

Estudio descriptivo de la hemolinfa de *Anadara (Anadara) tuberculosa* Sowerby, 1833. (Mollusca: Pelecipoda: Arcidae). I Componentes y características generales del plasma *

HECTOR FERNANDEZ ARIAS **, TERESA MIRANDA AVILA
Y ESTHER URIA GALICIA **

Departamento de Morfología
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN
Prol. de Carpio y Plan de Ayala
Apartado Postal 42-186
11340 México, D. F.

FERNÁNDEZ ARIAS, H., T. MIRANDA AVILA y E. URIA GALICIA, 1988. Estudio descriptivo de la hemolinfa de *Anadara (Anadara) tuberculosa* Sowerby, 1833. (Mollusca: Pelecipoda: Arcidae). I Componentes y características generales del plasma. *An. Esc. nac. Cienc. biol. Méx.*, 32: 63-73.

RESUMEN: Los resultados preliminares de 548 determinaciones químicas en el plasma de *A. tuberculosa*, muestran que contiene algunos componentes similares al plasma de otros moluscos, como albúmina, glucosa, colesterol, creatinina, fosfatasa ácida y alcalina; amilasa, deshidrogenasa láctica, creatinina fosfoquinasa y transaminasa glutámico oxalacética.

Se determinaron valores de proteínas totales, de Na, K, Cl y Ca; pH, pCO₂, pO₂, sO₂ exceso base (E. B.), HCO₃⁻ y tCO₂. Se intentó la separación electroforética de componentes del plasma. Se proporcionan los valores de referencia de los componentes y variables investigados.

INTRODUCCIÓN

La hemolinfa es un líquido que tiene funciones respiratorias, de defensa y nutrición, además de proporcionar rigidez temporal a ciertas partes del cuerpo, como es el caso del pie de los moluscos. No se coagula *in vitro* y por lo tanto los elementos celulares o hemocitos están suspendidos en lo que se denomina plasma (Flores, 1971; Malek y Cheng, 1974).

* Trabajo perteneciente al proyecto "Estudio sobre diversos aspectos de la morfología microscópica de *Anadara (Anadara) tuberculosa*. Sowerby 1833" patrocinado por la Dirección de Graduados, IPN.

** Becario de la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas (COFAA) del IPN.

Por los trabajos que existen respecto al plasma en los moluscos, se sabe que contiene aminoácidos libres (Cheng, 1963; Gilbertson y col., 1967), pigmentos respiratorios como la hemocianina (Woods y col., 1958) o la hemoglobina (Cheng, 1975; Manwell, 1958; Read, 1962). Hay azúcares que aparecen principalmente bajo la forma de glucosa (Holtz y Brand, 1940; Cheng y Lee, 1971). Se cita también la presencia de enzimas diversas, como aminopeptidasa (Yoshino y Cheng, 1977; Cheng y col., 1978), lisosima (Rodrick y Cheng, 1974b; Cheng y col., 1975); aspartato-amino-transferasa (Manhoer y Swami, 1972), fosfatasa alcalina (Michelson y Dubois, 1973; Rodrick y Cheng, 1974a); fosfatasa ácida, B-Glucuronidasa, amilasa, lipasa, GPT y GOT (Rodrick y Cheng, 1974a; Cheng y Yoshino, 1976a-b; Cheng 1976).

También se hace referencia a sustancias asociadas a mecanismos de defensa inespecífica, tal es el caso de aglutininas y opsoninas (Anderson y Good, 1976; Stein y Busch, 1969; Stanislawski y col., 1976; Schmid, 1975; Pauley, Granger y Krassner 1971; Ghidalia y col., 1975; Pauley, Krassner y Chapman 1971; Marchalonis y Edelman, 1968).

Respecto a otras propiedades y valores, se informa sobre presiones de oxígeno, CO₂ y valores de pH; aunque las referencias son mínimas (Lee y Cheng, 1972; Holtz, *op cit.*).

La mayoría de los trabajos respecto a los componentes del plasma de moluscos y de otros invertebrados, obedecen a la necesidad de explicar su presencia o fluctuación ante la agresión de agentes extraños o variaciones ambientales (Maramorosch y Shope, 1975). Sin embargo, en realidad no hay estudios que planteen claramente los valores que deben tomarse como referencia en cada uno de los ejemplares estudiados.

En el caso específico de *A. tuberculosa* no existe ningún dato al respecto, por lo que el presente trabajo pretende identificar algunos componentes y propiedades del plasma y, finalmente, establecer valores de referencia que sirvan de base a futuros estudios.

MATERIAL Y MÉTODOS

Previo identificación por los autores, se trabajaron 347 ejemplares que provenían de Mazatlán, Sin., Salina Cruz, Oax., y Yucatán. Los animales se adquirieron en diferentes meses a lo largo de un año, por lo que variaron en peso (30-90 g) y tamaño (de 6.0 - 7.5 cm × 4.5 - 5.0 cm).

De cada animal se obtuvo de 0.5 a 1.0 ml de hemolinfa mediante punción cardíaca. Las muestras se centrifugaron a 1 500 - 2 000 r.p.m. durante 10 minutos, y con el sobrenadante (plasma) se hicieron las siguientes pruebas:

Proteínas totales (método de Fenol de Folin Ciocalteau modificado por Sigma, 1977), determinación electroforética de proteínas (técnica de los Lab. Helena, modificada por el ISSSTE, 1978), albúmina (técnica de Verde Bromocresol, modificada por el ISSSTE, 1978), colesterol (técnica de Pearson, Stern y Mc. Gavack, modificada por el ISSSTE, 1978), glucosa (método GOD glu-

cosa-oxidasa, modificada por Lakeside, 1977 y técnica de la O-Toluidina, modificada por el ISSSTE, 1977), urea (técnica de Berthelot, modificada por SSA, 1978), creatinina sin desproteinización (técnica modificada por el ISSSTE, 1977), ácido úrico (técnica modificada por la SSA, 1978) y bilirrubina total (técnica modificada por Merck, 1978).

Se realizaron técnicas para determinar las siguientes enzimas: creatina fosfoquinasa (C.K., prueba uv según Merck, 1978), deshidrogenasa láctica (L. D. H., prueba uv según Merck, 1978); transaminasa glutámico-oxalacética (T. G. O., prueba uv según Merck, 1978); fosfatasas ácida y alcalina (técnica modificada por Merck, 1978) y amilasa (técnica de Smith y Roe, modificada por Dade, 1978).

Finalmente, se hicieron determinaciones de sodio y potasio por flamometría; cloro (técnica de Schales y Schales); calcio (técnica colorimétrica Ca-Color de Weiner, 1977) y con el analizador de gases sanguíneos 717 IL, se determinaron el exceso base (E. B.), pH, pCO₂, pO₂, sO₂, HCO₃⁻ y CO₂ total (tCO₂).

Como control para las diferentes pruebas se usó plasma humano.

RESULTADOS

La cantidad de plasma obtenida de cada ejemplar fue muy variable y no suficiente como para realizar, en uno solo, todas las determinaciones. Los resultados de las diferentes muestras se resumen a continuación.

CUADRO 1. Proteínas totales y albúmina (g %)

Prueba	No. de muestras	Valor mínimo	Valor máximo	\bar{X}	D. S.
Proteínas totales	26	0.6	3.6	1.3	± 0.5
Albúmina	17	0.2	0.6	0.26	± 0.1

DETERMINACION ELECTROFORETICA DE PROTEINAS

Las muestras testigo de plasma humano se separaron en varias bandas; las muestras correspondientes al plasma de *A. tuberculosa*, mostraron solamente una o dos bandas.

Al graficar las membranas en el densitómetro, encontramos que las bandas de *A. tuberculosa* corresponden a las fracciones de albúmina y globulina del plasma humano; pero sus valores, sobre todo el de las globulinas, son comparativamente más bajos (Cuadro 2). No se determinó a qué fracción de las globulinas corresponden los picos del plasma de *A. tuberculosa*.

CUADRO 2. Valores de albúmina y globulina

Muestra	Fracciones %		Fracciones g %	
	Albúminas	Globulinas	Albúminas	Globulinas
1	73.84	26.15	0.81	0.28
2	74.31	25.68	0.59	0.20
3	64.00	36.00	0.70	0.39
4	79.84	20.51	0.63	0.16
5	93.39	6.60	0.84	0.05
6	95.50	4.49	0.66	0.03
Valor mínimo	64.00	4.49	0.59	0.03
Valor máximo	95.50	36.00	0.84	0.39
\bar{X}	80.14	19.90	0.70	0.18
D. S.	± 12.2	± 12.2	± 0.07	± 0.12
Valor de referencia humano	—	—	3.3 a 5.0	0.2 a 1.3

CUADRO 3. Valores de colesterol (mg %)

Prueba	No. de muestras	Valor mínimo	Valor máximo	\bar{X}	D. S.
Colesterol	10	98.0	37.0	17.0	± 28.4

CUADRO 4. Valores de glucosa (mg %)

Prueba	No. de muestras	Valor mínimo	Valor máximo	\bar{X}	D. S.
Glucosa. Método G. O. D.	44	2.0	21.8	7.7	± 4.3
Glucosa. Método de la o-toluidina	30	5.0	22.0	10.8	± 6.1

CUADRO 5. Valores de urea, creatinina, ácido úrico, bilirrubina total (mg %)

Prueba	No. de muestras	Valor mínimo	Valor máximo	\bar{X}
Urea	16	0.0	0.0	0.0
Creatinina *	16	0.2	0.6	0.3
Ácido úrico	16	0.0	0.0	0.0
Bilirrubina total	16	0.0	0.0	0.0

* De las 16 determinaciones efectuadas, solamente 9 dieron valores positivos.

CUADRO 6. Valores enzimáticos (U/I)

Enzima	No. de muestras	Valor mínimo	Valor máximo	\bar{X}	D. S.
L. D. H.	17	9.0	18.0	14.2	± 2.0
Amilasa	14	500	970	685	± 126.4
T. G. O.	17	10.0	206.0	89.3	± 37.6
Fosfatasa alcalina	15	18.0	164.0	78.0	± 42.5
Fosfatasa ácida	27	1.1	2.3	1.6	± 0.3
C. K.	14	0.0	0.0	0.0	

CUADRO 7. Valores de pH, gases y exceso base

Prueba	No. de muestras	Valor mínimo	Valor máximo	\bar{X}	D. S.
pH	20	6.450	7.602	6.974	± 0.3
pCO ₂ mm Hg.	20	8.0	71.0	32.3	± 23.1
pO ₂ mm Hg.	20	48.0	101.0	73.0	± 18.1
sO ₂ %	20	40.0	97.9	63.2	± 26.6
EB mEq/L	20	(-) 10	(-) 20	(-) 19	± 3.2
HCO ₃ mEq/L	20	4.0	13.0	9.0	± 2.5
tCO ₂ mEq/L	20	8.0	15.0	10.0	± 1.8
Sodio mEq/L	33	450	678	552	± 47
Potásio mEq/L	33	9.0	18.4	11.7	± 2.5
Cálcio mEq/L	18	208	402	302	± 50.5
Cloro mEq/L	23	602	748	662	± 40

DISCUSIÓN

PROTEÍNAS. La mayoría de los trabajos citados por la bibliografía se orienta hacia los cambios cuantitativos de las proteínas o ciertos aminoácidos en infestaciones o infecciones. (Cheng y Lee 1971; Cheng y Rodrick, 1975; Dusanč y Lewert, 1963; Holtz y Brand, 1940; Meincke, 1975; Schmid, 1975; Stein y Busch 1979). Se encuentra generalmente que su contenido decrece y se sugiere que los parásitos los utilizan en su metabolismo.

Comparando las concentraciones determinadas en *A. tuberculosa* con datos referentes a *Biomphalaria glabrata* (Grees y Cheng, 1973) y *Australorbis glabratus* (Gilbertson y col. *op. cit.*) (Cuadro 8). Encontramos que se encuentran dentro de los límites de normalidad y que pueden tomarse como referencia.

CUADRO 8. Comparación de los valores de proteínas totales en tres moluscos diferentes

Ejemplar	Proteínas totales g %			
	No infectado		Infectado	
	Valor mínimo	Valor máximo	Valor mínimo	Valor máximo
<i>A. tuberculosa</i>	0.60	3.1	—	—
<i>B. glabrata</i>	1.47	3.8	0.96	—
<i>A. glabratus</i>	0.61	3.4	0.10	2.3

En cuanto a la separación electroforética de los componentes del plasma, los resultados muestran que las globinas están ausentes o en cantidades muy bajas, lo cual ocurre cuando hay infestación; en cuyo caso ésta y otras fracciones del plasma disminuyen. Aunque no puede descontarse el hecho de que lo encontrado sea normal en *A. tuberculosa*, deben tomarse en cuenta reportes que indican la presencia —en diversos invertebrados— de hemaglutininas con movilidad semejante a las globinas alfa y beta; o bien, en otros casos, las sustancias aglutinantes son diferentes de las conocidas en sus características fisicoquímicas (Pauley, Granger y Krassner, Marchalonis y Edelman, *op. cit.*).

La fracción de movilidad semejante a la albúmina, cuya concentración media fue de 0.20 mg/%, no ha sido descrita en otros moluscos. En comparación con el humano, su concentración resulta muy baja; pero es coherente con los valores de cero de las bilirrubinas, que se sabe transporta normalmente esta fracción.

Por todo lo antes expuesto, los resultados se deben tomar con reservas y no olvidar la influencia que la técnica utilizada puede tener a este respecto. Sería conveniente, por lo tanto, revisar nuevamente el soporte usado.

GLUCOSA. La glucosa es una de las principales fuentes de energía para los moluscos, y es también el caso de *A. tuberculosa*.

Holtz y Brand (1940) indican que los valores de glucosa en una experiencia pueden resultar muy heterogéneos y ser resultado de factores internos o ambientales, no controlados; por ejemplo la cantidad de alimento ingerido, cambios climatológicos, estado de salud del ejemplar, etc. También es importante considerar la técnica utilizada en la determinación.

En el caso de *A. tuberculosa*, no se controlaron factores como los mencionados; sin embargo, los resultados no son muy diferentes a los de otros invertebrados que han estudiado diversos autores.

PRODUCTOS NITROGENADOS DE DEGRADACIÓN. El nitrógeno proveniente del metabolismo proteico, es excretado por los moluscos en forma de ácido úrico, de amoniaco o bien como urea (Daguzan, 1981).

Los mecanismos y los productos de excreción en las diferentes especies, están relacionados frecuentemente con su adaptación a los medios marinos, dulceacuícola y terrestre. Daguzan (*op. cit.*) señala que un distanciamiento del medio marino conlleva la desaparición más o menos marcada de la excreción de tipo amoniotélica (excreción de amoniaco) y la instalación de un uricotelismo (excreción de ácido úrico).

Aunque los estudios metabólicos no son abundantes, se considera que existen grupos heterogéneos en cuanto a sus vías catabólicas se refiere; por lo tanto, al no existir ninguna referencia previa sobre *Anadara*, nuestros resultados negativos deben tomarse con toda reserva y, al igual que con otras de las variables estudiadas. Creemos importante abordar cuidadosamente, en próximos estudios, el problema de las técnicas empleadas.

En cuanto a la bilirrubina, producto de degradación de la hemoglobina, que es el pigmento respiratorio presente en la hemolinfa de *A. tuberculosa* (Fernández y col. No publicado), su lectura fue negativa, o bien, la cantidad es tan pequeña que el método estandarizado para plasma humano no la detecta. Podría ser también que el producto final fuera protoporfirina, la cual no se transformaría en bilirrubina.

ENZIMAS. Diversas enzimas han sido investigadas en los moluscos y se conoce bastante sobre su papel en la hemolinfa.

En el caso de nuestro ejemplar, además de notificar la existencia de algunas de ellas, se plantean también interrogantes. Tomando por ejemplo las fosfatasas, que en los vertebrados se producen en el hígado, sería interesante determinar si es el hepatopáncreas quien hace lo propio.

En cuanto a la enzima lactato deshidrogenasa (L.D.H.), se ha estudiado, tanto en diversos mamíferos como en peces y aves, pero la información en moluscos casi no existe (Narang, 1974). Se le encuentra bajo formas moleculares múltiples y todos los tejidos muestran patrones isoenzimáticos diferentes.

No existen referencias respecto a su presencia en la hemolinfa, por lo que consideramos de importancia las determinaciones efectuadas. Sin embargo, quedan por realizar, múltiples estudios para comprender sus propiedades cinéticas.

Otro punto interesante lo plantea la aparente ausencia de la C.K. Esta enzima cataliza la transformación de fosfato de creatina a creatinina con la consecuente producción de ATP; de manera que resulta poco factible su inexistencia y habrá que investigar con más detalle.

Acerca de la amilasa, tampoco se conoce con exactitud su o sus sitios de producción, ni su significado; aunque se puede pensar en un factor de defensa inespecífico producido, al menos en parte, por los propios hemocitos.

ELECTROLITOS Y GASES. Finalmente, respecto a estas determinaciones, los datos aportados resultan importantes, primero, porque no hay otros informes en *A. tuberculosa* y segundo, porque sirven para incrementar las escasas referencias que hay sobre los moluscos en general (Lee y Cheng, *op. cit.*; Holtz y Brand, *op. cit.*).

Si se toman como referencia los valores del humano (Cuadro 9), *A. tubercu-*

losa se encuentra en un estado de acidosis metabólica; sin embargo, se ve la necesidad de determinar, con estudios más amplios y en condiciones controladas, sus constantes fisiológicas normales.

CUADRO 9. Valores plasmáticos de pH, pCO₂ y pO₂ en *A. tuberculosa* y en el humano

Valor	<i>A. tuberculosa</i>	Humano	
		sangre arterial	sangre venosa
pH	6.974	7.35-7.43	7.35-7.45
pCO ₂ mm Hg	32.33	35-45	35-50
pO ₂ mm Hg	73.35	85-95	30-50

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos de un total de 548 determinaciones, permiten concluir que el plasma de *A. tuberculosa* contiene algunos componentes similares al suero o plasma de otros invertebrados y vertebrados. Estos datos pueden tomarse como valores de referencia para la especie estudiada, pero no como característicos o normales; dado que no se controlaron factores importantes — como localidad de procedencia, tiempo transcurrido entre la captura y la determinación, estado de nutrición del animal, etcétera.

Si bien, las desviaciones estándar de algunas de las determinaciones efectuadas son altas, se considera natural en ciertos moluscos, cuyo sistema circulatorio comunica directamente con el exterior, como es el caso de los gasterópodos y pelecípodos (Cheng y Rodrick, *op. cit.*).

Por otra parte, para el estudio de invertebrados se ve la necesidad de afinar o adaptar métodos y técnicas que se aplican casi siempre en función de la experiencia clínica en el humano.

SUMMARY

A chemical analysis of *Anadara tuberculosa* plasm was made. Preliminary results present reference values of a total of 548 samples. Hemolymph contains a variety of compounds similar to other mollusks: glucose, albumin, cholesterol, creatinin, acid and alkaline phosphatases, amylase, lactate dehydrogenase, creatinin phosphokinase and glutamic-oxalacetic transaminase.

Total proteins determinations and electrophoretic study of plasm proteins was also carried out. In addition concentrations of Na, K, Ca, and Cl; pH, pCO₂, pO₂, SO₂, E. B., HCO₃ and tCO₂ was measured.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, R. S. AND R. A. GOOD, 1976. Opsonic involvement in phagocytosis by mollusk hemocytes, *J. Invertbr. Pathol.*, **27** (1): 57-64.
- CHENG, T. C., 1975. Does copper cause anemia in *Biomphalaria glabrata*, *J. Invertbr. Pathol.*, **26** (3): 421-422.
- 1976. Beta-glucuronidase in the serum and hemolymph cells of *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica* (Mollusca: Pellecypoda), *J. Invertbr. Pathol.*, **27** (1): 125-128.
- CHENG, T. C., AND F. O. LEE, 1971. Glucosa levels in the mollusc *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*, *J. Invertbr. Pathol.*, **18** (3): 395-399.
- CHENG, T. C. AND G. E. RODRICK, 1975. Lysosomal and other enzymes in the hemolymph of *Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*, *Comp. Biochem Physiol.*, **52B**: 443-447.
- CHENG, T. C. AND T. P. YOSHINO, 1976a. Lipase activity in the hemolymph of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) challenged with bacterial lipids, *J. Invertbr. Pathol.*, **28** (1): 143-146.
- 1976b. Lipase activity in the serum and Hemolymph cells of the soft-shelled clam, *Mya arenaria* during phagocytosis, *J. Invertbr. Pathol.*, **27** (2): 243-245.
- CHENG, T. C., V. G. GUIDA AND P. L. GERHART, 1978. Aminopeptidase and lysosome activity and serum protein concentrations in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) challenged with bacteria, *J. Invertbr. Pathol.*, **32** (3): 297-302.
- DAGUZAN, J., 1981. Quelques données sur l'appareil excréteur et l'excrétion azotée chez les mollusques Gastéropodes. Dans organes excréteurs et excrétion. Table Ronde, *Bull. Soc. Zool. France*, **106** (1): 81-89.
- DUSANC, D. G., AND R. M. LEWERT, 1963. Alterations of proteins and free aminoacids of *Australorbis glabratus* hemolymph after exposure to *Schistosoma mansoni* miracidia, *J. Infec. Disc.*, **112**: 243-246.
- FLORES, M. MA., 1971. Contribución al conocimiento biológico de la "Pata de mula" *Anadara (Anadara) tuberculosa*. Sowerby 1833. Tesis profesional. México.
- GHIDALIA, W., P. LAMBIN AND J. M. FINE, 1975. Electrophoretic and immunologic studies of a Hemagglutinin in the Hemolymph of the Decapod *Macropipus puber*, *J. Invert. Pathol.*, **25**: 151-157.
- GILBERTSON, D. E., F. G., ETGES AND J. D. ODGLE, 1967. Free aminoacids in *Australorbis glabratus* hemolymph: comparison of four geographic strains and effect of infection by *Schistosoma mansoni*, *J. Parasitol.*, **53**: 565-568.
- GREES, F. M. AND T. C. CHENG, 1973. Alterations in total serum proteins and protein fractions in *Biomphalaria glabrata* parasitized by *Schistosoma mansoni*, *J. Invertbr. Pathol.*, **22**: 382-390.
- HOLTZ, Z. F. AND T. VON BRAND, 1940. Quantitative studies upon some blood constituents of *Helix pomatia*, *Biol. Bull. Biol. Lab.*, **79**: 423-431.
- LEE, F. O. AND T. C. CHENG, 1972. *Schistosoma mansoni*: Alteration in total protein and hemoglobin in the hemolymph of infected *Biophalaria glabrata*, *Esp. Parasitol.*, **31**: 203-216.
- MALEK, E. A. AND T. C. CHENG, 1974. *Medical and Economic Malacology*, Academic Press, New York, pp: 185-187.
- MANHOER, L. R., AND K. S. SWAMI, 1972. Variations in aminotransferase activity and total free amino acid in the body fluid of the snail *Lymnea luteola* during different larval trematode infections, *J. Invertbr. Pathol.*, **19**: 36-41.
- MANWELL, C., 1958. The oxygen, respiratory pigment equilibrium of the hemocyanin and myoglobin of the amphineuran mollusk *Cryptochiton stelleri*, *J. Cell. Com. Physiol.*, **52**: 341-352.
- MARAMOROSCH, K., AND R. E. SHOPE, (Eds.), 1975. *Invertebrate Immunity*, Academic Press, Inc. N. Y. 365 pp.

- MARCHALONIS, J. J. AND G. M. EDELMAN, 1968. Isolation and characterization of a hemagglutinin from *Limulus polyphemus*, *J. Mol. Biol.*, **32**: 453-465.
- MEINCKE, K. F., 1975. The chemical ingredients of hemolymph and some selected organs of *Helix pomatia* in constant ambient conditions in the course of the year, *Comp. Biochem. Physiol.*, **57a**: 135-140.
- MICHELSON, E. H. AND L. DUBOIS, 1973. Increased alkaline phosphatase in the tissues and hemolymph of the snail *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*, *Comp. Biochem. Physiol.*, **44B**: 763-767.
- NARANG, S., 1974. Lactate dehydrogenase of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusca: Pulmonata) I. Physicochemical characterization of lactate dehydrogenase of various tissues, *Comp. Biochem. Physiol.*, **47B**: 641-655.
- PAULEY, G. B., A. GRANGER AND S. M. KRASSNER, 1971. Characterization of a natural agglutinin present in the hemolymph of the California Sea Hare, *Aplysia californica*, *J. Invertbr. Pathol.*, **18**: (2): 207-218.
- PAULEY, G. B., S. M. KRASSNER AND F. A. CHAPMAN, 1971. Bacterial clearance in the California Sea Hare, *Aplysia californica*, *J. Invertbr. Pathol.*, **18** (2): 227-239.
- READ, K. R. H., 1962. The hemoglobin of the bivalved mollusk, *Phacoides pectinatus*. Gmellin., *Biol. Bull.*, **123**: 605-617.
- RODRICK, G. E. AND T. C. CHENG, 1974a. Activities of selected hemolymph enzymes in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca), *J. Invertbr. Pathol.*, **24** (3): 374-375.
- RODRICK, G. E. AND T. C. CHENG, 1974b. Kinetic properties of Lysosyme from the hemolymph of *Crassostrea virginica*, *J. Invertbr. Pathol.*, **24** (1): 41-48.
- SCHMID, L. S., 1975. Chemotaxis of hemocytes from the snail *Viviparus malleatus*, *J. Invertbr. Pathol.*, **25** (1): 125-131.
- STANISLAWSKI, E., L. RENWRANTZ AND W. BECKER, 1976. Soluble blood group reactive substances in the hemolymph of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca), *J. Invertbr. Pathol.*, **28** (1): 301-308.
- STEIN, P. C. AND P. F. BUSCH, 1979. Purification and binding properties of hemagglutinin from *Biomphalaria glabrata*, *J. Invertbr. Pathol.*, **33** (1): 10-18.
- WOODS, K. R., E. C. PALSEN, R. L. ENGLE AND J. H. PERT, 1958. Starch gel electrophoresis of some invertebrate sera, *Science*, **127**: 519-520.
- YOSHINO, T. P. AND T. C. CHENG, 1977. Aminopeptidase activity in the hemolymph and Body tissues of the Pulmonate Gasteropod *Biomphalaria glabrata*, *J. Invertbr. Pathol.*, **30** (1): 76-79.

Este trabajo se recibió para su publicación en marzo de 1985.

SIGUE EN 75