

**Lesiones histológicas en músculo esquelético, causadas por larvas de *Eustrongylides* sp (Nematoda: Dictiophymatidae) en ranas comestibles del Lago Cuitzeo, Michoacán, México**

**Histological lesions in skeletal muscle, caused by *Eustrongylides* sp (Nematoda: Dictiophymatoidae) larvae in edible frogs from Lake Cuitzeo, in the state of Michoacan, in Mexico**

José Ramírez Lezama\*  
David Osorio Sarabia\*\*

---

**Abstract**

The aim of the present study was to inform about the microscopic lesions caused by *Eustrongylides* sp in the skeletal muscle of frogs from Lake Cuitzeo, located in Michoacan, Mexico, given that it is considered to be a potentially zoonotic parasite. 146 frogs, from four species were studied: 80 from *Rana megapoda*, 43 from *Rana dunni*, 16 from *Rana catesbiana* and seven from *Rana verlandieri*. All were euthanised with an intraperitoneal pentobarbital overdose. The total body weight, weight of the legs, gender and total length were registered. An external and internal examination was then carried out, using a stereoscopic microscope, and the *Eustrongylides* sp nematodes were removed using fine brushes. These were fixed first in 70% ethyl alcohol and then in Amman lactophenol to facilitate their observation and taxonomic identification under the microscope. Necropsies were performed on the 146 total specimens from the four species, finding 10 parasitic larval forms in the leg muscles of the *Rana megapoda* specimens. Therefore, skeletal muscle fragments measuring 0.1 × 0.2 cm were extracted and fixed in 10% buffered formalin with a pH of 7.2. These were processed with the routine hematoxylin-eosin technique for their inspection under the light microscope. Multiples focal hemorrhages, a moderate quantity of heterophils between muscle fibers and a few round nematodes with a thin cuticle, muscle and pharynx, were observed. It is important to note that more studies must be carried out on these parasites, given that the frogs are of commercial importance for human consumption in the area, and can cause zoonosis and economic loss.

**Key words: HISTOLOGIC LESIONS, FROG SKELETAL MUSCLE, *EUSTRONGYLIDES* SP LARVAE, LAKE CUITZEO, MICHOACAN, MEXICO.**

**Resumen**

El presente estudio tiene como objetivo informar sobre las lesiones microscópicas provocadas por larvas de *Eustrongylides* sp en músculo esquelético de ranas en el Lago Cuitzeo, Michoacán, México, considerado un parásito

---

Recibido el 11 de septiembre de 2001 y aceptado el 26 de noviembre de 2001.

\* Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

\*\* Laboratorio de Helmintología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

potencialmente zoonótico. Se revisaron 146 ejemplares de las cuatro especies: 80 de *Rana megapoda*, 43 de *Rana dunni*, 16 de *Rana catesbiana* y siete de *Rana verlandieri*, a los cuales se le aplicó la eutanasia con sobredosis de pentobarbital por vía intraperitoneal. Se registró el peso corporal, los pesos de las ancas, sexo y longitud total. Posteriormente se realizó el examen externo e interno bajo el microscopio estereoscópico y fueron retirados con pinceles nematodos de *Eustrongylides* sp, se fijaron en alcohol etílico al 70% y posteriormente con lactofenol de Amman para su observación bajo el microscopio y determinación taxonómica; se practicó la necropsia a 146 ejemplares de las cuatro especies de ranas, encontrándose en las *Rana megapoda*, diez formas larvarias parasitarias en los músculos de las ancas, por lo que se procedió a extraer fragmentos de músculo estriado esquelético de 0.1 × 0.2 cm, los cuales se fijaron en formalina amortiguada al 10% con pH 7.2. Posteriormente se procesaron con la técnica de rutina hematoxilina-eosina para su revisión bajo el microscopio óptico. Se observaron múltiples focos de hemorragias, presencia de moderada cantidad de heterófilos entre las fibras musculares y escasos nematodos redondos de los cuales exhiben una cutícula delgada, músculo y faringe. Es importante destacar que se deben realizar más estudios entre estos parásitos, ya que las ranas son de importancia comercial para el consumo en la zona, pues al infectarse causan zoonosis y ocasionan pérdidas económicas.

**Palabras clave:** LESIONES HISTOLÓGICAS, MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RANAS, LARVAS DE *EUSTRONGYLIDES* SP, LAGO CUITZEO, MICHOACÁN, MÉXICO.

The production and commercialization of frogs legs in Lake Cuitzeo started 20 years ago as a complementary economic activity.<sup>1</sup>

Bibliographical information on this activity points to four species of frogs that make up this resource: *Rana megapoda*, *Rana dunni*, *Rana verlandieri* and *Rana catesbiana*.<sup>2,4</sup> The harvest of these frogs represents a real benefit for 300 families that inhabit the riverside of Lake Cuitzeo, further benefiting recently from the export of frog's legs to different parts of America and Asia.<sup>3</sup> With the purpose of diagnosing illnesses that could represent problems in the growth, reproduction and commercialization phases, six bi-monthly samplings were carried out during which a total of 146 specimens from the four species were collected: 80 from *Rana megapoda*, 43 from *Rana dunni*, 16 from *Rana catesbiana* and seven from *Rana verlandieri*. Adult phases of parasites have been recognized in the esophagus and stomach of numerous species of wild duck.<sup>5,6</sup> The frogs acquire the helminthes when they consume fish or turbificid oligochaetes which have been parasitized with second stage larvae (Figure 1). The study revealed the presence of numerous parasites belonging to several groups which were acquired during feeding. Oligochaetes were found in *Rana megapoda*, specifically in leg muscle, a fact which caught the attention of the buyers and has been a cause of great protest given the damage that they could cause to the health of consumers.

With the aim of determining the identity of the nematode and describing the histological lesions in the amphibian tissues, frogs were captured and sacrificed with an overdose of pentobarbital administered via the intraperitoneal route. Their body

La explotación de las ranas del Lago Cuitzeo a partir de la comercialización de las ancas se inició hace 20 años como una actividad económica complementaria.<sup>1</sup>

La información bibliográfica al respecto señala cuatro especies que constituyen dicho recurso: *Rana megapoda*, *Rana dunni*, *Rana verlandieri* y *Rana catesbiana*,<sup>2,4</sup> representando su cosecha un beneficio real para 300 familias que habitan en la ribera del Lago Cuitzeo, que se han visto beneficiadas al exportar recientemente ancas de los anuros a diferentes partes de América y Asia.<sup>3</sup> Con el propósito de diagnosticar enfermedades que pudieran representar problemas para su crecimiento, reproducción y comercialización, se efectuaron seis muestreos bimensuales, durante éstos se revisaron 146 ejemplares de las cuatro especies: 80 de *Rana megapoda*, 43 de *Rana dunni*, 16 de *Rana catesbiana* y siete de *Rana verlandieri*. Las fases adultas han sido identificadas en esófago y estómago de numerosas especies de patos silvestres,<sup>5,6</sup> las ranas adquieren la helmintiasis cuando consumen peces u oliguetos tubificidos parasitados con las larvas del segundo estadio del parásito (Figura 1). El estudio reveló la presencia de numerosos parásitos pertenecientes a varios grupos, las ranas adquirieron aquéllos cuando consumieron peces u oligoqueto. Se registraron tubificidos en la *Rana megapoda*, que fueron registrados en los paquetes musculares de las ancas que llamaron la atención, por lo que han sido motivo de protesta por parte de los compradores debido al daño que podría provocar en la salud de los consumidores.

Con el propósito de determinar la identidad del nematodo y describir las lesiones histológicas en los tejidos de los anfibios que parasita, las ranas capturadas

weight, leg weight, gender and total length were registered. During the external exam, carried out under a stereoscopic microscope, the skin, external orifices, and internal organs were examined. The nematodes were removed from the leg muscles using fine brushes and were then processed using the conventional technique. These helminthes were placed in 70% ethyl alcohol and then bleached in Amman lactophenol to facilitate their taxonomic identification.

Necropsies were carried out on the 146 specimens from the four species of frog, finding in the 80 *Rana megapoda* specimens a total of 10 adult parasitic forms in the leg musculature. Muscle fragments measuring 0.1 × 0.2 cm were extracted and then fixed in 10% buffered formalin with a pH of 7.2. These were then processed with the routine hematoxylin-eosin technique for their inspection under the light microscope.

The anatomical and morphometric analysis of the nematodes indicates that they are third stage larvae belonging to the *Eustrongylides* sp gender (Nematoda: Dioctophymatidae).<sup>7</sup>

The most obvious morphological characteristics of the *Eustrongylides* nematodes are: Size (more than 7 cm in length), a characteristic red color, non-dilated cephalic region, anterior mouth with a double ring of perioral papillae, terminal anus and smooth cuticle surface (Figure 2).

When observing the histological fragments of skeletal muscle, multiples hemorrhagic foci, as well as a discrete quantity of heterophils were seen between the muscle fibers. Furthermore, a round worm, with a thin cuticle, central pharynx, and surrounding round skeletal muscle fibers, was observed (Figures 3 and 4).

In regards to the microscopic lesions produced in the muscle fibers of frogs by *Eustrongylides* sp, there is little literature. These parasites are considered to be zoonotic, thus the great importance of continuing to carry out preliminary studies and research into the taxonomic determination of the parasites such as has been done in protozoa, cestodes and nematodes that affect fish, amphibians and reptiles, as well as the gross and microscopic lesions which are caused in the host, especially given the scant literature that currently exists.

Pulido<sup>1</sup> points out the presence of 14 species of helminth frog parasites; the three with the highest prevalence are: *Eustrongylides* sp larvae, *Ochoterenella digitica* (adults) and *Contracecum* sp larvae. The larvae of *Eustrongylides* sp are found primarily in the liver, mesentery and between the muscle packets of the hind legs; sometimes they even emerge into the

fueron sacrificadas con sobredosis de pentobarbital por vía intraperitoneal. Se registró su peso corporal, peso de las ancas, sexo y longitud total. Durante el examen externo, realizado bajo el microscopio estereoscópico, se revisó la piel, los orificios externos y los órganos internos. Los nematodos fueron retirados con pinceles de los músculos de las ancas de las ranas para su posterior procesamiento con la técnica convencional. Dichos helmintos se colocaron en alcohol etílico al 70% y se aclararon en lactofenol de Amman para su determinación taxonómica.

Se practicó necropsia a 146 ejemplares de cuatro especies de ranas, encontrándose en las 80 *Ranas megapoda*, diez formas adultas parasitarias en los músculos de las ancas; en ese sentido, se procedió a extraer fragmentos de músculo estriado esquelético de 0.1 × 0.2 cm, los cuales se fijaron en formalina amortiguada al 10% amortiguada y pH 7.2; posteriormente se procesaron con la técnica de rutina de hematoxilina-eosina, para su posterior revisión bajo el microscopio óptico.

La revisión anatómica y morfométrica de los nematodos indica que se trata de larvas del tercer estadio, pertenecientes al género *Eustrongylides* sp (Nematodo: Dioctophymatidae).<sup>7</sup>

Las características morfológicas más sobresalientes de los nematodos de *Eustrongylides* son: Tamaño (más de 7 cm de longitud), color rojo característico, región cefálica no dilatada, boca en el extremo anterior con doble anillo de papilas periorales, ano terminal y superficie cuticular lisa (Figura 2).

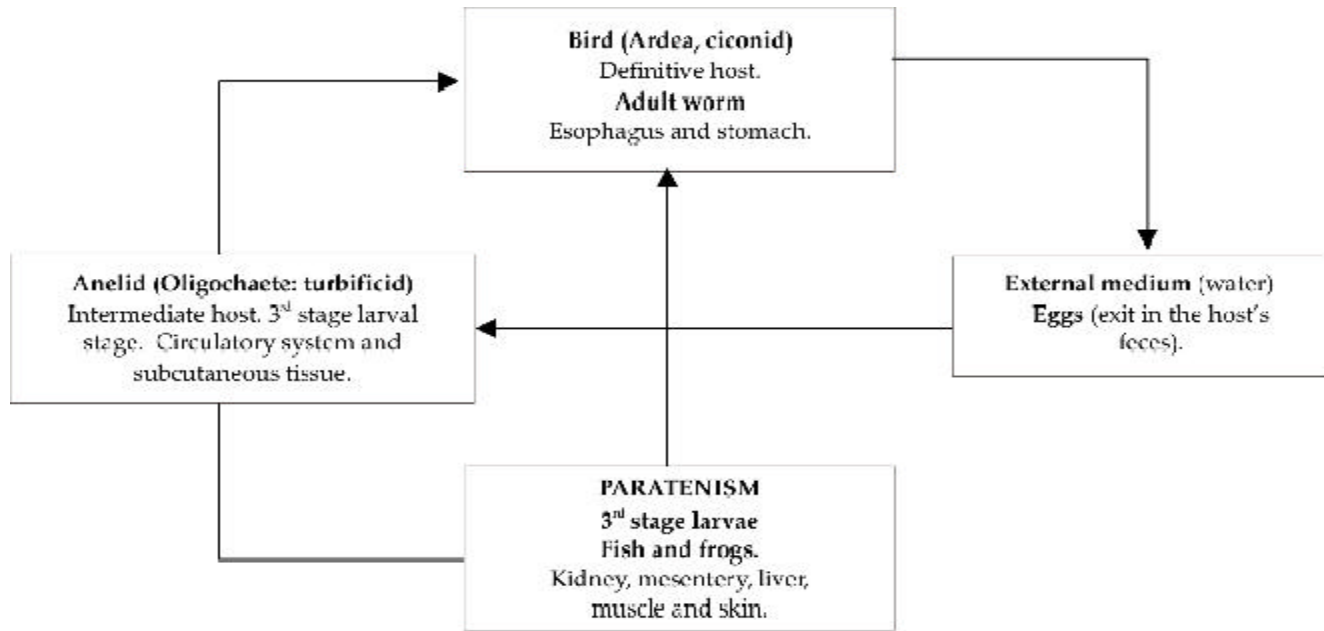
Al observar los cortes histológicos del músculo esquelético se apreciaron múltiples focos de hemorragia, así como discreta cantidad de heterófilos entre las fibras, además de la presencia de un gusano redondo, que presentaba cutícula delgada y en el centro una faringe, además lo rodean fibras musculares esqueléticas (Figuras 3 y 4).

Con respecto a las lesiones microscópicas provocadas por *Eustrongylides* sp, en las fibras musculares esqueléticas en las ranas en este estudio, existe muy escasa literatura al respecto, este parásito es considerado zoonótico, por lo que es importante seguir realizando estudios preliminares y de investigación sobre determinación taxonómica de los parásitos, como protozoarios, cestodos y nematodos que afectan a peces, anfibios y reptiles y las lesiones macro y microscópicas que causan al hospedero, ya que actualmente existe escasa literatura al respecto.

Pulido<sup>1</sup> señala la presencia de 14 especies de helmintos parásitos de las ranas; tres con mayor prevalencia son: Larvas de *Eustrongylides* sp, *Ochoterenella digitica* (adultos) y larvas de *Contracecum* sp. Las larvas de *Eustrongylides* sp se localizan principalmente en tejido subcutáneo, hígado, mesenterio y entre los paquetes musculares de las extremidades inferiores; algunas veces emergen hasta el tejido subcutá-

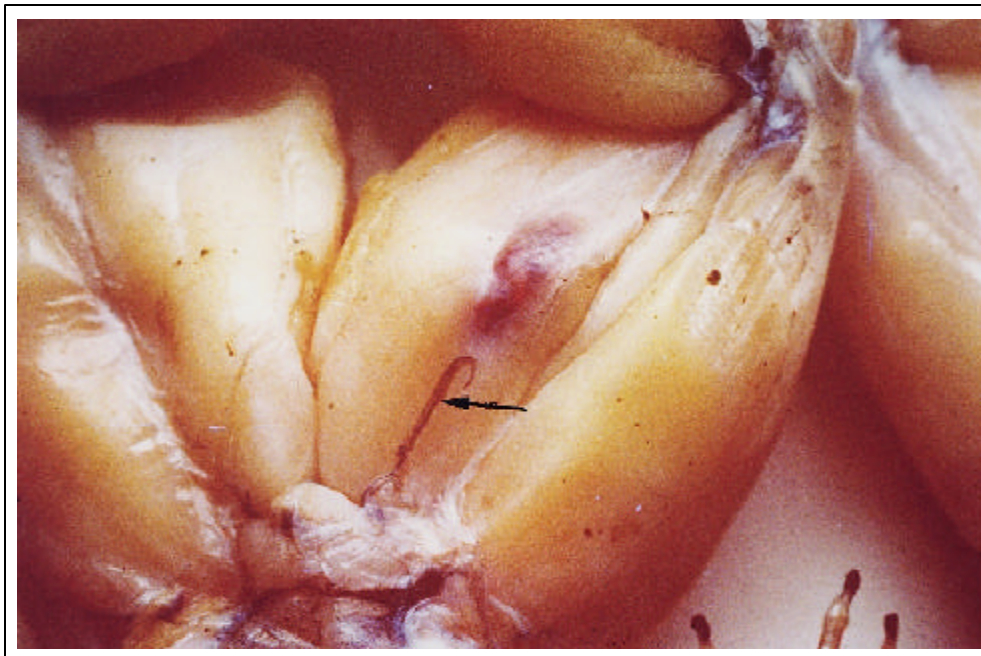
subcutaneous tissue. In this case, given that they are large worms that can measure up to 12 cm and are a bright red color, they are easily perceptible. This provides a rather disagreeable aspect to the legs of

neo. En este caso y por ser gusanos grandes que llegan a medir hasta 12 cm y de color rojo brillante son fácilmente perceptibles, esto último proporciona un aspecto desagradable para los consumidores de ancas



Modified from Mendez, 1995.

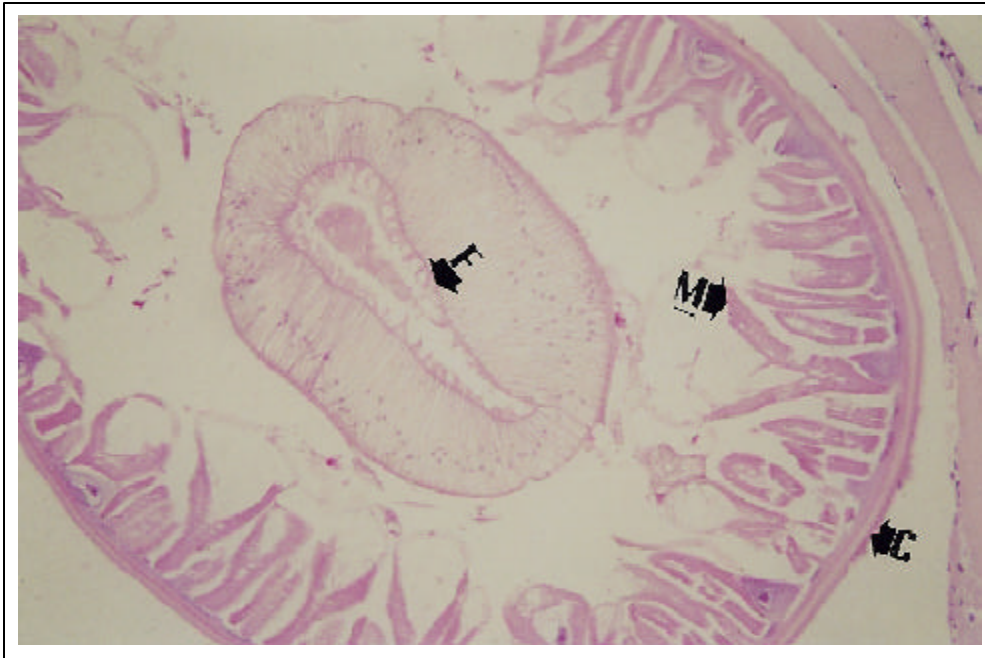
**Figura 1.** Ciclo evolutivo de *Eustrongylidessp.*  
Evolutional cycle of *Eustrongylidessp.*



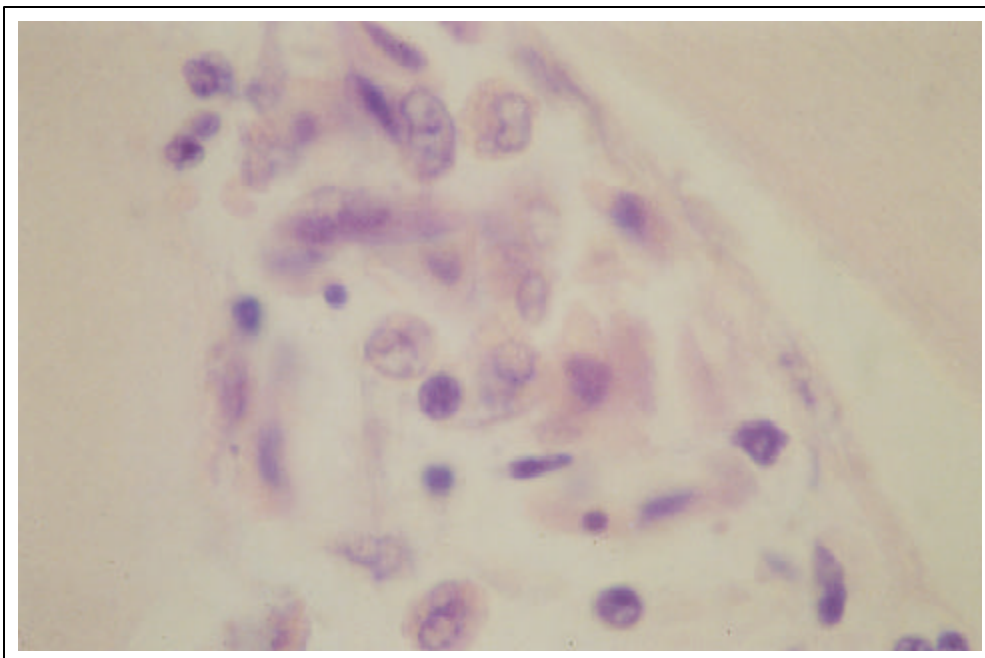
**Figura 2.** Neumatodo adulto de *Eustrongylidessp.* enquistado en el músculo esquelético en una Rana megapoda.  
Adult *Eustrongylidessp.* nematode cyst in the skeletal muscle of Rana megapoda.

these amphibians which is easily detected by the consumers since the legs are sold skinless; this causes great economic loss to the sellers. As far as the lesions which these cause in the amphibians, it quite possibly causes lessened movement in the limbs, as well as secondary infections, making them easier prey for predators.<sup>8,9</sup> On the other hand, the *Eustrongylides* sp larvae are considered zoonotic given that there is a documented case of intestinal perforation in a pa-

de estos anfibios, que se venden sin piel y causan altas pérdidas económicas a los comerciantes. En cuanto a las lesiones que ocasiona a los batracios, se sugiere que puede causar disminución en el movimiento de las extremidades, además de infecciones secundarias, por lo cual son presa fácil de los depredadores.<sup>8,9</sup> Por otro lado, las larvas de *Eustrongylides* sp se consideran como zoonosis, ya que se ha registrado perforación intestinal causada en un paciente que consumió peces



**Figura 3.** Microfotografía de sección de músculo esquelético, en donde se aprecia el corte transversal del nematodo (*Eustrongylides* sp) presentando una delgada cutícula (c), faringe (f) y una capa de músculo (m). H/E.4,375x.  
Microphotograph of a section of skeletal muscle, where one can appreciate a transverse section of the nematode (*Eustrongylides* sp) which presents a thin cuticle (c), pharynx (f) and layer of muscle (m). H/E.4,375x.



**Figura 4.** Microfotografía de sección de músculo esquelético, observándose discreta cantidad de heteófilos y linfocitos. H/E17,660x.  
Microphotograph of a section of skeletal muscle, in which one can observe a discrete quantity of heterophils and lymphocytes. H/E 17,660x.

tient that consumed live fish infested with the fourth larval stage.<sup>10-12</sup>

The study of platyhelminth parasites in amphibians began in 1737 with the observation of worms in frog lung tissue which is noted by Swammerdam.<sup>13</sup> Later the number of descriptions of helminths found in amphibians increases, as in the case of the *Nematotenia dispar* cestode described by Goeze in German salamanders in 1782, the description of *Polystoma rannae*, carried out by Zecer in 1800, as well as many others.<sup>14-18</sup>

In Mexico, amphibians have been studied from the parasitological point of view by Sokoloff, Caballero, Bravo and Lamothe<sup>19-21</sup> among others. They have focused principally on the group taxonomy, thus managing to establish a list composed of approximately 44 helminth species which are parasites of these vertebrates in Mexico.<sup>1,22</sup>

In America five species of *Eustrongylides* sp are listed.<sup>6</sup> Little is known about the life cycle of these organisms, but Smyth and Smyth<sup>23</sup> point out that *Eustrongylides* sp eggs are large and embryonic, given that up to three larval stages are able to develop and the infection of the definitive host (birds) is produced via the ingestion of infected fish, such that, in this case, the frog constitutes an accidental host.<sup>6,16,18,19</sup>

Therefore, taxonomy represented the first stage of study of these groups. However, the knowledge we now possess allows us to carry out other types of studies, such as on the community of helminthes and the type of gross and microscopic lesions that the great variety of helminth parasites produce in frogs; as well as understanding the repercussions they produce in these amphibians, including in their nutrition, reproduction and commercialization.<sup>1</sup>

In parasites such as *Trichinella spiralis*, *Toxoplasma gondii*, *Hammondia* sp, *Sarcocystis* sp, *Onchocerca* sp and *Gnathostoma* sp, among others, the skeletal and cardiac muscle lesions, including necrotic and granulomatous miositis with a concurrent absence of an inflammatory response, are due to the different forms of resistance to the immune response that is possessed by the different parasites.<sup>17</sup>

The information which we now possess, has been gathered from organisms distributed amongst the temperate zones. It is important to point out that studies, such as this one, will contribute data that allow a better understanding on the general structural patterns in the communities of helminthes and the pathological aspects they produce in their hosts.

## Acknowledgements

The authors wish to thank Jaime Cordoba Lopez for taking, processing and making suggestions about the photographs in this study.

vivos infestados con la larva del cuarto estadio durante la pesca.<sup>10-12</sup>

El estudio de los platelmintos parásitos de anfibios comenzó en 1737 con la observación referida por Swammerdam acerca de un gusano en los pulmones de una rana,<sup>13</sup> posteriormente se incrementó el número de descripciones de helmintos encontrados en anfibios, como es el caso de la descripción del cestodo *Nematotenia dispar* por Goeze, en 1782, para las salamandras de Alemania, así como la descripción de *Polystoma rannae*, efectuada por Zecer en 1800, además de otros trabajos.<sup>14-18</sup>

En México los anfibios han sido estudiados desde el punto de vista parasitológico por Sokoloff, Caballero, Bravo y Lamothe<sup>19-21</sup> entre otros, abarcando básicamente el aspecto taxonómico del grupo, para llegar a establecer de esta manera un registro compuesto por aproximadamente 44 especies de helmintos parásitos de estos vertebrados en el país.<sup>1,22</sup>

En América se han registrado cinco especies de *Eustrongylides*.<sup>6</sup> Se conoce muy poco acerca del ciclo de vida de estos organismos, pero Smyth y Smyth<sup>23</sup> señalan que los huevos de *Eustrongylides* sp son embrionados y grandes, ya que en ellos se desarrollan hasta tres estadios larvarios y la infección del hospedero definitivo (aves) se produce mediante la ingestión de peces infectados, de manera que en este caso la rana constituye un hospedero accidental.<sup>6,16,18,19</sup>

Así la taxonomía representó la primera etapa en el estudio de estos grupos; sin embargo, los conocimientos que ya se tienen permiten abordar otro tipo de trabajos, como estudios de las comunidades de helmintos y el tipo de lesiones macroscópicas y microscópicas que provocan la gran variedad de helmintos parásitos en las ranas, así como conocer de qué manera repercuten en los anfibios, desde su alimentación, crecimiento, reproducción y comercialización.<sup>1</sup>

Para el caso de los parásitos como *Trichinella spiralis*, *Toxoplasma gondii*, *Hammondia* sp, *Sarcocystis* sp, *Onchocerca* sp y *Gnathostoma* sp, entre otros, provocan o no lesiones en músculos esquelético y cardíaco desde miositis necrótica y granulomatosa y ausencia de respuesta inflamatoria debido a las distintas formas de resistencia a la respuesta inmune que poseen distintos parásitos.<sup>17</sup>

La información con que se cuenta se ha generado en organismos distribuidos en zonas templadas; es importante mencionar que estudios como el presente aportarán datos que permitan un mejor entendimiento de los patrones generales de estructuración de las comunidades de helmintos y aspectos patológicos en sus hospederos.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a Jaime Córdoba López, las tomas, revelado y sugerencia de las fotografías en este trabajo.



## Referencias

1. Pulido FG. Helmintos de *Rana dunni*, Zweifel, 1957 endémica del lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. *Anal Inst Biol Univ Nal Aut Méx Ser Zool* 1992;65:205-207.
2. Flores VO. Biología y problemática de los vertebrados de México. Riqueza de los anfibios. *Rev Cien* 1993;7:33-42.
3. Secretaría de Pesca. Determinación del potencial acuícola de los embalses epicontinentales mayores de 10,000 hectáreas y nivel de aprovechamiento. Lago de Cuitzeo, Cuitzeo, Michoacán: SEPESCA, 1990.
4. Casas-Andreu G. La herpetología en México. *Naturaleza* 1984;4:216-224.
5. Lichtenfels RJ, Pilitt PA. *Eustrongylides* sp (Nematoda: Dioctophymatoidea) Differentiation of third and fourth-stage larvae from killifish *Fundulus* sp, collected in Chesapeake Bay area. *USA Proc Helminthol Soc Wash* 1986;53:144-148.
6. Fastzkie JS, Crites JL. A redescription of *Eustrongylides tubifex* (Nitzsch, 1819) Jagerskoild 1909 (Nematoda: Dioctophymatidae) from mallards (*Anas platyrhynchos*). *J Parasitol* 1977;63:707-712.
7. Lichtenfels RJ, Lavies OB. Mortality red-sided garter snakes *Thamnophis sirtalis parietalis* due to larval nematode *Eustrongylides* sp. *Am Lab Assoc Ann Sci* 1976;26:465-467.
8. Méndez UMN: Anélidos de Tuxpan, Veracruz. *Cuad Mex Zool* 1995;3:35-39.
9. Bever PC, Theis JH. Dioctophymatid larval nematode in a subcutaneous nodule from man in California. *Am J Trop Med Hyg* 1979;28:206-212.
10. Eberhard ML, Hurwitz H, Sun AM, Coletta D. Intestinal perforation caused by larval *Eustrongylides* (Nematoda: Dictiophymatoidea) in New Jersey. *Am J Trop Med Hyg* 1989;40:648-650.
11. Locke LN. Heron and egret losses due to verminous peritonitis. *Avian Dis* 1961;5:135-138.
12. Karmanova EM. Dioctophymidae of animals and man diseases caused by them. *Fund Nematol Sci Acad URSS* 1968;20:123-206.
13. Shirazin D, Schiller EL, Glaser CA, Vonderfecht SL. Pathology of larval *Eustrongylides* in the rabbit. *J Parasitol* 1984;70:803-806.
14. Kennedy CR, Lie SF. The distribution and pathogenicity of larvae of *Eustrongylides* (Nematoda) in brown trout (*Salmo trutta*) in Fenworthy Reservoir Devon. *J Fish Biol* 1976;6:293-302.
15. Panesar TS, Beaver PC. Morphology of the advanced-stage larvae of *Eustrongylides wenrichi* Capavan, 1939, occurring encapsulated in the *Amphiuma* in Louisiana. *J Parasitol* 1979;65:96-104.
16. Paperna F. Host distribution and pathology of infection with larvae of *Eustrongylides* (Nematoda: Dioctophymatidae) in fishes from east African lakes. *J Fish Biol* 1974;6:67-77.
17. Lamothe AR, García PL. Helminthiasis del hombre en México. México (DF): AGT, 1988.
18. Doruco M, Crompton DWT, Huntingford FA, Walters DE. The ecology of endoparasitic helminths infections of brown trout (*Salmo trutta*) and rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) in Scotland. *Folia Parasitol* 1995;42:29-35.
19. Caballero CE, Bravo HM. Nematodos parásitos de los batracios de México. *An Inst Biol Univ Nal Aut Méx* 1943;14:141-159.
20. Lamothe AR, Pérez PLG. Hallazgos de *Posthodiplostomum minimum* (Mac Callum, 1921) DUBOIS, 1936 (Trematoda: Diplostomatidae) en *Egretta thula* en México. *An Inst Biol Uni Nal Aut Méx* 1986;57:235-246.
21. Sokoloff D, Caballero EC. Primera contribución al conocimiento de los parásitos de *Rana montezumae* (trematoda). *An Inst Biol Uni Nal Aut Méx* 1933;4:15-21.
22. Orecka-Gabada T, Weirzbicka J. Metazoan parasites of the eel *Anguilla anguilla* (L) in the Szczecin lagoon and river Odra mouth area. *Acta Ichthyol Psica* 1994;24:13-19.
23. Smyth JD, Smyth MM. An introduction to Parasitology through the parasite of *Rana temporaria*, *Rana esculenta* and *Rana pipiens*. Hong Kong, China: MacMillan, 1980.