

## Descripción del huevecillo, larva y ninfa de *Subtriquetra subtriquetra* Sambon, 1922 (Pentastomida), y algunas observaciones sobre su ciclo de vida\*

por

Mario Vargas V.

(Recibido para su publicación el 23 de enero de 1975)

**ABSTRACT:** Description and measurements of the egg, larva and nymph of *S. subtriquetra* which included the egg envelope, penetrating apparatus, body rings, tail, legs, dorsal organ and oral ring of the larva, and the oral ring, mouth hooks and ventral rows of body spines of the nymph, place this pentastomid in the Porocephalida, although the dorsal organ and the tail of the larva resemble those of the Cephalobaenida.

The life cycle of *S. subtriquetra* was observed in experimentally infected *Cichlasoma nigrofasciatum*; both larvae and nymphs were found in the natatory vesicle of the host. The penetrating system used by the larvae in *Priapichthys annectens*, *Lebistes* spp. and a tadpole was also studied.

Un trabajo anterior (VARGAS, 8) comenta, entre otras, las características del macho y de la hembra de *Subtriquetra subtriquetra* y en esta oportunidad se continua con el análisis de este interesante pentastómido, ofreciendo además descripciones del huevecillo, ninfa y algunas observaciones sobre su ciclo de vida.

### MATERIAL Y METODOS

Los ejemplares de *S. subtriquetra* usados en este estudio fueron dos hembras ovígeras encontradas en un *Caiman crocodilus* de Río Jiménez, Guápiles, Limón, Costa Rica y dos hembras, también ovígeras, encontradas en *Caiman crocodilus* de Rivas, Nicaragua. Como huéspedes experimentales se utilizó ejemplares de *Cichlasoma nigrofasciatum*, *Priapichthys annectens*, *Lebistes* spp. y un renacuajo.

---

\* Este trabajo se realizó en el Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Los ejemplares de *S. subtriquetra* se desprenden del cocodrilo al inyectar agua por los orificios externos de las vías respiratorias del reptil. Las hembras del parásito se colocaron en agua con el fin de obtener los huevecillos, observar la eclosión y estudiar las formas larvales.

El estudio tanto de los huevecillos obtenidos de la porción terminal del útero, como de las formas larvales, se hizo montando el material en alcohol polivinílico.

## RESULTADOS

Los adultos de *S. subtriquetra* encontrados en esta oportunidad se ajustan a las descripciones anteriores (VARGAS, 8), excepto que el tamaño en dos de las cuatro hembras fue de  $26 \times 8$  mm en un ejemplar vivo y  $20 \times 8$  mm en el otro ejemplar fijado.

Un detalle que debe destacarse es el color de las hembras de estos pentastómidos, que en esta oportunidad era de un rojo intenso, aparentemente debido a un pigmento (sangre del cocodrilo?) distribuido en las capas superficiales del tegumento, y que se acumuló especialmente en los bordes aplanados del cuerpo. Por presión el pigmento se redistribuye irregularmente.

**HUEVECILLO:** El huevecillo fijado, embrionado y maduro de *S. subtriquetra* (Fig. 1) posee una membrana ligeramente esclerotizada, flexible y sin ninguna consistencia, por lo que no toma una forma definida, como ocurre con los de otros pentastómidos. No se pudo observar la membrana o cubierta externa típica de otros pentastómidos (*Porocephalus* spp.). Los huevecillos obtenidos del útero miden entre 265 y 300  $\mu$  de diámetro mayor por 195 a 235  $\mu$  de diámetro menor (20 ejemplares) y forman paquetes en una matriz de una sustancia aparentemente mucilaginosa.

**EMBRION** (Fig. 2): El embrión presenta caracteres que permiten su reconocimiento y separación de otros grupos. Su tamaño varía, en 25 ejemplares, entre 315 y 350  $\mu$  de longitud (sin tomar en cuenta la cola), y el ancho entre 200 y 240  $\mu$  (a nivel de las patas posteriores). La cola es larga y ancha, más o menos tubuliforme y se destaca a partir de una ligera constricción del cuerpo, terminando en un par de estructuras en forma de garra o garfio, ligeramente esclerotizadas (Fig. 3). Hacia la base de cada garfio y ventralmente, se observa una pequeña expansión cuticular a modo de espineta. Hacia la línea media de la cola y en su extremo distal se observa una ligera prominencia que parece corresponder al ano. La longitud de la cola (desde la constricción del cuerpo al poro anal) es de 125 a 175  $\mu$  y el ancho varía de 75 a 95  $\mu$  (25 ejemplares). El aparato perforador (Fig. 4) sito en la región anterior del embrión consiste en un par de lancetas paralelas, dirigidas hacia arriba y estructuralmente independientes. Cada lanceta muestra un área de debilitamiento en su región anterior. Inmediatamente a los lados del par central de lancetas se encuentran dos pares de espinas accesorias de configuración parecida al par central. Las lancetas centrales miden de 39.6 a

42  $\mu$  (8 ejemplares). Las espinas accesorias (par externo) miden de 16.8 a 24  $\mu$  de largo (10 ejemplares). El par interno mide entre 12 y 16.8  $\mu$  de largo (10 ejemplares). Las patas presentan garras similares, fuertemente encurvadas, con un soporte basal esclerotizado. La longitud de las patas en vista lateral varía entre 120 y 150  $\mu$  (15 ejemplares). En vista lateral y hacia la base del soporte esclerotizado de cada par de patas se distingue una estructura filiforme ligeramente ensanchada hacia su base. El órgano dorsal es ovoide y transversal al cuerpo del embrión y presenta una hendidura longitudinal; mide de 16.4 a 28.8  $\mu$  de longitud por 12 a 14.4  $\mu$  de ancho (9 ejemplares). Se observa una conexión tubuliforme entre el órgano dorsal propiamente dicho y la faceta de la membrana del huevecillo. En embriones relativamente inmaduros el órgano dorsal se caracteriza por su gran tamaño, es piriforme y está constituido por un grupo de células concéntricas que desembocan en la faceta. Los anillos del cuerpo tienen un diámetro de 21.8 a 24  $\mu$  (25 ejemplares).

**NINFA:** La ninfa, de cuerpo delgado, presenta un aspecto muy similar al de los adultos. Al igual que como sucede con las ninfas de otros pentastómidos, se destaca la presencia de espinillas (Fig. 5) distribuidas en hileras ventrales como sigue (de anterior a posterior): las primeras cuatro hileras son incompletas o discontinuas hacia la línea medio-ventral, aumentando el número de espinillas progresivamente de la primera a la cuarta hilera de  $2 \pm 11$  a cada lado,  $2 \pm 15$ , 29 y 43 en las cuatro hileras, respectivamente. A partir de la cuarta hilera se presenta una ligera interrupción en las espinillas de cada hilera hacia el reborde latero-ventral del cuerpo. Posteriormente a la cuarta hilera se aprecian 33 hileras de espinillas continuas o completas en la línea medio-ventral del cuerpo. La disposición de las espinillas forma una concavidad hacia la línea media en las primeras cuatro hileras. Las siguientes 17 hileras son prácticamente rectas; posterior a ellas presentan una convexidad cada vez más marcada hasta formar un verdadero arco hacia la región posterior del cuerpo de la ninfa. Las espinillas son de tipo estiletiforme, con una base poco esclerotizada e indefinida y con un extremo distal agudo y más o menos recto. Existe un ligero debilitamiento en la esclerotización de cada espinilla hacia su parte central. Sin excepción todas las espinillas tienen su extremo distal dirigido hacia el extremo posterior de la ninfa. La longitud de todas las espinillas es de 25  $\mu$ . Los llamados anillos del cuerpo son ovoides, de 13 a 15  $\mu$  por 5 a 6  $\mu$  de diámetro y se encuentran colocados irregularmente entre una y otra hilera de espinillas.

La región anterior de la ninfa (Fig. 6) presenta dos ligeras prominencias laterales y una pequeña depresión central en el reborde anterior. Ventralmente y hacia cada lado, se encuentra una pequeña estructura papiliforme. El anillo o armadura bucal, de  $164.5 \times 89.3 \mu$  (incluyendo el borde externo) es ovoide, de tipo cerrado y con su diámetro mayor siguiendo la línea longitudinal del cuerpo de la ninfa; es más o menos esclerotizado, con un reborde irregularmente dentado; derivándose de su región membranosa interna, se observa un pequeño grupo de espinillas. Por último, se aprecia una

pequeña expansión de aspecto trabecular posterior al anillo bucal. Los ganchos bucales están colocados formando un trapecio, con un par interno anterior y un par externo posterior. El extremo anterior de la base del par interno está colocado a nivel de la mitad del diámetro longitudinal del anillo bucal. Ambos pares de ganchos poseen un "fulchrum" perfectamente desarrollado. Las medidas de los ganchos se incluyen en el Cuadro 1, basándose el sistema de medidas en un trabajo anterior (8).

CUADRO 1

*Medidas en micras ( $\mu$ ) de los ganchos bucales de una ninfa de Subtriqueta subtriqueta*

Diámetro	Ganchos			
	Externo izquierdo	Interno izquierdo	Externo derecho	Interno derecho
A	94	98.7	94	103.4
B	108.1	117.5	112.8	117.5
C	188	211.5	211.5	211.5
D	352.5	352.5	352.5	352.5
E	282	211.5	211.5	188
F	No hay anillo bordeando la base del gancho.			

Tan pronto se colocan las hembras de *S. subtriqueta* en agua, comienzan a expulsar huevecillos con embriones perfectamente desarrollados que a los pocos minutos dejan escapar las larvas, que se mueven activamente y con gran facilidad para desplazarse en el medio acuático. Al colocar un macho y una hembra de *S. subtriqueta* en una placa de petri con agua, se observó que las larvas se adhieren fuertemente al macho, desplazándose sobre su cuerpo con los dos pares de patas y movimientos activos del par de garfios de la cola, que sirven como ancla o punto de fijación. Las larvas logran penetrar el cuerpo del macho en sólo 10 minutos, mediante movimientos de contracción de la región anterior, accionando el aparato perforador y luego introduciendo sus patas y por último la región posterior o cola.

Para observar el ciclo de vida del pentastómido se dio porciones de útero con huevecillos maduros, vía oral, a mojarras (*Cichlasoma nigrofasciatum*). A los dos días de inoculadas se disecó una de ellas, encontrándose larvas de *Subtriqueta* tanto en la cavidad general como en el intestino. A los

tres días murió otra mojarra y la disección reveló un total de 25 larvas en la vejiga natatoria. No se observó ninguna otra larva en otro órgano o región del huésped. Se montó tres de las larvas en PVA para el estudio microscópico y 22 fueron pasadas a un pequeño *Lebistes* spp., penetrando entre las escamas. Al término de unas pocas horas el pez mostró áreas sanguinolentas, especialmente en la región de la cola y un día después murió. La disección reveló 19 larvas activas y aparentemente en buenas condiciones en tejidos de distintas partes del cuerpo. Se pasó 8 de estas larvas a un poecílido (*Priapichtys annectens*) de las que una apareció muerta en el fondo del recipiente (aparentemente no pudo asirse al huésped). Tres días después de recibir al inóculo el poecílido nadaba con dificultad y mostraba problemas de equilibrio. En la disección se encontró únicamente tres de las larvas vivas y no fue posible localizar a las otras cuatro. Por último se dejó un grupo de huevecillos de *S. subtriqueta* durante 24 horas en caja de petri con agua para observar la viabilidad y la actividad larval. Al introducir en el agua una forma larval de renacuajo o "cabezón" se notó la eclosión casi inmediata y la activación de los movimientos de las larvas, que rápidamente se le adherieron. En pocos minutos se iniciaron las actividades de penetración que se completaron en un período de 5 a 10 minutos, pudiéndose observar además el desplazamiento de las larvas en la cavidad general del anfibio. Los movimientos de penetración de las larvas son similares a los ya descritos para penetrar el cuerpo del macho de *S. subtriqueta*. A las 16 horas murió el renacuajo, pero las larvas del pentastómido se mostraban siempre activas.

En enero de 1974 se disecó un *Caiman crocodilus* capturado en Rivas, Nicaragua, obteniéndose dos *S. subtriqueta* hembras y se le dio una porción de útero de una de ellas a un *Ciclasoma nigrofasciatum*. Setenta y dos días después del inóculo se disecó el pez encontrándose en su vejiga natatoria una única ninfa de *S. subtriqueta*, que por su tamaño y características posiblemente sea la forma infectante para el huésped definitivo. La ninfa mostró movimientos muy activos, destacándose además el hecho de no encontrarse restos de mudas anteriores o formación quística o capsular como se presentan en otros pentastómidos.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Algunos pentastómidos utilizan a los peces como huéspedes intermedios como NICOLI (4) lo reportó en los géneros *Sebekia*, *Alofia*, *Leiperia* y *Subtriqueta*, de la familia Sebekidae los tres primeros y Subtriquetridae el último, todos de la superfamilia Porocephaloidea. NICOLI y NICOLI (5) indican que probablemente ocurre lo mismo con *Reighardia sternae* entre los Cephalobaenida.

TRAVASSOS *et al.* (7) encontraron formas larvales de *S. subtriqueta* en la vesícula natatoria de *Pygocentrus piraya* Cuv. en S João, Matto Grosso, Brasil. Por otro lado HEYMONS y VITZHUM (3) anotan que en la colección de Natterer del Museo de Viena se indica la presencia de larvas en órganos

internos de *Aequidens tetramerus* Heckel. Es posible que el habitat de las formas inmaduras de *S. subtriquetra* en el huésped intermediario varíe según el tipo de huésped utilizado o bien conforme el momento en que se observe las larvas en su trayecto migratorio. Sin embargo es interesante destacar que el hallazgo de Travassos y colaboradores coincide con la infección experimental realizada en esta oportunidad. La utilización de mojarra para este experimento se basa fundamentalmente en que es el tipo de pez más corriente en los ríos en donde se colectó los cocodrilos positivos por *Subtriquetra*. Otro aspecto no menos interesante es que la forma ninfal encontrada en la vejiga natatoria, es completamente libre, lo que parece indicar que en el ciclo de este pentastómido, las formas infectantes no se incluyen en una cápsula o quiste sino que son desnudas y activas. por lo demás no se conoce de otros trabajos sobre el ciclo de vida de *Subtriquetra* por lo que estas observaciones sobre el sistema de penetración de la forma larval al huésped intermediario podrían ser utilizadas para aclarar los ciclos evolutivos de otros grupos que incluyen un medio acuático como paso entre los huéspedes. Falta por resolver si el paso de las larvas por el intestino del pez es un paso obligado antes de llegar a establecerse en la vejiga natatoria.

La utilización de renacuajos con fines experimentales permite una fácil observación del sistema de adherencia, desplazamiento y penetración de la larva, así como la reacción del huésped.

Otra interesante adaptación es la ausencia en los huevecillos de cubiertas esclerotizadas como se presenta en otros pentastómidos. Por el contrario, en los huevecillos de *Subtriquetra* al momento de la postura se nota sólo una fina y delicada membrana rodeando libremente el embrión. Esta membrana es tan suave y flexible que el embrión logra en poco tiempo desprenderse de ella. Será necesario otro estudio para determinar el número y naturaleza de la o las cubiertas del huevecillo desde la formación inicial del embrión. Ese estudio involucraría la participación del órgano dorsal que en *Subtriquetra* es similar al tipo descrito por OSCHÉ (6) para *Reigbardia sternaes*.

Como ESSLINGER (1) lo indica, se hace difícil por ahora establecer diferencias entre los huevecillos y larvas de los distintos géneros y especies de pentastómidos, hasta tanto no se cuente con una adecuada descripción de un buen número de ellos. Sin embargo, todo pareciera indicar que el estudio de estas formas continúa ofreciendo nuevas perspectivas en la biología y taxonomía de los distintos grupos. Algunas diferencias que se debe destacar en el huevecillo y larva de *S. subtriquetra* son las siguientes: el aparato perforador o penetrante de la larva permite separar a *Subtriquetra* de otros géneros mencionados por VARGAS (8), FAIN (2) y ESSLINGER (1), ya que en este caso se presenta un par de lancetas centrales en lugar de sólo una lanceta simple o bífida. Lo que ESSLINGER (1) considera como espinas cuticulares en *R. furcocerca* aparece en nuestras larvas como estructuras filiformes, ligeramente ensanchadas en su base, evidentemente distintas a las descritas por el mencionado autor. Otro carácter que también diferencia a las larvas de *Subtriquetra* es el tipo de cola que colocaría a este género entre el grupo con cola bífida

(furcae) bien definida o desarrollada y con una espina, estilete o garfio terminal en cada furca como las descritas por ESSLINGER (1) para *R. furcocerca* y FAIN (2) para *R. bouleengeri*. Este carácter acercaría a *Subtriqueta* a los Cephalobaenida de acuerdo con lo convencionalmente aceptado como característico de este Orden. La presencia de un par de expansiones espiniformes, ventrales hacia la base de los garfios de la cola es otro carácter que distingue a las larvas de *Subtriqueta*, ya que no ha sido descrito para otros géneros o especies. La armadura bucal de la larva es del tipo considerado como Porocephalida, es decir en forma de U con los brazos no paralelos sino claramente divergentes.

Las formas ninfales también ofrecen caracteres que permiten su separación en grupos y su reconocimiento en especies. Los caracteres siguientes de la ninfa colocan a *Subtriqueta* dentro de los Porocephalida: 1) ganchos bucales del tipo simple y con fulchrum; 2) ausencia de estiletes en el borde anterior del cuerpo; 3) ausencia de lóbulos parapodiales; 4) presencia de hileras de espinillas ventrales en el cuerpo.

### AGRADECIMIENTOS

El Dr. William Bussing, de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica identificó los peces utilizados en este estudio. Los señores Raúl A. Vargas e Ing. Rafael A. Mora capturaron los *Caiman crocodilus*, huéspedes de *S. subtriqueta*. El Sr. Manuel Chavarría hizo la revisión editorial. A todos ellos mi profundo agradecimiento.

### RESUMEN

La descripción y medidas del huevecillo, la larva y la ninfa de *S. subtriqueta* que incluyen la cubierta del huevecillo, aparato perforador, anillos del cuerpo, cola, patas, órgano dorsal y anillo bucal de la larva y la armadura bucal, ganchos bucales, espinillas ventrales del cuerpo de la ninfa, comparan a este pentastómido en los Porocephalida, aun cuando el órgano dorsal y la cola de la larva se asemejan a aquellos de los Cephalobaenida.

El ciclo de vida de *S. subtriqueta* fue observado en *Cichlasoma nigrofasciatum* experimentalmente infectados; tanto larvas como ninfas fueron encontradas en la vesícula natatoria del huésped. El sistema de penetración usado por las larvas en *Priapichtys annectens*, *Lebistes* spp. y un renacuajo fue también estudiado.

### REFERENCIAS

1. ESSLINGER, J. H.  
1968. Morphology of the egg and larva of *Raillietiella furcocerca* (Pentastomida) from a Colombian snake (*Clelia clelia*). *J. Parasitol.*, 54: 411-416.
2. FAIN, A.  
1961. Les pentastomides de l'Afrique Centrale. *Ann. Mus. R. Afr. Centr. Sér. 8. Zool.*, 92: 1-115.

3. HEYMONS, R., & H. G. VITZHUM  
1936. Beitrage zur Systematik der Pentastomiden. *Z. Parasitkde.*, 8: 1-103.
  4. NICOLI, R-M.  
1963. Phylogénese et systématique le phylum Pentastomida. *Ann. Parasitol. Humaine Comp.*, 38: 483-516.
  5. NICOLI, R-M., & J. NICOLI  
1966. Biologie des Pentastomides. *Ann. Parasitol. Humaine Comp.*, 41; 255-277.
  6. OSCHKE, G.  
1959. "Arthropodencharaktere" bei einem Pentastomiden Embryo (*Reighardia sternae*). *Zool. Anz.*, 163: 169-178.
  7. TRAVASSOS, L., P. ARTIGAS, & C. PEREIRA  
1928. Fauna helminthologica dos peixes de agua doce do Brasil. *Arch. Inst. Biol. (São Paulo)*, 1: 5-68.
  8. VARGAS V., M.  
1971. Hallazgo de *Subtriquetra subtriquetra* Sambon, 1922 (Pentastomida) en Costa Rica y su redescrición. *Rev. Lat-amer. Microbiol.*, 13: 137-146.
- 

Figs. 1-6 *Subtriquetra subtriquetra* Sambon, 1922.

Fig. 1. Huevecillo, vista lateral.

Fig. 2. Larva, vista ventral.

Fig. 3. Cola de la larva, mostrando garfio y espineta, vista lateral.

Fig. 4. Aparato perforador de la larva, vista ventral.

Fig. 5. Hilera de espinillas de la ninfa, vista ventral.

Fig. 6. Región anterior de la ninfa, vista ventral.

