

SEGUIMENT DE LES ALTERACIONS TISSULARS DELS MOL·LUSCS BIVALVES DEL DELTA DE L'EBRE

Mercè Durfort i Coll

*Departament de Biologia Cel·lular. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona
Centre de Referència i Desenvolupament en Aqüicultura. Generalitat de Catalunya*

L'estudi histopatològic dels mol·luscs bivalves del delta de l'Ebre requereix, gairebé, un seguiment mensual de les espècies que s'hi conreen: *Ostrea edulis*, *Crassostrea gigas*, *Tapes decussatus* *Tapes semidecussatus*, *Mytilus galloprovincialis*, ocasionalment, *Cardium edule* i *Pecten jacobeus*.

Els òrgans potencialment més afectats són les brànquies i l'hepatopàncrees. Cal, però, fer una valoració del tracte digestiu, de les gònades i dels gonoductes, alhora que del ronyó i del mantell, així com de la musculatura i els ganglis nerviosos. Tots aquests òrgans no solament reaccionen a possibles parasitosis, sinó també presenten alteracions més o menys greus quan les condicions mediambientals no són del tot escaients, davant de contaminants, a causa de les elevades temperatures i, per tant, augmenta la salinitat de les aigües, en casos més o menys prolongats d'anòxia. En moltes ocasions, és difícil determinar qui o quina és la causa d'una determinada alteració cel·lular. En l'àmbit cel·lular: l'estat dels epitelis vibràtils de les làmines branquials, de la mucosa intestinal, dels gonoductes i conductes glandulars. Hi ha, però, alteracions que solament són visibles si s'observen amb el microscopi electrònic (Durfort *et al.*, 1990 *a, b, c i d*). Un altre paràmetre fàcilment detectable en el microscopi òptic és l'alçada de l'epiteli glandular de l'hepatopàncrees, la llum dels conductes és molt sensible a determinades parasitosis com, per exemple, el cas de *Marteilia refrigens*. Hi ha, a la vegada, un considerable increment de cel·lules mucoses en tots els epitelis de recobriment intern o extern. Nuclis picnòtics; apoptosi cel·lulars; aparició d'àrees necrosades primer i posteriorment lisades; augment considerable de macròfags i importants infiltracions hemocitàries són les principals reaccions del sistema immunofagocític, per cert, molt poc estudiat en els invertebrats (Ratcliffe i Rowley, 1981).

Quins són els possibles agents patògens que provoquen, en els mol·luscs bivalves del delta de l'Ebre, les principals alteracions tissulars? Seguint un ordre

filogenètic, podem destacar: bacteris, clamídies i rickètsies. Mentre que els bacteris són fàcilment detectables, dels altres cal fer-ne l'estudi ultraestructural.

Entre les espècies de protozous que es troben més freqüentment, cal destacar, per la seva patogenicitat i per les taxes de mortalitat que produeixen, *Perkinsus atlanticus*, *Marteilia refrigens* i *Bonamia* sp. Hi ha altres espècies, però, molt menys freqüents com ara *Trichodina*, principalment en ostres; *Nematopsis legeri*, en els musclos, i *Haplosporidium tapetis*, principalment en les cloïsses. Hi ha una certa especificitat, encara que els gèneres esmentats s'han trobat en totes les espècies de bivalves indicades. Cal destacar que hi ha una sèrie de fases del cicle biològic de diverses espècies de protozous que no són vàlides per poder-ne fer una bona determinació, i això crea una greu ambigüitat en els diagnòstics, alhora que dona com a resultat el fet que la majoria de les notes de parasitologia són de quantificació, però poques imatges o cap imatge bona acompanya el text.

En l'obra editada per la CAICYT, titulada *Patologia en acuicultura*, hi ha una bona relació de les principals parasitosis (Figueras i Villalba, 1988) i, si bé és una revisió generalitzada i la bibliografia és força incompleta, és un treball que cal tenir present en el moment de dedicar-se a la parasitologia dels mol·luscs dels països de la Unió Europea.

Cal destacar que, en els bivalves del delta de l'Ebre, el nombre d'infestacions protozoàries que han provocat mortalitats importants no han estat gaire elevades en els darrers anys, i en moltes ocasions les parasitosis trobades han estat importades en llavors de diversos països de la Unió Europea.

Entre els metazous paràsits, cal destacar la presència de fases larvàries de trematodes digènids de les espècies: *Proctoeces maculatus* en *Mytilus edulis* i en *Mytilus galloprovincialis*, i *Bucephalus haimeanus* en les ostres (Ferrer i Durfort, 1990). En musclos i ostres es troben esporocists ramificats o no, els quals envaïxen progressivament la glàndula digestiva; en una segona etapa, els hem trobat a la gònada, en el mantell, i, finalment, en la base de les làmines branquials (normalment, abans d'arribar-hi els bivalves han mort). És obvi que la presència massiva d'aquests esporocists afecta la funcionalitat de l'hepatopàncrees, la taxa de reserves que habitualment té aquesta glàndula. Alhora, cal recordar que és en l'àmbit d'aquesta glàndula que se sintetitza l'hormona precursora de la vitel·logenina que permet la formació de les plaquetes vitel·lines. Per això, l'alteració de la glàndula digestiva afecta la maduració sexual de les femelles i dels exemplars hermafrodites (Durfort, 1989 a).

En un percentatge important, es troba en l'hepatopàncrees i en el tub digestiu dels musclos un copèpode de l'espècie *Mytilicola intestinalis* i en les ostres *Mytilicola orientalis*, que fa anys han estat motiu d'un estudi ultraestructural força aprofundit. El nombre de copèpodes, per exemplar parasitat, acostuma a ser de quatre a sis, ocasionalment se'n poden trobar una cinquantena, la qual cosa repercuteix molt negativament en l'hoste. En el delta de l'Ebre, fins ara, no s'han descrit presències

tan massives. Habitualment, en els exemplars parasitats que hem estudiat aquests darrers anys, no hem trobat lesions tissulars de consideració, únicament un increment de cèl·lules secretores en la mucosa intestinal, una disminució de les reserves de glicogen de l'hepatopàncrees i, en l'àmbit ultraestructural, alteracions morfològiques del cili (Durfort *et al.*, 1989). En els darrers anys, únicament un 40 % dels exemplars de musclos estudiats presenten aquesta parasitosis.

Un 3 % de musclos està parasitat per una altra espècie de copèpode, *Modiolicola intestinalis*, que es troba en les làmines branquials. Aquesta espècie ha estat estudiada per nosaltres en l'àmbit ultraestructural, gràcies a un banc de dades més complet d'aspectes de la gametogènesi, del tracte digestiu i de la cutícula de copèpodes paràsits i lliures, que des de fa anys hem anat estudiant. *Modiolicola gracilis* provoca processos de caire inflamatori a les brànquies i sobretot augmenta el nombre de malformacions ciliars de l'epiteli respiratori (Durfort *et al.*, 1990d).

L'estudi del contingut intestinal és molt il·lustratiu i, alhora, permet observar ous, formes larvàries i adultes de trematodes i copèpodes en fase preinvasiva.

En els reconeixements tissulars de rutina apliquem les tècniques convencionals de la histologia normal i patològica, que donen informació panoràmica i alhora algunes tècniques específiques per a la detecció de glicogen (PAS), per a la quantificació de dipòsits lipídics (Sudan), la reacció de Turnbull o de Perls per determinació de ferro, entre d'altres.

En algunes ocasions, cultivem les brànquies de cloïsses per fer més patent la presència de *Perkinsus*, tot emprant el mètode descrit per Ray (1952). En aquest cas, sempre queda el dubte raonable que, si les brànquies no haguessin estat cultivades, *Perkinsus* s'hauria desenvolupat, o no, en provocar la reacció hemocitària en els individus salvatges.

Per fer una recerca més aprofundida d'alguns aspectes de la reacció de l'hoste o dels trets del paràsit, cal fer un estudi ultraestructural; és, però, per casos molt puntuals, ja que el processament és molt més lent, alhora que molt més car, i per altra banda, el fet de no disposar d'un microscopi electrònic en el laboratori dificulta sensiblement aquest estudi que, tanmateix, no és, en línies generals, imprescindible per al diagnòstic de les patologies més habituals dels mol·luscs bivalves del nostre litoral.

Des de la redacció inicial d'aquesta nota (1993) fins ara, s'han continuat obtenint dades epidemiològiques de les principals parasitosis dels mol·luscs bivalves del delta de l'Ebre.

Els treballs s'han centrat en les alteracions histopatològiques dels òrgans diana, i també sobre la biologia cel·lular de les espècies paràsits. Dels resultats obtinguts, n'han sorgit una tesina i una tesi doctoral, així com diverses publicacions de les quals únicament esmento les més rellevants.

Vull destacar que, en els darrers anys, hi ha hagut una considerable davallada en la producció d'ostró i de cloïsses. En el cas de l'ostró, s'ha passat de les 733,9 t de l'any 1998 a les 426,4 t de l'any 1999. I pel que fa a la cloïssa, s'ha passat de les 262,6 t del 1998 a les 168,1 del 1999 (segons dades de Catalunya Rural i Agrària, *Butlletí d'Informació del Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca*, núm. 67, 2000).

Factors mediambientals i l'increment de patologies no han estat alienes a aquesta disminució. D'altra banda, la qualitat de la carn dels musclos també ha minvat considerablement i perilla la denominació d'origen que fa anys es va donar als musclos del nostre Delta.

Gener de 2001

BIBLIOGRAFIA

- BOZZO, M. G.; POQUET, M.; DURFORT, M. «Ultraestructura de los oocitos maduros de *Tapes decussatus* (*Bivalvia*)», *Iberus*, 14 (2) (1996), p. 179-188.
- DURFORT, M. «Estado morfológico y ultraestructural del hepatopáncreas en relación con la oogénesis». A: *Actas III Congreso de la Sociedad Española de Biología Celular*. Bilbao: 1989.
- DURFORT, M.; AMOR, M. J.; BOZZO, M. G.; FERRER, J.; GARCÍA VALERO, J.; POQUET, M.; RIBES, E.; SACRISTA, E. «Malformaciones ciliares en epitelios de tres especies de moluscos bivalvos del Mediterráneo». A: *Actas del III Congreso de la Sociedad Española de Biología Celular*. Bilbao: 1989.
- DURFORT, M.; BOZZO, M. G.; POQUET, M.; SACRISTA, E.; FERRER, J.; GARCÍA VALERO, J.; AMOR, M. J.; RIBES, E. «Ultraestructura del epitelio vibrátil de los gonoductos de *Tapes decussatus* y de *Tapes semidecussatus*». A: *Actas del III Congreso Nacional de Acuicultura*. Santiago de Compostela: 1990a.
- «Aspectes ultraestructurals del oòcits de *Modiolicola gracilis*, Wilson, copèpode paràsit de les brànquies del musclo». *Biología del Desenvolupament*, 8 (1990b), p. 89-111.
- «Anomalías morfológicas de los cilios de las mucosas digestivas de la ostra *Crassostrea gigas* (*Mollusca, Bivalvia*)». *Histología Médica*, 6 (1990c), p. 43-52.
- «Modified cilia in vibratil epithelia of mussels infested by *Mytilicola intestinalis* and *Modiolicola gracilis* (*Crustacea, Copepoda*)». A: *IV International Colloquium of Pathology Marine Aquaculture*. 1990d, p. 108-109.
- FERRER, J.; DURFORT, M. «Ultraestructura y desarrollo del tubo digestivo de la cercaria gasterostoma intraesporocistica de un digénido bucefálico parásito de la ostra *Ostrea edulis*». ICASEP, 1991.
- FIGUERAS, A. J.; VILLALBA, A. «Patología de moluscos». *Patología en acuicultura*. Madrid: CAYCIT, 1988, p. 327-389.

- MONTES, J. F.; DURFORT, M.; GARCÍA VALERO, J. «When the venerid clam *Tapes decussatus* is parasitized by the protozoan *Perkinsus* sp.». *Diseases of Aquatic Organisms*, 16 (1996), p. 149-157.
- MONTES, J. F.; DEL RIO, J. A.; DURFORT, M.; GARCIA VALERO, J. «The protozoan parasite *Perkinsus atlanticus* elicits a unique defensive response in the clam *Tapes semidecussatus*». *Parasitology*, 114 (1997), p. 339-349.
- PRINCEP, M.; BIGAS, M.; DURFORT, M. «Incidencia de *Bucephallus haimeanus* (Lacaze-Duthiers, 1854) (*Trematoda, Digenea*) en el hepatopáncreas de *Ostrea edulis*, Linné». *Iberus*, 14 (2) (1996), p. 211-220.
- RATCLIFFE, N. A.; ROWLEY, A. F. *Invertebrate blood cells*. Londres: Academic Press., 1981. Vol. 1 i 2.
- RAY, S. M. «A culture technique of infection with *Dermocystidium marinum*, Mackin, Owen and Collier in oyster». *Science*, 116 (1952), p. 360-361.
- SAGRISTÀ, E.; DURFORT, M.; AZEVEDO, C. «Ultrastructural data on the life cycle of the parasite, *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa), on the clam, *Ruditapes philippinarum*, in the Mediterranean». *Sci. Mar.*, 60 (2-3) (1996), p. 283-288.
- SAGRISTÀ, E.; BOZZO, M. G.; BIGAS, M.; POQUET, M.; DURFORT, M. «Developmental cycle and ultrastructure of *Steinhausia mytilovum*, a Microsporidian Parasite of Oocyte of the Mussel, *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca, Bivalvia)». *Europ. J. Protistol*, 34 (1998), p. 58-68.

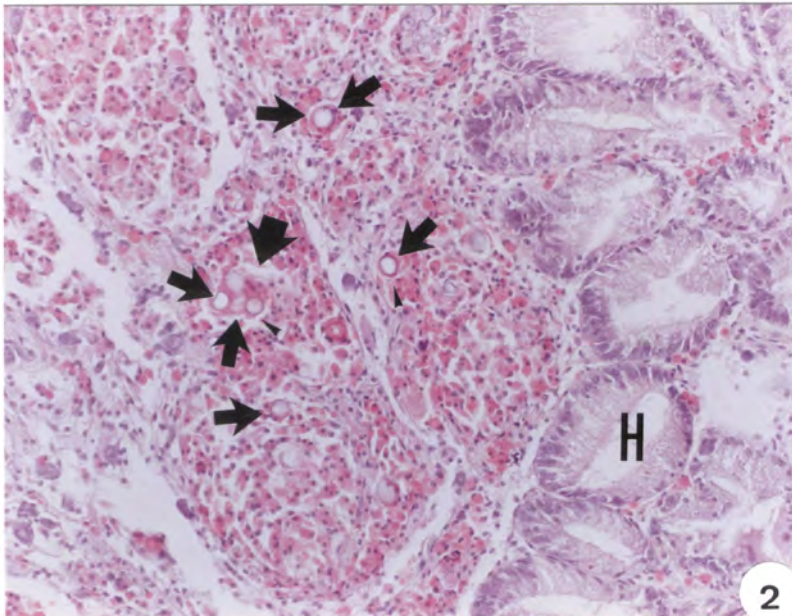
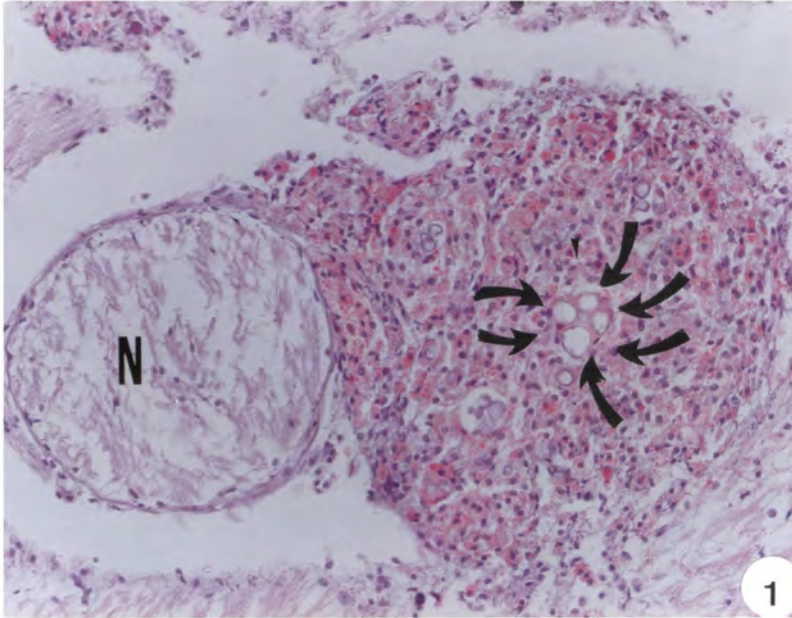


FIGURA 1. *Perkinsus atlanticus* (→) embolcallat per una reacció tissular completa en les proximitats d'un gangli nerviós (N) de *Tapes semidecussatus*. Hematoxilina-eosina, 1500 x.

FIGURA 2. *Tapes decussatus*. En les proximitats de l'hepatopàncrees d'aquest exemplar de cloïssa hom pot veure alguns esporoblasts (→) igualment embolcallats per cèl·lules del sistema immunofagocític de l'hoste. Hematoxilina-eosina, 1500 x.

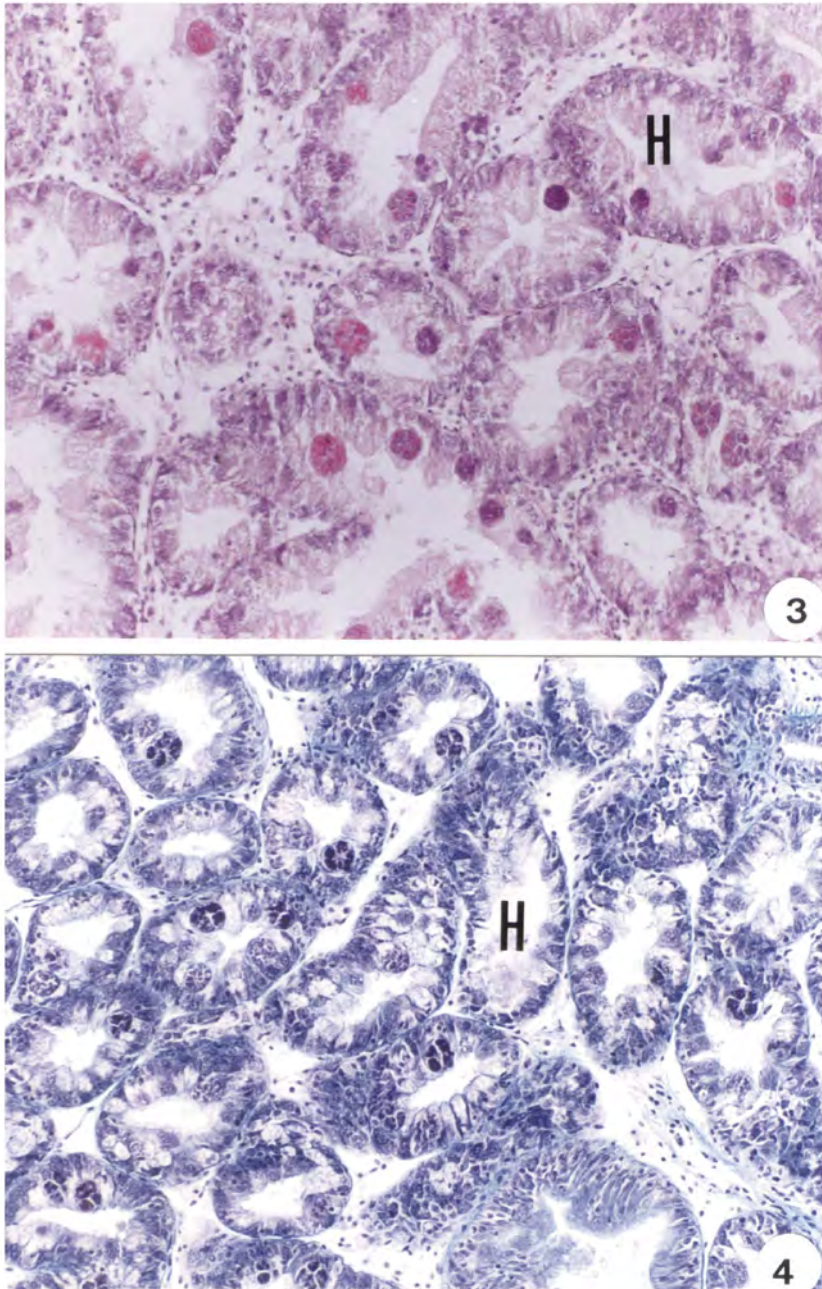


FIGURA 3 i 4. *Marteilia refringens* en els túbuls hepatopancreàtics d'*Ostrea edulis*. Vegeu diversos esporoblasts amb espores que es troben en diferents fases de maduració. Hematoxilina-eosina i VOF, 1500 x.

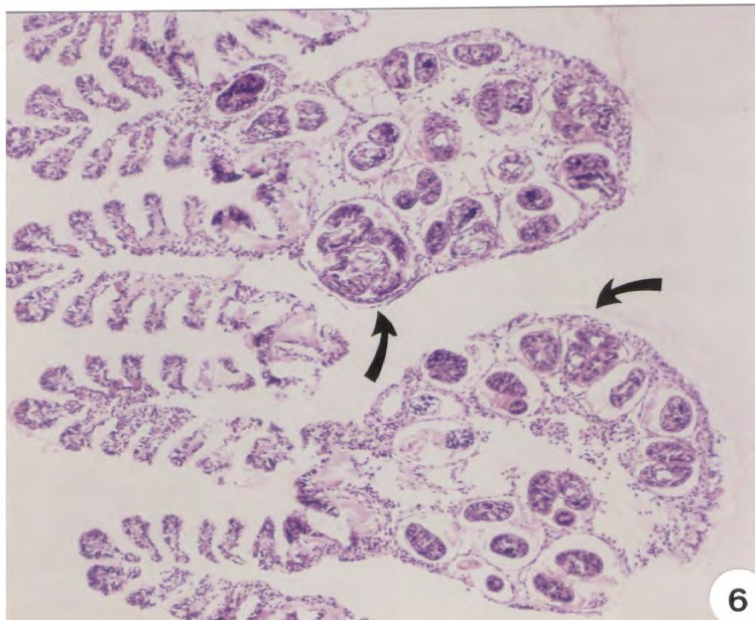
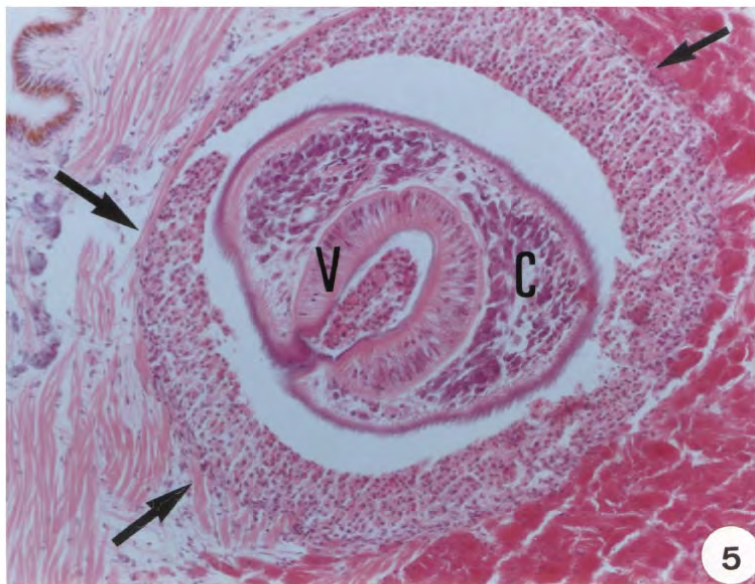
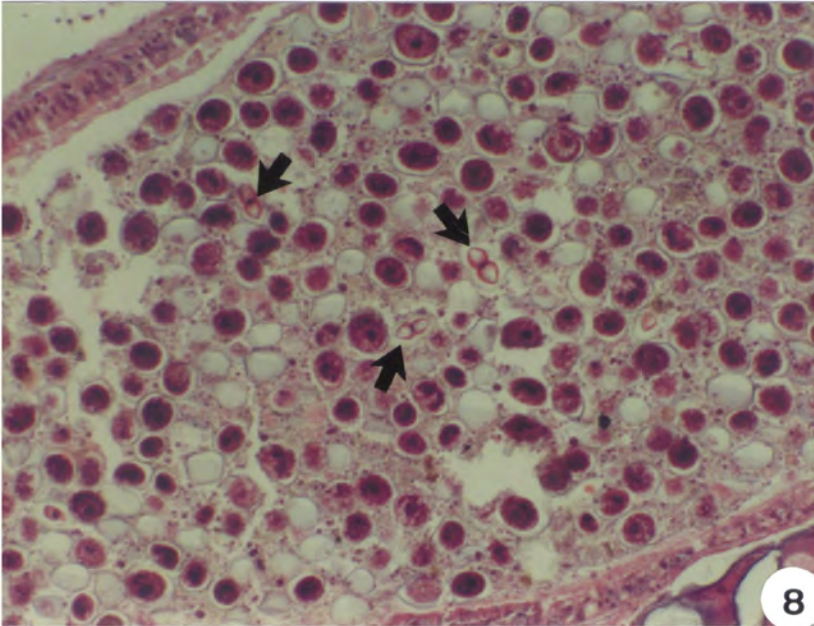
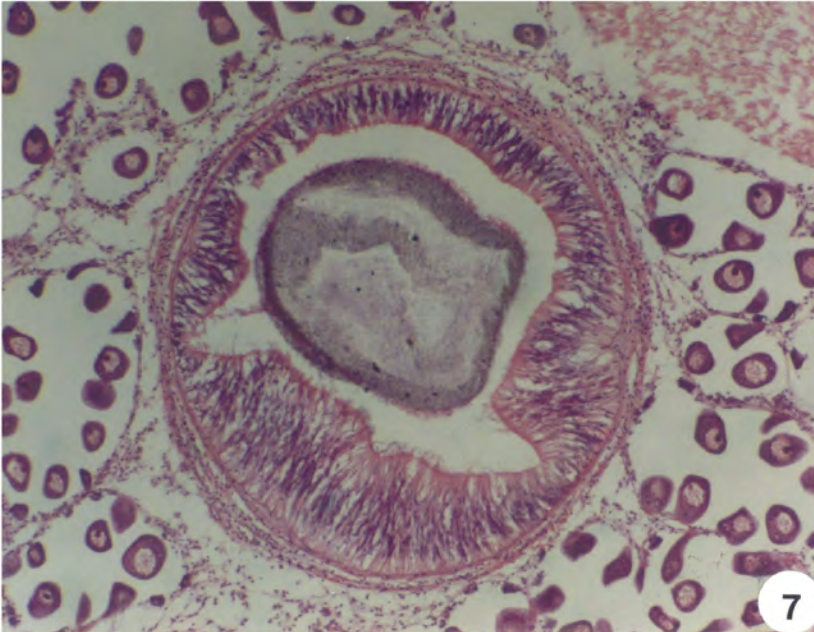


FIGURA 5. El trematode digènid *Proctoeces maculatus* és un paràsit força freqüent del musclos. En aquest cas, veiem una cercària intramuscular que ha provocat una important reacció inflamatòria. Vegeu la ventosa (V) de la cercària. Hematoxilina-eosina, 1500 x.

FIGURA 6. El trematode digènid *Bucephallus haimeanus* inicia la infestació de les ostres pels hepatopàncrees. En aquest els diferents esporoblasts es troben excepcionalment ubicats en el teixit conjuntiu que contacta amb la part visceral de les làmines branquials. Hematoxina-eosina, 800 x.



FIGURES 7 i 8. El contingut intestinal en un altre paràmetre a valorar, ja que s'hi poden trobar ous i fases larvàries i adults de diferents metazous. A la vegada que és interessant fer un seguiment de les algues incorporades. Vegeu en la imatge inferior els frústuls d'algunes diatomees (→). Hematoxilina-eosina, 450 x i 900 x, respectivament.