

**CONTRIBUCIÓ AL CONEIXEMENT DE LA
MORFOLOGIA I L'ANATOMIA INTERNA
DELS PULMONATS BASOMATÒFORS**

Comunicació presentada el dia 16 de maig de 1968 per

JOSEFINA ESPAÑOL i CABEZA

Professora-ajudant del Departament de Zoologia de la Facultat
de Ciències de Barcelona

INTRODUCCIÓ

Per tal de resoldre amb garanties d'encert els múltiples problemes que ens planteja la interpretació morfològica i la sistemàtica natural dels pulmonats basomatòfors, és adient la utilització de nous mètodes basats en l'anatomia comparada, tot ajudant-nos de la investigació histològica. la qual investigació aporta interessants dades d'interpretació.

Hom pot definir els basomatòfors com a gasteròpodes pulmonats, amb un sol parell de tentacles contràctils però no pas invaginables, a la base dels quals trobem els ulls. El seu aparell reproductor és hermafrodita, amb els orificis genitals masculí i femení més o menys separats.

Com a punt de partida hem triat l'espècie *Physa acuta* Drap., per la seva relativa abundància, polimorfisme, mida petita que facilita les tècniques histològiques i, a més, pel fet d'ésser la família dels físids la menys estudiada en relació amb la dels limmneids i ancílids.

Ph. acuta Drap. es caracteritza per tenir un tros de la vora del mantell capgirat damunt la closca i formant dos lòbuls digitiformes. Closca sinistral, ovalada allargada, amb una estriació longitudinal fina; consistència feble; espira subaguda, amb 5-6 voltes convexes, la darrera de les quals és igual als dos terços de l'altura total; sutures poc marcades; obertura ovalada, gairebé vertical, amb una callositat interna poc palesa. Altura 9-17 mm, dià. 7-10 mm.

Viuen a les rieres, cadolles de riuets i en tota mena de masses d'aigua estancada o de poc corrent. S'enganxen a les fulles seques, algues i pedres, i hi llisquen ajudades pel mucus que segreguen, la qual cosa facilita llur desplaçament; fins i tot s'amaguen al llot de les zones poc profundes. De tant en tant pugen a la superfície per renovar llur provisió d'aire; neden bastant de pressa i tombades al revés. Quant a llur règim alimentari, són herbívores, molt voraces i rarament carnívores.

MATERIAL I MÈTODES

El material objecte d'estudi ha estat recollit a diverses localitats catalanes, bé que el lloc més important de forniment ha estat el riu Congost, al Vallès Oriental. Bastant abundant entre juny i octubre.

Hem mantingut viu el material al laboratori utilitzant cubetes de plàstic de 20 cm d'altura, amb aigua ($1/2$ d'aigua destil·lada i $1/2$ d'aigua de l'aixeta), i algues. La temperatura ambiental ha oscil·lat sempre al voltant dels 20°C. Les reaccions han estat normals durant mesos.

El que primer cal fer en la preparació d'aquests animals, tenint en compte llur ulterior estudi anatomohistològic, és d'aconseguir que morin en completa extensió. Per això han estat provats diferents mètodes i han resultat els més aconsellables el mètode clàssic d'ofegar-los dins l'aigua (que és el que produeix menys alteracions als teixits), i el de la narcotització, seguint en part la tècnica de JOOSE i LEVER, que consisteix a introduir l'animal en una solució de 0,08 % de nembutal en aigua corrent, durant uns 20 minuts, i a una temperatura de 25 a 27°C; tot seguit es posa en una solució de 0,08 % de nembutal més 0,3 % de MS 222 (Sandoz, Basilea), durant 10 minuts, a la mateixa temperatura. No hem pogut obtenir fins ara el MS 222, i és per això que la nostra narcotització es redueix a una permanència d'uns 30 minuts dins la solució de 0,08 % de nembutal. Els resultats, però, han estat també favorables, ja que el nembutal actua lentament i permet, doncs, que l'animal pugui estendre's bé.

Com a líquids fixadors hem fet servir els següents:

- a) *Bouin*. Mantinguts els exemplars dins el líquid durant uns 3 dies.
Bon fixador de conjunt.
- b) *Duboscq-Brasil*. Resultats semblants als obtinguts amb Bouin, però més ràpids. Durada de la fixació: 1 dia.
- c) *Carnoy*. Fixador molt penetrant, usat per a l'estudi de les sals de calci. Durada del procés: de 2 a 4 hores segons el gruix de la peça.
- d) *Formol neutre*. En concentració del 30 % al 50 % per a les impregnacions metàl·liques.
- e) *Helly*. Bons resultats. Durada del procés: de 6 a 8 hores.
- f) *Zenker*. Fixació durant 24 hores. L'inconvenient d'aquest fixador, com l'anterior, és que exigeix un llarg rentat en aigua per a eliminar el dicromat potàssic, seguit d'un tractament d'alcohol iodat per a la supressió del sublimat corrosiu; malgrat aquests inconvenients, ha estat molt usat, ja que permet bones coloracions.

- g) *Susa de Heindenhein*. Fixació: 24 hores.
- h) *Halmi*. Es prepara barrejant 9 volums de *Susa de Heindenhein* amb 1 volum de solució aquosa saturada d'àcid pícric. Durada del procés: 24 hores. Recomanable per a l'estudi del material de neurosecreció.

La descalcificació ha de realitzar-se sempre després de la fixació. Si el fixador conté algun agent descalcificant cal augmentar lleugerament la concentració de l'agent descalcificant; en cas contrari, després d'un bon rentat de la peça per tal d'evitar precipitats, cal utilitzar l'àcid tricloroacètic en concentració del 2-3 %, i hom prefereix d'augmentar el temps de permanència dins el líquid que no pas d'augmentar la concentració de l'àcid, perquè això darrer produiria una retracció dels teixits. També hem practicat l'extracció mecànica de la closca.

Els exemplars han estat inclosos en parafina de 52 graus. El gruix dels talls ha oscil·lat entre 6, 8 i 10 micres.

Com a mètodes de tinció hom ha realitzat els següents:

- a) *Blau de toluidina-eritrosina*. Proporciona bons contrastos.
- b) *Safranina-verd llum*. Emprat per a la tinció de les glàndules mucoses del peu.
- c) *Tricròmic de Masson*. Interessant per a la tinció dels elements del teixit conjuntiu.
- d) *Mallory*. Bons resultats. Recomanable per la seva rapidesa.
- e) *Azan*. Modificació de Heidenhein al mètode de Mallory, amb el qual hom aconsegueix més estabilitat i selectivitat. És, però, més lent.
- f) *Hemalum-Pic* (Gabe, 1946). Primerament, coloració nucleal amb Hemalum de Masson, seguida d'una tinció del citoplasma mitjançant la mescla de Ramón y Cajal (solució saturada d'àcid pícric —100 cc— amb 0'40 g de carmí d'indi). Bona coloració de rutina.
- g) Els mètodes d'argent també han estat usats, principalment els de Ramón y Cajal i el d'Agduhr.

Per tal d'extreure la mandíbula i la ràdula hem llevat el bulb bucal, el qual ha estat introduït durant 4-5 minuts en una solució diluïda de KOH. Hem fet el muntatge amb líquid de Höyer, lactofenol i bàlsam del Canadà.

RESULTATS

L'aparell digestiu de *Physa acuta* Drap. comprèn el tub digestiu i les glàndules digestives (salivals i digestiva). En el tub digestiu hom pot

diferenciar les parts següents: a) faringe o bulb bucal, el qual comunica amb l'exterior a través de l'orifici bucal; b) esòfag; c) estómac; d) intestí.

A continuació descrivim els caràcters anatòmics i algunes particularitats histològiques del bulb bucal.

El bulb bucal se situa a la part anterior del tub digestiu i comunica amb l'exterior per l'orifici bucal en forma de fissura longitudinal que s'obre a la cara ventral davant el peu i se'n separa per un plec prepedial. A la part dorsal anterior de l'orifici bucal hi ha la mandíbula, làmina única i còrnia formada per l'engruiximent de la cutícula de l'epiteli; presenta una fina estriació, i ofereix a la seva vora posterior la prolongació fibrosa típica del gènere; amb això resulta una mandíbula vagament elasmognata.

La forma del bulb bucal és relativament cilíndrica. És constituït pels cartílags radulars, sac radular i músculs bucofaringis, tot això envoltat per una membrana de teixit conjuntiu (Microfot. 1).

Els cartílags radulars formen la més important estructura de suport de la massa bucal. A *Physa acuta* Drap. el cartílag radular ve format per dues peces laterals separades, les quals presenten a la part dorsal mitjana una prolongació que encaixa amb la de l'altre costat. Un múscul transversal les manté fortament unides. Les cèl·lules del cartílag radular són grosses, polièdriques, vacuolitzades i amb el nucli en posició central. Hom ha dit que recorda un parènquima vegetal (Microfot. 2).

El sac radular és el lloc on s'origina la ràdula. Apareix en un profund cec posterior format per l'evaginació de l'epiteli de la cavitat bucal, darrera el cartílag radular. A *Physa acuta* Drap., a la part oral, el sac radular esdevé molt desenvolupat i recorda vagament, per la seva forma, una V molt oberta; a la part mitjana, les vores lliures es dirigeixen cap amunt i la ràdula queda entre les seves parets laterals i ventral; finalment, a la part distal el sac es torça cap amunt a mida que va perdent gruix.

Els odontoblasts ocupen la posició terminal del sac radular. Són cèl·lules estretes, atapeïdes les unes amb les altres, amb els nuclis allargats en el sentit de l'altura.

La ràdula consta de dents disposades en fileres arquejades. La dent central és multicúspide; les laterals i marginals són semblants entre elles, serriformes, proveïdes d'un apèndix esmolat a la base i més ample i arrodonit a l'àpex, col·locat a la vora interior interna de la dent.

Les glàndules salivals, parelles i simètriques, piriformes, es prolonguen cap endavant per dos canals que penetren al bulb bucal pels dos costats de l'esòfag i desemboquen a la part mitjana del bulb. Les cèl·lules glandulars estan envoltades per una trama de teixit conjuntiu molt prim. Hom distingeix diversos tipus de cèl·lules (Microfot. 3). Un detallat estudi histoquímic en aquest respecte és el de GABE i PRENANT (1948).

Els ganglis del sistema nerviós central se situen al final del bulb bucal; després apareix l'esòfag, el qual passa a través del collar que forma la concentració d'aquests ganglis. Els ganglis del sistema nerviós central són: un parell bucal, un parell cerebral, un parell pleural, un parell parietal, un parell pedi i un parell visceral.

Les neurones dels ganglis són de tipus fonamentalment bipolar i presenten els somes vers la perifèria (Microfot. 4). És palès el gran desenvolupament dels ganglis pedis i pleurals, els quals permeten un estudi detallat de la textura de la massa nerviosa.

* * *

A continuació d'aquest treball sobre l'anatomia visceral de *Physa acuta* Drap. volem intentar de fer un estudi comparat de la regió gàstrica i glàndula digestiva, per tal de veure les característiques diferencials amb els estilomatòfors, per una banda, i les peculiaritats dels basomatòfors, per l'altra. Completariem amb això els treballs de DAVID i GOTZE (1963), que descriuen en els pulmonats, a la glàndula mediointestinal, dos tipus de cèl·lules en els estilomatòfors (*Helix*): les proteïnògenes i les calcígenes; hi afegixen en els basomatòfors un tercer tipus de cèl·lules mucígenes a (*Lymnaea*). Tot això requereix una comprovació en els físids.

BIBLIOGRAFIA

- BOOER, H. H. — *A cytological and cytochemical study of neurosecretory cells in «Basommatophora», with particular reference to «Lymnaea stagnalis, L.»*. «Arch. Néerl. Zool.», 16, 3, 313-386. 1965.
- DAVID, H. i GOTZE, J. — *Elektronen mikroskopische Befunde an der Mitteldarmdrüse von Schnecken*. «Zeit. Mik. Anat. Forsch.», 70, 252-272. 1963.
- DEMIAN, E. S. — *Comparative morphological studies on the buccal mass of the «Lymnaeaceae»*. «Göteborgs K. Vet. Vitterh. Samh. Handl.», 9, B, 1-30. 1962.
- GABE, M. i PRENANT, M. — *Contribution à la cytologie de la glande salivaire de «Lymnaea stagnalis»*. «La Cellule», 52, 17-35. 1948.
- *Recherches sur la gaine radulaire des Mollusques. II. Données histologiques sur l'appareil radulaire des Hétéropodes*. «Bull. Soc. zool. France», 75, 176-184. 1950.
- JOOSE, J. i LEVER, J. — *Techniques of narcotization and operation for experiments with «Limnaea stagnalis, L.»*. «Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch.», Amsterdam, 62, C, 145-149. 1959.
- WAUTIER, J., HERNÁNDEZ, M. L. i RICHARDOT, M. — *Anatomie, histologie et cycle vital de «Gundlachia wautieri (Mirolli)»*. («Moll. Basommatophore»). «Ann. Scien. Nat. Zool.», París, 8, 12, 495-566. 1966.

DISCUSSIÓ

Dr. VALLMITJANA

En relació amb la documentació gràfica presentada suggereix que les granulacions tant poden ésser de calci com de colesterol, perquè tots dos són anisòtrops.

Srta. ESPAÑOL

Manifesta que tot just ha començat aquests estudis i que, per tant, no pot encara pronunciar-se.

Dr. GADEA

Aclareix que les inclusions que hi ha dins les cèl·lules de la glàndula digestiva d'*Helix* i d'altres estilomatòfors són de dues menes: les unes són birefringents (colesterol?), i les altres, no (calcàries). Aquestes inclusions calcàries, esfèriques, podrien ésser acumulaments d'excretes.

Recorda que la glàndula digestiva, tot i que hom l'anomena «hepatopàncreas», ni és un veritable fetge, ni un veritable pàncreas, sinó una glàndula secretora amb possibles funcions excretores (acumulació). Especialment en els basomatòfors, això no és massa escatit.

Dr. PARÉS

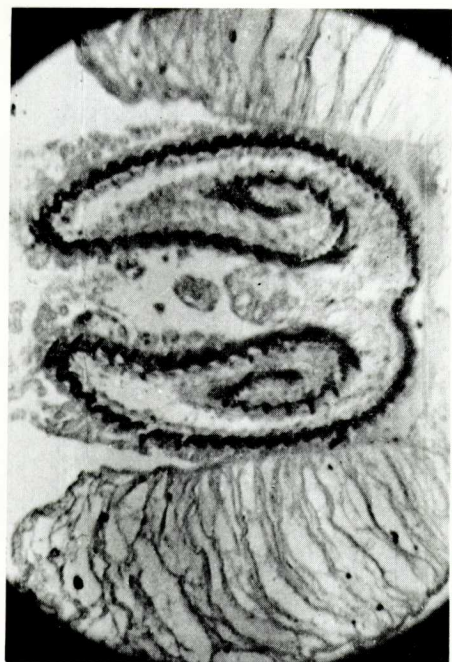
Suggereix la possibilitat que aquestes inclusions estiguin en funció del lloc de recollecció dels molluscs.

Srta. ESPAÑOL

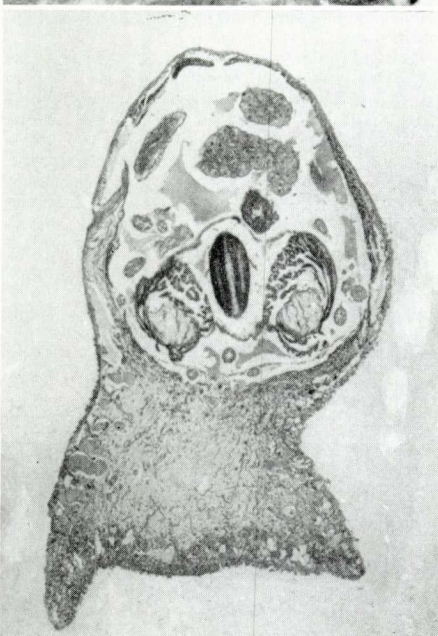
Diu que els treballs consultats són fets sobre *Helix*, gènere no existent a casa nostra. Ha calgut treballar amb *Cryptomphalus aspersus*, el «cargol bover». Després ha estat emprat *Physa*, i no han sortit les inclusions. Més endavant, quan hi haurà més espècies i més localitats estudiades, hom podrà pronunciar-se amb seguretat.



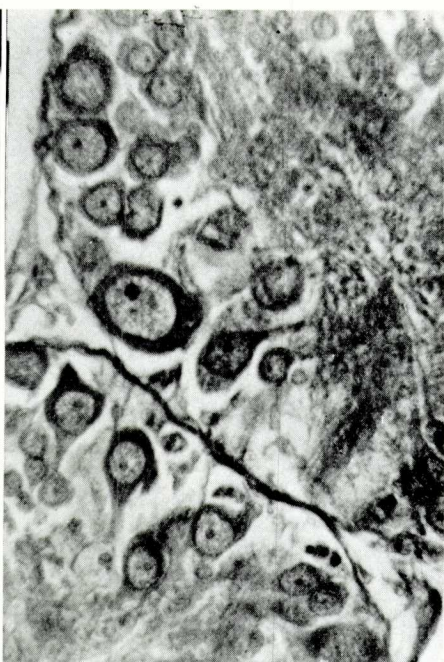
1



2



3



4

1. Tall a nivell dels ulls; visió general del bulb bucal (Métode de Mallory); 60 $\times$. — 2. Tall transversal del bulb bucal, en el qual és mostrada la ràdula en forma de V i els cartilags radulars als costats (Métode de Mallory); 200 $\times$. — 3. Tall transversal a nivell de l'esòfag; a la part dreta hom pot veure una part de la glàndula salival (Métode de Mallory); 60 $\times$. — 4. Detall de la zona de contacte de dos ganglis; s'hi pot veure la distribució perifèrica dels somes de les neurones (Métode d'Azan); 400 $\times$.