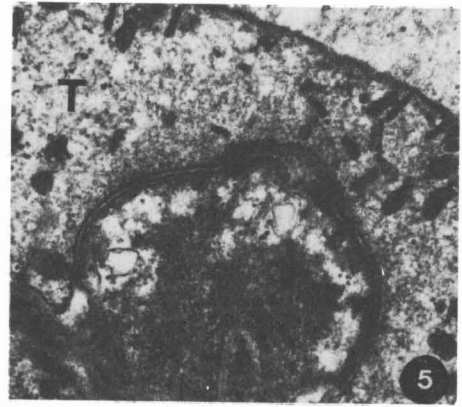
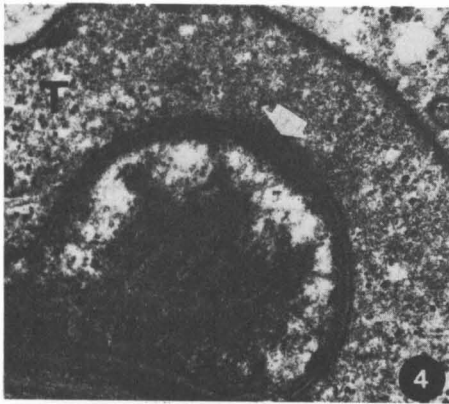
barras de la unión septada es mucho menor que la distancia intercelular, lo que contrasta con lo señalado por MATRICON — GONDRAN (1971b) en *Cercaria pectinata*: la distancia entre las barras es aproximadamente igual a la distancia intercelular y hasta incluso en algún caso es mayor. Las densificaciones existentes en las proximidades de la unión septada a modo de collares que rodean a la abertura del bulbo, encontradas en *Proctoeces maculatus*, son comunes a la mayoría de receptores sensoriales uniciliados y son consideradas como estructuras auxiliares a la unión septada.

Hay acuerdo generalizado entre los autores en que, como se ha dicho anteriormente, la estructura sensorial bulbar uniciliada tiene la función de la tango o mecanorrecepción. Con todo, la distribución de estas estructuras, y su relación con otras estructuras tegumentarias les hacen adquirir otras funciones más específicas; tal es el caso dado en el miracidio de *Diplostomum spataceum* en el que se han puesto de manifiesto, entre la primera y segunda serie de células ciliadas, pares de elementos sensoriales: en cada par, el situado más anteriormente es una estructura bulbar uniciliada como la descrita, y la más posterior es una papila más grande que el bulbo anterior, repleta de vesículas y carente de cilio. BROOKER (1972) opina que estos pares de estructuras darían información al miracidio acerca de su orientación con respecto a la gravedad.

Habiendo sido descrita la ultraestructura y el desarrollo de este órgano sensorial uniciliado en la cercaria de *Proctoeces maculatus* queda ahora, como perspectiva, el estudio de otras estructuras sensoriales, ciliadas o no, y al mismo tiempo la distribución de las mismas en el cuerpo de la cercaria, distribución que actualmente goza de un gran interés sistemático (RICHARD, 1971).

#### RESUMEN

El presente estudio se centra en las estructuras sensoriales de la cercaria de *Proctoeces maculatus* (Trematoda, Digenea), para cuya observación al



Figs. 4-9. 4. Bulbo correspondiente a la futura estructura sensorial. La flecha señala la densificación apical. T: tegumento. 32.340X; 5. Apertura apical del bulbo. T: tegumento. 28.000X; 6. Aparición de las vesículas y de la raíz ciliar a nivel de bulbo. Los pares de flechas indican las densificaciones correspondientes a los verticilos o collares que rodean a la abertura. T: tegumento; us: unión septada. 21.250X; 7. Comunicación del bulbo con el exterior. T: tegumento; us: unión septada; m: mitocondria; v: vesícula; nt: neutrotubulos. 28.000X; 8. Prolongación del cilio hacia el exterior. Las flechas indican los verticilos antes mencionados. T: tegumento. 28.000X; 9. Estructura sensorial uniciliada en la cercaria madura. T: tegumento; ci: cilio. 32.500X.

microscopio electrónico se ha procedido a una doble fijación del material con glutaraldehído y OsO<sub>4</sub> y a una posterior inclusión en araldita. La estructura sensorial en estudio, consiste en una cavidad existente en el tegumento de la cercaria, dentro de la cual hay un cilio que se prolonga basalmente en una terminación nerviosa. Esta estructura se forma a expensas de una formación bulbar que aparece inmediatamente debajo del citoplasma tegumentario, y se relaciona con órganos uniciliados descritos en otras larvas de tremátodos y con sus posibles funciones mecanorreceptoras.

## BIBLIOGRAFIA

- BENNETT, C.E., 1975. Surface features, sensory structures, and movement of the newly excysted juvenile *Fasciola hepatica* L. *J. Parasitology*, 61(5): 886-891.
- BIBBY, M.C. & REES, G., 1971. The ultrastructures of the epidermis and associated structures in the metacercaria, and sporocyst of *Diplostomum phoxini* (FAUST, 1918). *Z. Parasitenkde.*, 37: 169-186.
- BROOKER, B.E., 1972. The sense organs of trematode miracidia. In: *Behavioural Aspects of Parasite Transmission*, (E.U. Canning & C.A. Wright Eds.), Academic Press. London.
- COLE, H.A., 1935. On some larval trematode parasites of the mussel (*Mytilus edulis*) and the cockle (*Cardium edule*). *Parasitology*, 27: 276-280.
- DIXON, K.E. & MERCER, E.H., 1965. The fine structure of the nervous system of the cercaria of the liver fluke, *Fasciola hepatica* L. *J. Parasitology*, 51(6): 967-976.
- ERASMUS, D.A., 1967. The host parasite interface of *Cyathocotyle bushiensis* (KHAN, 1962) (Trematoda: Strigeoidea). II. Electron microscope studies of the tegument. *J. Parasitology*, 53(4): 703-714.
- 1970. The host parasite interface of strigeoid trematodes. IX. A probe and transmission electron microscope study of the tegument of *Diplostomum phoxini* (FAUST, 1918). *Parasitology*, 61: 35-41.
- FEATHERSTONE, D.W., 1972. *Taenia hidatigena* IV. Ultrastructural study of the tegument. *Z. Parasitenkde.*, 38: 214-232.
- FERRER, J. (en prensa) Estudio ultraestructural del desarrollo del tegumento de la cercaria de un tremátodo parásito del mejillón: *Proctoeces maculatus* (Trematoda Digenea Fellodistomatidae). *Rev. Ib. de Parasitología*.
- FUJINO, T., ISHII, Y. & CHOI, D. W., 1979. Surface ultrastructure of the tegument of *Clonorchis sinensis* newly excysted juveniles and adult worms. *J. Parasitology*, 65(4): 579-590.
- HALTON, D.W. & MORRIS, G. P., 1969. Occurrence of cholinesterase and ciliated sensory structures in a fish gill fluke *Dictidophora merlangi* (Trematoda Monogenea). *Z. Parasitenkde.*, 33: 21-30.
- HOPKINS, S.H., 1954. *Cercaria brachidontis* n. sp. from the hooked mussel in Louisiana. *J. Parasitology*, 40: 29-31.
- KØIE, M., 1971. On the histochemistry and ultrastructure of the tegument and associated structures of the cercaria of *Zoogonoides viviparus* in the first intermediate host. *Ophelia*, 9: 165-206.
- LYONS, K.M., 1969. Sense organs in monogenean skin parasites ending in a typical cilium. *Parasitology*, 59: 611-623.
- MARTINEZ, J.C., 1972. Recherches sur quelques stades larvaires de Digènes parasites de *Mytilus galloprovincialis* Lmk. Thèse Université des Sciences et Techniques de Languedoc.
- MATRICON - GONDRAN, M., 1971 a. Origine et diferenciación du tegument d'un trematode digenétique: étude ultrastructurale chez *Cercaria pectinana* (larva de *Bacciger bacciger*, Fellodistomatidae). *Z. Zellforsch.*, 120: 488-524.
- 1971b. Etude ultrastructurale des récepteurs sensoriels tegumentaires de quelques trematodes digenétiques larvaires. *Z. Parasitenkde.* 35 (4): 318-333.
- MORRIS, G. P., 1971. The fine structure of the tegument and associated structures of the cercaria of *Schistosoma mansoni*. *Z. Parasitenkde.*, 36: 15-31.
- MORRIS, G.P. & THREADGOLD, L.T., 1967. A presumed sensory structure associated with the tegument of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitology*, 53(3): 537-539.
- NUTTMAN, C.J., 1971. The fine structure of ciliated nerve endings in the cercaria of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitology*, 57(4): 855-859.
- REES, G. & DAY, M.F., 1976. The origin and development of the epidermis and associated structures in the cercaria of *Cryptocotyle lingua* (CREPLIN) (Digenea: Heterophyidae) from *Littorina littorea* L. *Proc. R. Soc. Lond.*, B, 192: 299-321.
- RICHARD, J., 1971. La chétotaxie des cercaires. Valeur systématique et phylétique. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle*, Paris, Série A, Zoologie, 67: 1-179.
- STUNKARD, H.W. & UZMANN, J. R., 1959. The life cycle of the digenetic trematode *Proctoeces maculatus* (Loos, 1901; Odhner, 1911) (Syn. *P. subtenuis* (Linton, 1907; Hanson, 1950) and description of *Cercaria adranocerca* n. sp. *Mar. Biol. Bull.*, 116(1): 184-193.



- SYPEK, J.P., 1979. Histopathological investigations of the digenetic trematode *Proctoeces maculatus* (Loos, 1901; Odhner, 1911) and its bivalve molluscan host. *Mytilus edulis* L. Life-cycle, host defense reactions and mechanism of pathogenesis. Thesis, University of Rhode Island. EEUU.
- UZMANN, J.R., 1953. *Cercaria milfordensis* n. sp. microcercous trematode larva from a marine bivalve *Mytilus edulis* L. with special reference its effect on the host. *J. Parasitology*, 39: 445-451.
- WARDLE, W.J., 1980. On the life-cycle stages of *Proctoeces maculatus* (Digenea Fellodistomidae) in mussels and fishes from Galvestone Bay, Texas. *Bull. Mar. Sci.*, 30: 737-743.
- WHITFIELD, Ph.J., 1979. *The Biology of Parasitism: an introduction to the study of associating organisms*. Arnolds, London. 277 pp.
- WILSON, R.A., 1970. Fine structure of the nervous system and specialized nerve ending in the miracidium of *Fasciola hepatica*. *Parasitology*, 60: 399-410.