

## Artículo

# Contribución al conocimiento de la glándula anal de la "Guarura": *Pomacea (Pomacea) urceus* (Müller, 1774) (Caenogastropoda: Ampullariidae)

Enrique Martínez Moreno y Rafael Martínez-Escarbassiere

**Resumen.** *Pomacea (P.) urceus* es un gastrópodo de cuerpos de aguas estacionales del norte de Sudamérica, que entra en estivación durante la temporada de sequía. Esta especie, al igual que todos los ampullaridos, posee una glándula anal la cual ha sido poco estudiada. Dicha glándula se caracteriza por la presencia de láminas alternas que no ocluyen por completo la luz de la misma, permitiendo el paso de las sustancias de secreción hacia el recto. Asimismo, en el interior de la luz de la glándula se encuentra una sustancia pastosa con secreciones calcáreas. A nivel microscópico se puede apreciar que la superficie de estos tabiques está formada por un epitelio de absorción, mientras que hacia la parte basal se aprecian células secretoras, musculares y ameboides. Estos amebocitos frecuentemente aparecen rodeando a gránulos mineralizados que finalmente dan lugar a las concreciones, estas presentan una composición inorgánica, mayoritariamente de carbonato de calcio bajo la forma de calcita. En tal sentido se presume que la función de este órgano pudiera estar relacionada con la regulación del pH sanguíneo durante la estivación.

**Palabras clave.** Pomacea. Ampullaridos. Glándula anal. Concreciones calcáreas. Estivación.

Contribution to the knowledge of the anal gland of "Guarura": *Pomacea (Pomacea) urceus* (Müller, 1774) (Caenogastropoda: Ampullariidae)

**Abstract.** *Pomacea (P.) urceus* is a gastropod from seasonal shallow water bodies of Northern South America, and which is characterized by aestivate during dry season. This species, like all ampullarids, possess an anal gland that has been little studied. The anal gland is characterized by the alternate tissue sheets that do not completely block the interior of the gland, thereof allowing passage of secretion substances into the rectum. The lumen of the gland it is filled with a pasty substance and calcareous concretions. At microscopical level it can be seen that the surface of these walls is formed by absorption epithelium, while at the internal side there are secretory, muscular and amoeboid cells. These amoebocytes appear often surrounding mineralized granules that finally result in concretions. These concretions have an inorganic composition, mostly of calcium carbonate in the form of calcite. Therefore it is presumed that the function of this body may be related to the regulation of blood pH during aestivation.

**Key words.** Pomacea. Ampullarids. Anal gland. Calcium concretions. Aestivation

## Introducción

*Pomacea urceus* (Müller, 1774), conocida como "guarura" en regiones de los Llanos de Venezuela sometidas a regímenes de extrema sequía e inundación, es el gastrópodo dulceacuícola de mayor tamaño presente en el Neotrópico. Esta especie, al igual que el resto de los miembros de la familia Ampullariidae (Cowie y Thiengo 2003), se

destaca por su capacidad para respirar dentro del agua como fuera de la misma gracias a que poseen un saco pulmonar así como una branquia, lo cual les permite sobrevivir durante la temporada de sequía cuando se secan las charcas y lagunas estacionales donde habita. Los ampuláridos además poseen otras estructuras características tales como la ampolla aórtica que compensa la elevada presión sanguínea durante la contracción ventricular, y una glándula anal, también conocida como glándula rectal, la cual se caracteriza por poseer un epitelio de absorción y concreciones calcáreas, cuya función precisa se desconoce. Los pocos autores que han estudiado este órgano consideran que el mismo puede tener funciones excretorias o complementarias al riñón (Andrews 1965a, 1965b; Lufty y Demian 1967; Lagarde 1973). Sin embargo Martínez-Escarbarssi (1975) propone que dicha estructura puede estar relacionada con la estivación, por lo cual se consideró relevante realizar una investigación preliminar para conocer mayores detalles de la anatomía, histología y ultraestructura de esta glándula, así como de la composición química de las concreciones encontradas en su interior (Martínez 1988).

Se destaca la escasez de trabajos anatómicos y fisiológicos de fechas recientes con este grupo, siendo la mayoría de las citas referidas a la ecología de algunas *Pomaceas* que se han tornado en especies invasoras en Asia y Europa (Cowie 2002).

## Materiales y Métodos

Se colectaron 30 ejemplares adultos de *Pomacea urceus*, sin discriminar entre sexos, en una laguna estacional ubicada en San Fernando de Apure 7°54'N-67°28'O, Venezuela, entre los meses de febrero y agosto de 1987. Los animales fueron transportados al Laboratorio de Invertebrados del Instituto de Zoología y Ecología Tropical, de la Universidad Central de Venezuela, donde fueron mantenidos bajo condiciones equivalentes a las existentes para el momento en que fueron recolectados hasta proceder a su estudio: estivación en un lugar seco y oscuro para los ejemplares obtenidos durante la temporada de sequía; y en acuarios alimentados con flores de cayena (*Hibiscus* sp.) a los animales capturados en estado de actividad. Es necesario aclarar que dificultades logísticas ajenas a nuestro control impidieron analizar todas las muestras para alcanzar una validez estadística, por lo que los resultados de este estudio se consideran preliminares y como base para otros trabajos más rigurosos.

Las glándulas destinadas al estudio histológico se fijaron en solución de Bouin, y los cortes fueron coloreados con hematoxilina-eosina (Mc Manus 1960); mientras que aquellas destinadas a los estudios microanatómicos se prepararon empleando la técnica del punto crítico (Cohen 1974) para su observación en un microscopio electrónico de barrido HITACHI S-450 a 25 KV. Por su parte, las muestras para los estudios de ultraestructura se prepararon de acuerdo con los procedimientos de Watson (1958), Luft (1961), Millonig (1961) y Reynolds (1963). Los cortes obtenidos con el ultramicrotomo se observaron en un microscopio electrónico de transmisión HITACHI H-500 a 75 KV.

En lo que respecta a la composición atómica de las concreciones y a su morfología, estas fueron analizadas en un microscopio electrónico de barrido HITACHI S-450 equipado con un analizador de fluorescencia de rayos X (EDS) KEVEX (Jenkins *et al.* 1995). Asimismo, se analizaron las concreciones con un espectrómetro de difracción de rayos X PHILLIPS PW-1390 para estudiar su estructura cristalográfica (Cullity 1978).

Se realizaron pruebas de incineración para determinar el contenido de materia orgánica, así como la hidrólisis ácida y neutralización para determinar amonio, fosfato, carbonatos, oxalatos y purinas (Hodgkinson 1971). Por último, se realizaron pruebas colorimétricas y de espectrometría de emisión en la pasta presente en la luz de la glándula con la finalidad de identificar sus componentes principales (Kaplan y Pesce 1996).

## Resultados

### Anatomía y morfología

*Pomacea urceus* presenta una glándula anal en forma de divertículo alargado, comprimido, altamente tabicado y bastante desarrollado que desemboca en el recto por encima de la papila anal (Figura 1). Dicha glándula está ubicada hacia la parte inferior derecha de la branquia, encontrándose embebida en el tejido conectivo del manto que yace sobre la porción terminal del recto y conducto genital. Asimismo, es de notar que los tabiques antes mencionados no ocluyen completamente a la luz de la glándula, sino que por lo contrario, presentan forma arqueada, disponiéndose en forma alternada, determinando un espacio que la atraviesa en toda su longitud. Por otra parte este órgano está repleto de una sustancia pastosa de color rojizo a vino tinto, con gránulos que presentan aspecto de arenilla.

Bajo el microscopio electrónico de barrido se puede apreciar que los tabiques de la glándula anal son evaginaciones del tejido que recubre su interior (Figura 2). Estos tabiques están constituidos por dos láminas de tejido, las cuales por medio de trabéculas mantienen unidas sus caras internas a través de las cuales circula la sangre (Figura 3).

### Histología y ultraestructura

La glándula anal está embebida en una matriz de tejido conectivo, la cual envuelve una capa de fibras musculares lisas, dispuestas en forma circular, que a su vez rodea a otra capa delgada de tejido conectivo laxo en contacto con una de epitelio columnar simple que limita con la luz de la glándula. Estas células epiteliales presentan chapa estriada y núcleo en posición basal, con citoplasma apical medianamente acidófilo, mientras que por debajo del mismo existe una región basófila con granulaciones gruesas.

Bajo el microscopio electrónico se puede apreciar que la superficie del epitelio se halla recubierta por microvellosidades; mientras que el extremo basal de las células

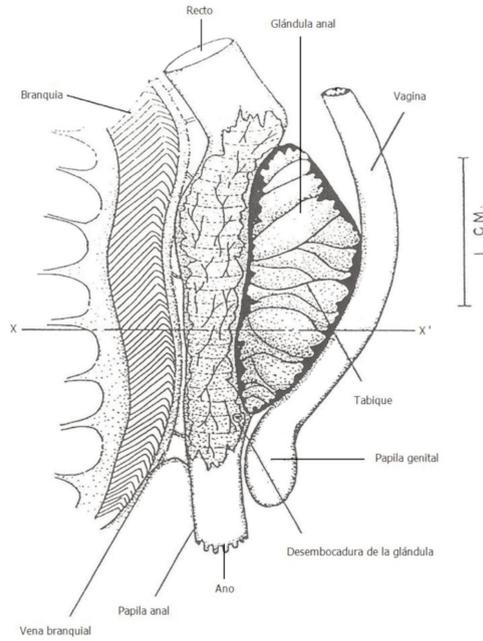


Figura 1. Detalle de la región terminal de los sistemas digestivo y genital de *Pomacea urceus* (hembra). Se muestra el interior tabicado de la glándula anal.



Figura 2. Sección longitudinal de la glándula anal de *Pomacea urceus*. Se puede apreciar los tabiques que se encuentran en el interior de la glándula. 20 X.



Figura 3. Detalle del tabique de la glándula anal de *Pomacea urceus* donde se muestran las trabéculas que dan soporte al mismo. 960 X.

está conformado por prolongaciones alargadas del citoplasma y tejido conectivo subyacente (Figura 4). A mayor aumento se observan vesículas pinocíticas en la superficie apical, así como numerosas mitocondrias alrededor de estas y material de secreción proveniente de células mucosas intraepiteliales (Figura 5).

En lo que concierne a la capa de tejido conectivo subyacente al epitelio glandular se observan: fibras musculares lisas, células gliointersticiales, axones, fibroцитos, figuras mielínicas y células ameboides (Figuras 6 y 7). Estos amebocitos también se observan en los espacios hemolinfáticos y parecen estar asociados a la formación de concreciones en la glándula anal (Figuras 8 y 9).

Cabe destacar que no se apreciaron diferencias entre animales en estado de estivación y aquellos en plena actividad, aunque se aclara que la muestra no fue representativa en términos estadísticos.

### Concreciones

A simple vista, las concreciones tienen aspecto de arenilla muy fina (coloración ocre a pardo oscuro) de dureza media. Su forma y tamaño es variable, aunque no son mayores a un milímetro, y presentan un patrón de crecimiento por deposición de capas sucesivas de material calcáreo sobre los gránulos mineralizados provenientes del tejido conectivo de la glándula (Figura 10).

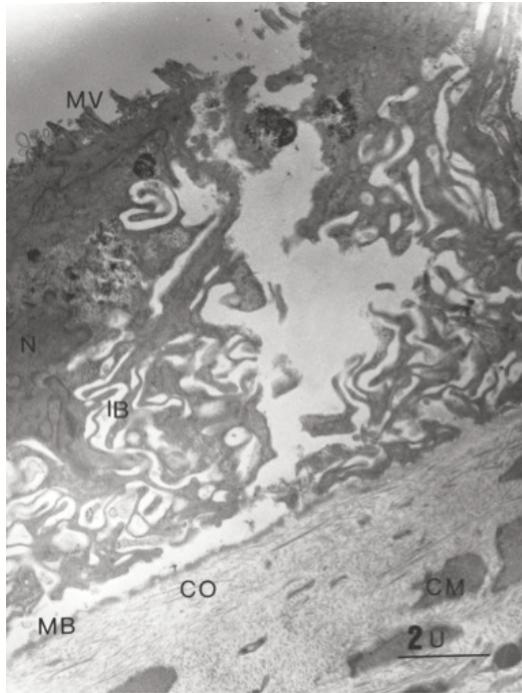


Figura 4. Sección de un tabique de la glándula anal de *Pomacea urceus*. **MV**: microvellosidades en la luz de la glándula; **IB**: invaginaciones basales del epitelio de absorción; **MB**: membrana basal; **CO**: matriz de tejido conectivo; **CM**: fibras musculares. 3900 X.

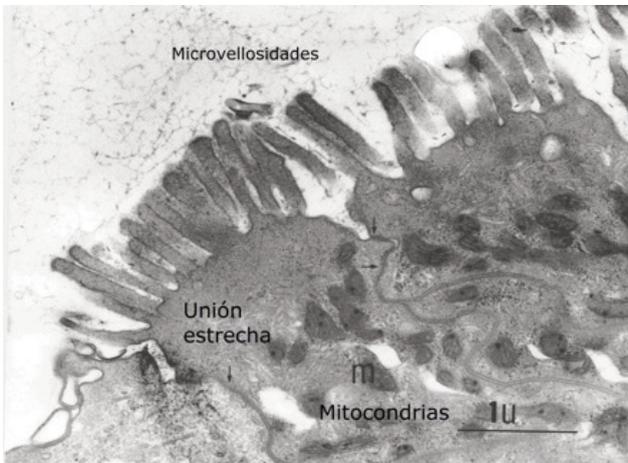


Figura 5. Detalle del epitelio de la glándula anal de *Pomacea urceus* donde se pueden apreciar microvellosidades, numerosas mitocondrias, uniones estrechas y vesículas pinocíticas. 18000 X.

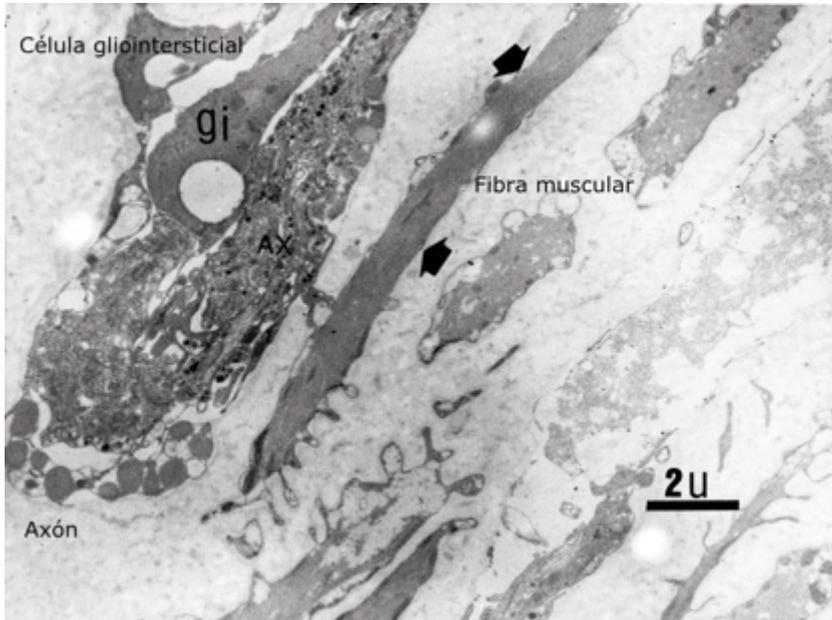


Figura 6. Detalle de la capa muscular de la glándula anal de *Pomacea urceus*. 6500 X.

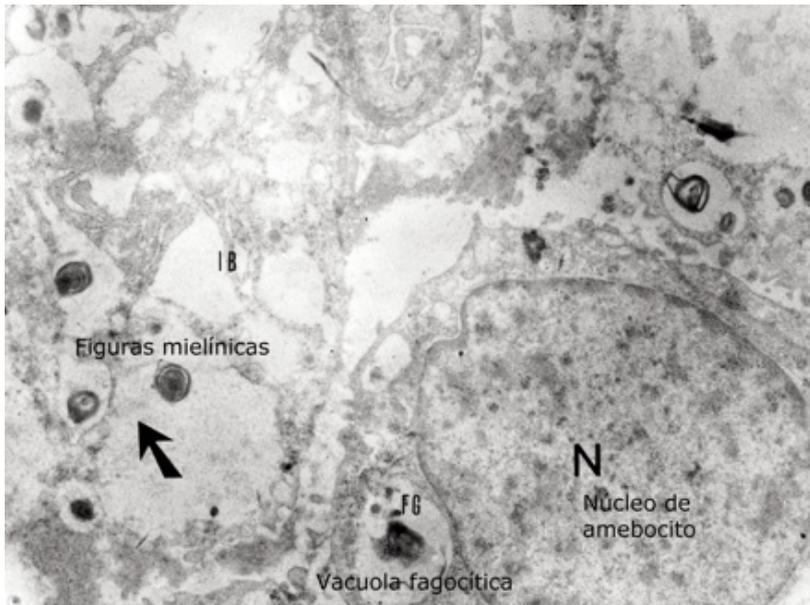


Figura 7. Detalle del extremo basal del epitelio de la glándula de *Pomacea urceus*. 6500 X.

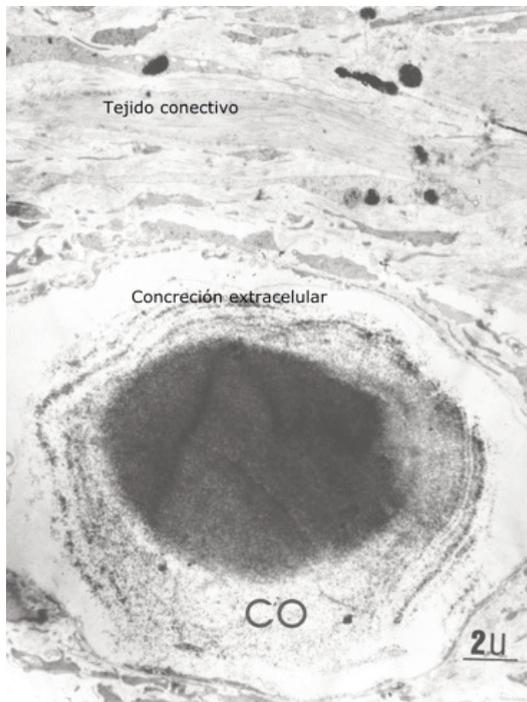


Figura 8. Concreción extracelular presente en el tejido conectivo basal de la glándula de *Pomacea urceus*. 4500 X.

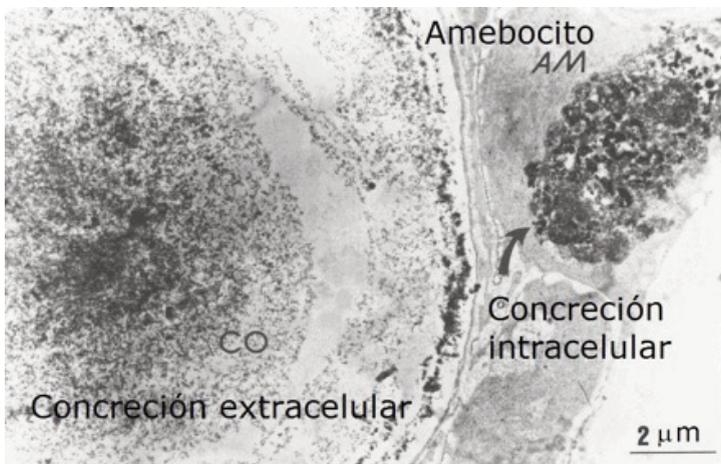


Figura 9. Detalle de una concreción rodeada por una célula amebocite, la cual a su vez contiene a una concreción con forma irregular en su interior, en *Pomacea urceus*. 9000 X.



Figura 10. Concreción proveniente de la luz de la glándula anal de *Pomacea urceus*. Se puede apreciar que la misma está conformada por capas de deposición sucesiva. 155 X.

La composición molecular de estos gránulos mineralizados fue principalmente de carbonatos y fosfatos (Tabla 1). Esto se vio corroborado por el análisis de fluorescencia de rayos X, encontrándose que el calcio es el elemento más abundante (95 %), seguido por el hierro, fósforo y magnesio (Tabla 2). Estas concreciones presentaron un patrón de difracción correspondiente a la calcita.

### **Contenido de la glándula**

El análisis cualitativo de la pasta encontrada en el interior de la glándula anal mostró que la misma tiene una composición acuosa con un pH ligeramente básico, calcio, fósforo, actividad enzimática de tipo peroxidasa, así como esteroides (Tabla 3). El extracto alcohólico de la pasta presentó su máxima absorción a 362,5 nm, el cual corresponde a la zona de absorción de los mononucleótidos y el fosfato de piridoxal, y un segundo pico a 486,5 nm correspondiente a porfirinas con actividad peroxidasa (Tabla 4).

Tabla 1. Resultados del análisis colorimétrico de las concreciones en la glándula anal de *Pomacea urceus*.

Compuesto	Intensidad
Carbonatos	++++
Fosfatos	+++
Amonio	Trazas
Oxalatos	Trazas
Prueba de incineración	Composición inorgánica

Tabla 2. Resultados del análisis de las concreciones en la glándula anal de *Pomacea urceus* por fluorescencia de rayos X.

Elemento	% Peso	% Atómico
Calcio	95,04	94,13
Fósforo	1,69	2,17
Hierro	1,76	1,25
Magnesio	1,50	2,44
<b>Total</b>	<b>99,99</b>	<b>99,99</b>

Tabla 3. Resultados del análisis cualitativo de la pasta contenida en la luz de la glándula anal de *Pomacea urceus*.

Compuesto	Intensidad
Calcio	++++
Peroxidasas	+++
Fósforo	++
Esteroles	++
Amonio	Trazas
Azúcares	Negativo
Carbonatos	Negativo
Purinas	Negativo
Prueba de incineración	Color verde, posiblemente cobre
Color de la pasta	Rojizo
Contenido de agua de la pasta	85 %
pH de la pasta	7,66

Tabla 4. Resultados del análisis del espectro de absorción del extracto alcohol-éter de la pasta contenida en la luz de la glándula anal de *Pomacea urceus*.

Compuesto	Longitud de onda, máxima absorción (nm)
Fosfato de piridoxal y mononucleótidos	362,5
Peroxidasas	486,5

## Discusión

En algunas familias de gastrópodos prosobranquios se ha señalado la existencia de una glándula anal que tiene la forma de un divertículo rectal simple y con actividad secretora, mientras que en otras especies se constituye en un órgano bastante desarrollado que realiza funciones excretoras y de reabsorción de distintos metabolitos (Fretter y Graham 1962, Hyman 1964 y Andrews 1992). En el caso de los ampuláridos se ha señalado la presencia de esta glándula sin mayores detalles (Andrews 1965a, Demian y Yousif 1973, Paoulayan y Remigio 1992), obviándose su presencia en algunas descripciones de especies de esta familia (Berthold 1988).

En *Pomacea urceus* la glándula anal es a menudo muy conspicua por su color pardo rojizo que puede variar de intensidad de un animal a otro. La luz de la glándula está tapizada por células epiteliales columnares de altura variable; presentan además microvellosidades y pliegues profundos (Lufty y Demian 1967). En lo que respecta a su función, Andrews (1965a, 1965b) así como Andrews y Taylor (1990) sugieren que interviene en la eliminación del exceso de sales de hierro, calcio y particularmente de purinas de la hemolinfa, siendo las purinas los principales productos de desecho del metabolismo del nitrógeno en los moluscos (Potts 1967).

Por ejemplo, en los gastrópodos de la familia Muricidae (Caenogastropoda: Neogastropoda) la glándula anal forma parte del sistema excretor y circulatorio, encontrándose acumulaciones de melanina y bacterias simbiotas en la luz de la glándula (Andrews 2010). Sin embargo, en el caso de *Pomacea urceus* aquí expuesto no se encontraron compuestos nitrogenados, sino más bien abundante contenido de calcio disuelto, concreciones calcáreas, peroxidasas, fosfatos y esteroides, siendo estos últimos relativamente abundantes en la hemolinfa de los ampuláridos (Heras y Pollero 2002). Tampoco se observaron bacterias simbiotas en la luz de glándula.

En lo que respecta a la ultraestructura de la glándula anal de *Pomacea urceus*, la microscopía electrónica de transmisión no revela similitud alguna entre el epitelio de la glándula anal y el del riñón como inicialmente se suponía, ya que a diferencia de este último en la glándula anal no se observan indicios de actividad excretora. En tal sentido, Andrews (1965a, 1965b) afirma que el desarrollo de la glándula anal en los ampuláridos puede estar relacionado con los hábitos dulceacuícolas, que en última instancia son determinantes para que la actividad osmorreguladora del riñón sea considerada más importante que la misma función secretora. Al respecto Little (1968) señala que durante la etapa de actividad de los ampuláridos, cuando su metabolismo excretor es amonotélico, en la pared dorsal del riñón tiene lugar la reabsorción de solutos orgánicos. Durante la estivación, sin embargo, estos animales se convierten en uricotélicos y el riñón se convierte en un sitio de síntesis y acumulación de ácido úrico.

En el caso de *Pomacea urceus*, la glándula anal parece ser un tejido especializado en la absorción de metabolitos y almacenamiento de calcio bajo la forma de concreciones, al mismo tiempo que cumple una función glandular apocrina, y no parece guardar semejanzas con otros órganos especializados en la excreción en ampuláridos tales como el corazón y el riñón (Pacheco y Scorza 1971, Andrews 1976 y Little 1985).

Subyacente a la membrana basal del epitelio de la glándula anal de *Pomacea urceus*, se observa una matriz de tejido conectivo laxo, que separa al epitelio de la capa de fibras musculares de tipo liso que rodea a la glándula. Estas fibras musculares poseen cuerpos electrón-densos de forma irregular y sin disposición preferencial similares a los encontrados en otros invertebrados (Lowy y Hanson 1962), los cuales son análogos a las bandas Z presentes en vertebrados. La función de este tejido muscular presumiblemente tiene que ver con la compresión de la glándula y expulsión de su contenido dentro del recto.

El otro tipo celular de interés en la glándula anal lo constituyen las células ameboides encontradas tanto en los espacios sanguíneos como en el tejido conectivo subyacente al epitelio glandular. Este grupo celular, también conocido como inmunocitos o hemocitos, es muy variado y guardan semejanzas tanto funcionales como morfológicas con los macrófagos de los vertebrados (Ottaviani 2011). Entre sus principales características están la presencia de lisosomas, pseudópodos filamentosos y peroxidasas (Sminia 1981); presentando con frecuencia gránulos de glucógeno, un desarrollo extensivo del retículo endoplasmático rugoso y ocasionalmente concreciones irregulares rodeadas de una membrana. Al respecto se ha señalado en *Pomacea urceus* la presencia de células vacuoladas y concreciones calcificadas en la ampolla de la cavidad pericardial (Jiménez-Tabata *et al.* 1985).

En lo concerniente a las concreciones en ampuláridos, sólo se han estudiado las presentes en el sistema excretor, sugiriéndose que participan en la eliminación del ácido úrico, particularmente durante la estivación (Saxena 1955, Meenakshi 1956, Pacheco 1971a, 1971b). En la literatura citada no se encontraron menciones acerca de la existencia de concreciones calcificadas en la glándula anal de los ampuláridos siendo este trabajo el primer reporte de dicho hallazgo.

Los gránulos de carbonato de calcio son comunes en los moluscos (Simkiss 1977), variando desde tipos amorfos a cristalinos de calcita como en el caso de las concreciones de la glándula anal de *Pomacea urceus*. En esta especie el proceso de la formación de las concreciones en la glándula anal parece iniciarse con la formación de gránulos proteicos envueltos por las membranas de las cisternas de Golgi; mecanismo que está ampliamente distribuido en diversos seres vivos (Abolins-Krogis 1970, Simkiss 1977).

De manera preliminar se presume que la función de la glándula conjuntamente con su contenido pastoso y las concreciones pudiera relacionarse con la regulación del pH sanguíneo durante la estivación, período durante el cual se presentan cambios metabólicos tales como la deshidratación y disminución de la frecuencia respiratoria entre otros (Meenakshi 1956, 1957, Coles 1968, 1969, Krishnamoorthy 1968, Little 1968, Burky *et al.* 1972, Asha Devi 1983a, 1983b, Thomas y Agard 1992). Finalmente es necesario mencionar que en este trabajo no se observaron diferencias entre ejemplares activos y en estado de estivación, así como de sexos diferentes. En tal sentido se sugiere a los interesados en continuar con esta línea de investigación, trabajar con ejemplares sometidos a diferentes condiciones fisiológicas controladas, así como con hembras en estivación con huevos dentro de la cavidad de la concha, para dilucidar si la glándula anal de la guarura participa en el mantenimiento de condiciones necesarias para la supervivencia de las crías.

**Bibliografía.**

- ABOLINS-KROGIS, A. 1970. Electron microscope studies of the intracellular origin and formation of calcifying granules and calcium spherites of the snail, *Helix pomatia* L. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie (Cell and Tissue Research)* 108: 501–515.
- ANDREWS, E. B. 1965a. The functional anatomy of the gut of the prosobranch *Pomacea canaliculata* and some other pilids. *Proceedings of the Zoological Society of London* 145: 19–36.
- ANDREWS, E. B. 1965b. The functional anatomy of the mantle cavity, kidney and blood systems of some pilid gastropods (Prosobranchia). *Journal of Zoology* 146: 70–94.
- ANDREWS, E. B. 1976. The ultrastructure of the heart and kidney of the pilid gastropod mollusc *Marisa cornuarietis*, with special reference to filtration throughout the Architaenioglossa. *Journal of Zoology* 179(1): 85–106.
- ANDREWS, E. B. 1992. The fine structure and function of the anal gland of the muricid *Nucella lapillus* (Neogastropoda) (and a comparison with that of the trochid *Gibbula cineraria*). *Journal of Molluscan Studies* 58(3): 297–313.
- ANDREWS, E. B. 2010. The fine structure of the excretory and venous systems of the neogastropods *Nucella lapillus* and *Buccinum undatum* and its functional and phylogenetic implications. *Journal of Molluscan Studies* 76(3): 211–233.
- ANDREWS, E. B. Y P. M. TAYLOR. 1990. Reabsorption of organic solutes in some marine and freshwater prosobranch gastropods. *Journal of Molluscan Studies* 56: 147–162.
- ASHA DEVI, S. 1983a. A comparative study of lactic dehydrogenase in heart and foot muscles of aestivating *Pila globosa*. *Comparative Physiology and Ecology* 8: 89–91.
- ASHA DEVI, S. 1983b. Effects of aestivation and rehabilitation on tissue catalase activity of *Pila globosa*. *Proceedings of the Indian National Science Academy. Part B* 49(6): 610–612.
- BERTHOLD, T. 1988. Anatomy of *Afropomus balanoideus* (Mollusca, Gastropoda, Ampullariidae) and its implications for phylogeny and ecology. *Zoomorphology* 108: 149–159.
- BURKY, A. J., J. PACHECO Y E. PEREYRA. 1972. Temperature, water and respiratory regimes of an amphibious snail *Pomacea urceus* (Müller), from the Venezuelan savannah. *Biological Bulletin* 143: 304–316.
- COHEN, A. 1974. Critical point drying. Pp. 44–112. *En: M. A. Hayat (Ed.), Principles and techniques of scanning electron microscopy*. Vol. 1. Cambridge University Press.
- COLES, G. C. 1968. The termination of aestivation in the large fresh-water snail *Pila ovata* (Ampullariidae). I. Changes in oxygen uptake. *Comparative Biochemistry and Physiology* 25(2): 517–522.
- COLES, G. C. 1969. The termination of aestivation in the large fresh-water snail *Pila ovata*. II. *In vitro* studies. *Comparative Biochemistry and Physiology* 29(1): 373–381.
- COWIE, R. H. 2002. *Apple snails as agricultural pests: their biology, impacts, and management*. Pp. 1–28. *En: G. M. Barker (Ed.), Molluscs as crop pests*. CABI, Wallingford, Connecticut.
- COWIE, R. H. Y S. C. THIENGO. 2003. The apple snails of the Americas (Mollusca: Gastropoda: Ampullariidae: *Asolene*, *Felipponea*, *Marisa*, *Pomacea*, *Pomella*): A nomenclatural and type catalog. *Malacologia* 45(1): 41–100.
- CULLITY, B. D. 1978. *Elements of X-ray diffraction*. 2<sup>nd</sup> Edition. Addison-Wesley Publishing Company, Inc. Reading, Mass. 555 pp.
- DEMIAN, E. S. Y F. YOUSIF. 1973. Embryonic development and organogenesis in the snail *Marisa cornuarietis*. *Malacologia* 12: 123–194.

- FRETTER, V. Y A. GRAHAM. 1962. British prosobranch molluscs. Ray Society. Publication No. 144. London. 755 pp.
- HERAS, H. Y R. J. POLLERO. 2002. Lipoproteins from plasma and perivitelline fluid of the apple snail *Pomacea canaliculata*. *Biocell* 26(1): 111–118.
- HODGKINSON, A. 1971. A combined qualitative and quantitative procedure for the chemical analysis of urinary calculi. *Journal of Clinical Pathology* 24(2): 147–151.
- HYMAN, L. H. 1967. The Invertebrates. Vol. VI. The Mollusca. Mc Graw-Hill, New York. 792pp.
- JENKINS, R., R. W. GOULD Y D. GEDCKE. 1995. Quantitative X-Ray Spectrometry. Marcel Dekker, Inc. New York. 484 pp.
- JIMÉNEZ-TABATA, A., H. J. FINOL Y R. MARTÍNEZ-ESCARBASSIERE. 1985. Ultrastructural changes in myocardial fibers of a mollusc, *Pomacea urceus* during aestivation. *Cell and Tissue Research* 242: 677–679.
- KAPLAN, L. A. Y A. J. PESCE. 1996. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation. 3<sup>rd</sup> ed. The C. V. Mosby Company St. Louis, Missouri. 1064 pp.
- KRISHNAMOORTHY, R. V. 1968. Hepatopancreatic unsaturated fatty acids during aestivation of the snail, *Pila globosa*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 24(1): 279–282.
- LAGARDE, G. 1973. Morfología de los sistemas digestivo, respiratorio y renal de *Pomacea urceus* Müller. Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas. 62 pp.
- LITTLE, C. 1968. Aestivation and ionic regulation in two species of *Pomacea* (Gastropoda, Prosobranchia). *Journal of Experimental Biology* 48: 569–585.
- LITTLE, C. 1985. Renal adaptations of prosobranchs to the freshwater environment. *American Malacological Bulletin* 3: 223–231.
- LOWY, J. Y J. HANSON. 1962. Ultrastructure of invertebrata smooth muscle. *Physiological Reviews* 42: 34–42.
- LUFT, J. 1961. Improvements in epoxy embedding methods. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 9: 409–414.
- LUFTY, R. G. Y E. S. DEMIAN. 1967. The histology of the alimentary system of *Marisa cornuarietis* (Mesogastropoda - Ampullaridae). *Malacologia* 5: 375–422.
- MARTÍNEZ, E. 1988. Contribución al conocimiento anatómico, histológico y ultraestructural de la glándula rectal de *Pomacea (P.) urceus* (Gastropoda, Ampullariidae). Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas. 73 pp.
- MARTÍNEZ-ESCARBASSIERE, R. 1975. Aspectos morfológicos (anatómicos e histológicos) de los sistemas digestivo, respiratorio, renal y reproductor de la *Pomacea (P.) urceus* Müller. (Gastropoda: Prosobranchia). Trabajo Especial de Ascenso Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas. 162pp.
- MC MANUS, J. 1960. Staining methods, histologic and histochemical. Hoeber, New York. 423 pp.
- MEENAKSHI, V. R. 1956. Physiology of hibernation of the apple-snail *Pila virens* (Lamarck). *Current Science* 25: 321–322.
- MEENAKSHI, V. R. 1957. Anaerobiosis in the south Indian apple-snail *Pila virens* (Lamarck). during aestivation. *Journal of the Zoological Society of India* 9: 62–71.
- MILLONIG, G. 1961. Advantages of a phosphate buffer for OsO<sub>4</sub> solutions in fixation. Proceedings of the Electron Microscope Society of America. *Journal of Applied Physics* 32(8): 1637.
- OTTAVIANI, E. 2011. Immunocyte: the invertebrate counterpart of the vertebrate macrophage. *Invertebrate Survival Journal* 8: 1–4.

- PACHECO, J. 1971a. Morfología submicroscópica del epitelio del riñón de *Pomacea urceus* (Mollusca - Gastropoda) en período de actividad. *Acta Biológica Venezolana* 7: 379–397.
- PACHECO, J. 1971b. Ultraestructura de las concreciones del epitelio renal de *Pomacea urceus* (Gastropoda - Prosobranchia). *Acta Biológica Venezolana* 7: 443–457.
- PACHECO, J. Y J. V. SCORZA. 1971. Ultraestructura del epitelio del riñón de *Pomacea urceus* (Mollusca - Gastropoda). *Acta Científica Venezolana* 22 (Suplemento 1): 58.
- PAOULAYAN, R. C. Y E. A. REMIGIO. 1992. Notes on the family Ampullariidae (Gastropoda: Prosobranchia) in the Philippines: I. Digestive, circulatory, and excretory systems. *Biotropia* 6 (1992/1993): 1–32.
- POTTS, W. T. W. 1967. Excretion in the mollusks. *Biological Reviews* 42: 1–41.
- REYNOLDS, E. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 17: 208–212.
- SAXENA, B. B. 1955. Physiology of excretion in the common Indian apple snail *Pila globosa* (Swainson). *Journal of Animal Morphology and Physiology* 2: 87–95.
- SIMKISS, K. 1977. Biomineralization and detoxification. *Calcified Tissue International* 24: 99–100.
- SMINIA, T. 1981. Gastropods. Pp. 191–232. *En*: N. A. Ratcliffe y A. F. Rowley (Eds.), *Invertebrate Blood Cells*. Academic Press, London.
- THOMAS, M. A. Y J. B. R. AGARD. 1992. Metabolic rate depression in the ampullariid snail *Pomacea urceus* (Müller) during aestivation and anaerobiosis. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part A. 102(4): 675–678.
- WATSON, M. 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 4(4): 475–478.

Recibido: 24 agosto 2015

Aceptado: 6 abril 2016

Publicación en línea: 7 septiembre 2016

---

Enrique Martínez Moreno<sup>1</sup> y Rafael Martínez-Escarbassiere<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Consultor Ambiental. eomartinez@gmail.com

<sup>2</sup> Profesor jubilado, Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Universidad Central de Venezuela. Apartado Postal 47058, Los Chaguaramos, Caracas 1014-A, Venezuela

