

ASPECTOS HISTOLÓGICOS DEL INTESTINO DE *Typhlonectes venezuelensis* (Amphibia: Gymnophiona, Typhlonectidae)

Histologic Aspects of the Intestine of *Typhlonectes venezuelensis* (Amphibia: Gymnophiona, Typhlonectidae)

Teresa Martínez-Leones¹, Maribel Vilorio-Narváez¹, Jesús Camacho-Bracho², Rosario Godoy-Briceño², Enmanuel Herrera-Márquez¹ y Rafaela Muñoz-Gotera²

¹ Centro de Investigaciones Biológicas. Facultad Humanidades y Educación. Apartado 4001-A. La Universidad del Zulia.

² División de Investigación. Facultad de Ciencias Veterinarias. La Universidad del Zulia, Maracaibo estado Zulia, Venezuela.
E-mail: rmunozven@latinmail.com

RESUMEN

Este estudio provee información sobre la histología intestinal de *Typhlonectes venezuelensis*, un anfibio ápodo de aspecto serpentiforme que habita en las orillas del Lago de Maracaibo, con una alta densidad poblacional en la zona de San José de Potrerito, municipio La Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela. La caracterización microscópica se realizó mediante la observación directa del intestino en la cavidad pleuroperitoneal de ejemplares juveniles y adultos. Para proceder con el estudio histológico se realizaron cortes transversales y longitudinales del tracto intestinal, los cuales se fijaron en solución de Bouin y formol tamponado. Las muestras se incluyeron en parafina, se colorearon con la técnica de hematoxilina y eosina y la técnica especial de PAS; y se observaron las láminas en un microscopio óptico. Este estudio reveló que *T. venezuelensis*, al igual que el resto de los vertebrados, presenta la misma estructuración histológica, desde la capa más externa hacia el lumen: serosa, muscular, submucosa y mucosa, respectivamente. A diferencia de otros vertebrados, los cuales en todo el tracto intestinal presentan un epitelio cilíndrico simple, en el *Typhlonectes venezuelensis*, se visualizó un epitelio pseudoestratificado cilíndrico con núcleos a diferentes alturas. Las implicaciones fisiológicas de este hallazgo deberán ser estudiadas en futuras investigaciones.

Palabras clave: Tracto intestinal, *Typhlonectes venezuelensis*, Gymnophiona, anfibio, histología.

ABSTRACT

This study provides information on the intestinal histology of *Typhlonectes venezuelensis*, a spiral shaped amphibia apodus that inhabits the shores of Lake Maracaibo, Zulia state, Vene-

zuela, with high population densities in the zone near San Jose de Potrerito, La Cañada de Urdaneta municipality, Zulia state, Venezuela. The microscopic characterization was carried out by means of direct observation of the intestine in the pleuroperitoneal cavity of juvenile and adult specimens. To proceed with the histological study, cross longitudinal sections of the intestinal tract were fixed in Bouin's fluid and buffered with formaldehyde. Samples were embedded in paraffin, stained by routine Bouin and formaldehyde solution and covered. The samples were imbeded in parafin and colored with the hematoxylina and eosyne technique and the special PAS technique and observed with an optic microscope. This study revealed that *T. venezuelensis*, as well as other invertebrates in the intestinal tract present a histological arrangement containing serosa, muscularis, submucosa and mucosa from the most external layer to the lumen, respectively. In contrast to most vertebrates, instead of a simple cylindrical epithelium, the entire intestinal tract of *Typhlonectes venezuelensis* showed a pseudostratified cylindrical epithelium with nuclei at different heights. Physiological implications of these findings should be explored.

Key words: Intestinal tract, *Typhlonectes venezuelensis*, Gymnophiona, amphibian, histology.

INTRODUCCIÓN

Dentro de la Clase Amphibia moderna se encuentra el Orden Gymnophiona, cuyos géneros poseen las siguientes características generales: carecen de miembros, poseen un cuerpo serpentiforme, presentan anillos corporales, extrema osificación del cráneo, ojos pequeños, ausencia de párpados, tentáculo sensorial ubicado entre los ojos y las narinas, conducta predominantemente excavadora y un órgano copulador para la fertilización interna, exclusivo de los machos [8, 17, 21, 29, 30]. Este grupo de vertebrados es poco conocido y una de

sus limitantes es la dificultad para colectarlos [8]. Estes y Wake [9], estudiaron morfológicamente un fósil perteneciente al Paleoceno carente de miembros hecho que sustenta la hipótesis que este grupo existía antes de la división de la Gondwana hace 120 millones de años.

El Orden Gymnophiona se encuentra distribuido biogeográficamente en América Central, América del Sur, África tropical y al suroeste de Asia [6, 31], está conformado por 6 familias y 34 géneros, mientras que en Venezuela sólo están presentes las familias Rhinatrematidae, Caecilidae y Typhlonectidae [15, 23, 26, 27, 29]. Esta última, es la única familia de vida acuática de los anfibios Gymnophiona [4], dentro de la cual se encuentra *Typhlonectes venezuelensis*, que habita en las orillas del Lago de Maracaibo. Esta especie se caracteriza por presentar el cuerpo comprimido lateralmente, narina externa subtriangular, pulmones largos y bien desarrollados, aleta dorsal en el tercio posterior del cuerpo, válvula en los orificios nasales, piel gris pizarra [4, 5, 7, 29].

A lo largo de la evolución animal, el intestino se ha convertido de modo progresivo en un órgano largo y complejo, con elevada capacidad absorbente y digestiva para lo cual sus paredes han experimentado un proceso de expansión y plegamiento. Además se ha subdividido en distintas regiones diferenciadas estructural y morfológicamente. La principal función intestinal es la absorción de los principios nutritivos utilizables por el organismo, resultantes de la digestión de grandes moléculas orgánicas ingeridas por el animal. También en el intestino se absorben grandes cantidades de agua, que de otro modo se perdería junto con las heces [32].

Conocer sobre la histología de esta especie es importante para aumentar y profundizar los conocimientos científicos en el área de la zoología y servir de antesala a estudios posteriores que permitan desarrollar nuevas alternativas en la utilización de esta especie como fuente alterna de proteína, para la elaboración de alimento concentrado de consumo animal. En este trabajo se evidenciaron adaptaciones morfológicas e histológicas en el intestino de *Typhlonectes venezuelensis*, asociadas con la función dual de asimilación y respiración en ejemplares juveniles y adultos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 especímenes de *Typhlonectes venezuelensis*: 7 juveniles y 13 adultos, cuyas tallas oscilaron entre 9,0 y 57,4 cm. La asignación de los individuos a las categorías juveniles y adultos se realizó mediante el examen de la madurez sexual. Estos ejemplares fueron colectados a mano alzada en las orillas del Lago de Maracaibo, específicamente en la zona de San José de Potrerito (Norte: Lat. N. 71° 47" y Long. W. 10° 20"), municipio La Cañada de Urdaneta. Para realizar la división macroscópica del intestino, se tomó en cuenta el inicio de éste a partir de un estrechamiento o una porción contraída al final del estómago (FIG. 1). Esta región corresponde al píloro

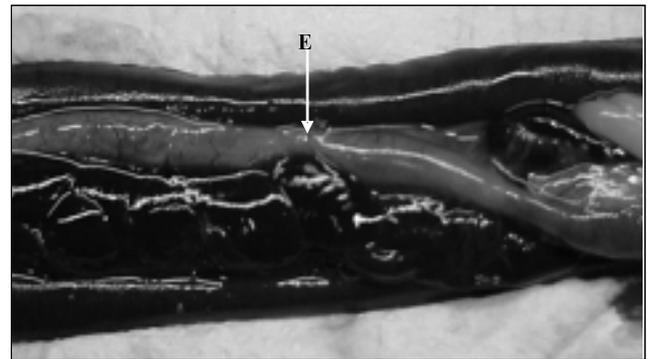


FIGURA 1. LÍMITE ENTRE EL ESTÓMAGO Y EL INTESTINO DE UN ESPECIMEN ADULTO DE *Typhlonectes venezuelensis*. NÓTESE LA ESTRECHEZ DE LA ZONA (Flecha, E).

de otros vertebrados y pudiese incluir un esfínter pilórico, el cual funcionalmente regularía el paso de quimo desde el estómago hacia el intestino anterior. El tracto intestinal fue dividido en las porciones; anterior, media y posterior) intestino anterior: desde el estrechamiento posterior del estómago hasta la mitad del tracto reproductor masculino o femenino b) intestino medio: desde la mitad del tracto reproductor hasta la finalización de éste; c) intestino posterior: desde el final del tracto reproductor hasta el ano.

Una vez diseccionado el tracto intestinal de cada uno de los ejemplares, se procedió a medir su longitud utilizando para ello una cinta métrica. Los valores se registraron en una matriz de datos y fueron procesados, mediante un análisis de regresión utilizando para este fin el programa Excel 2000. Las muestras de tejidos se seccionaron transversal y longitudinalmente, se fijaron con solución de Bouin y formol tamponado. Las muestras fueron incluidas en parafina, se realizaron cortes de tejidos a 5 µm de espesor utilizando un microtomo rotatorio marca Reichert Jung. Los cortes fueron coloreados con Hematoxilina-Eosina [16] y coloración especial de Acido Peryódico de Shiff (PAS) [10], y se observaron en un fotomicroscopio marca Zeiss.

RESULTADOS

De acuerdo a los datos morfométricos del intestino de *Typhlonectes venezuelensis* registrados en la TABLA I, la longitud intestinal de los ejemplares osciló entre 2,0 y 13,8 cm para los juveniles y entre 14,3 a 31, 6 cm para los adultos. Al comparar estos datos mediante un análisis de regresión aplicados a todos los ejemplares, se obtuvo que $r = 0,93$ ($P < 0,05$), lo que indica que existen diferencias significativas entre la longitud corporal y la longitud del intestino, siendo estas dos variables directamente proporcionales. Este fenómeno es un indicio de alometría positiva [3].

Macroscópicamente se observó en los ejemplares adultos la presencia de plegamientos intestinales, esta cualidad fue considerada como parámetro para la delimitación del intestino posterior. Dichos plegamientos no se visualizaron en los ejemplares más jóvenes.

TABLA I
MORFOMETRÍA DEL INTESTINO DE LA ESPECIE
Typhlonectis venezuelensis

| Número del ejemplar | Estadio | Longitud corporal (cm) | Longitud del intestino (cm) |
|---------------------|---------|------------------------|-----------------------------|
| 1 | Adulto | 35,0 | 29,0 |
| 2 | Adulto | 42,0 | 35,5 |
| 3 | Adulto | 33,5 | 25,8 |
| 4 | Adulto | 34,2 | 26,4 |
| 5 | Adulto | 38,0 | 24,0 |
| 6 | Adulto | 41,0 | 28,0 |
| 7 | Adulto | 57,4 | 31,6 |
| 8 | Adulto | 31,0 | 25,3 |
| 9 | Adulto | 34,6 | 26,2 |
| 10 | Adulto | 33,3 | 25,0 |
| 11 | Adulto | 42,6 | 23,0 |
| 12 | Adulto | 44,3 | 29,0 |
| 13 | Adulto | 29,5 | 14,3 |
| 14 | Juvenil | 23,5 | 13,8 |
| 15 | Juvenil | 14,2 | 5,0 |
| 16 | Juvenil | 12,0 | 3,7 |
| 17 | Juvenil | 10,3 | 2,8 |
| 18 | Juvenil | 9,0 | 2,0 |
| 19 | Juvenil | 13,4 | 4,0 |
| 20 | Juvenil | 16,4 | 6,7 |

Correlación para todos los ejemplares:

LC = 8,50 + 1,12 LI n = 20

r = 0,93 (P<0,05)

Intestino anterior

Mucosa: presenta un aspecto plegado con un promedio de 15 pliegues, de donde se derivan las vellosidades intestinales (FIG. 3A). Se observó un epitelio pseudoestratificado cilíndrico constituido por: a) células cilíndricas altas con chapa estriada (capa de microvellosidades), núcleos cilíndricos dispuestos a diferentes alturas (basales, medias y apicales) con abundante cromatina granular, y b) células mucosas globulares, de núcleos basales y con vacuolas secretoras positivas a la coloración de PAS, ubicadas en la porción apical. La coloración de PAS también reveló, células poligonales o redondeadas ubicadas en la región basal del epitelio con numerosos gránulos PAS positivos en el citoplasma y núcleos redondeados. Finalizando la mucosa, se observó una aparente membrana basal (FIG. 2A y 2B).

Submucosa: está formada por tejido conectivo laxo con abundantes capilares sanguíneos y vasos linfáticos, fibroblastos, fibras conectivas y ocasionalmente linfocitos aislados. No se observó claramente la muscular de la mucosa.

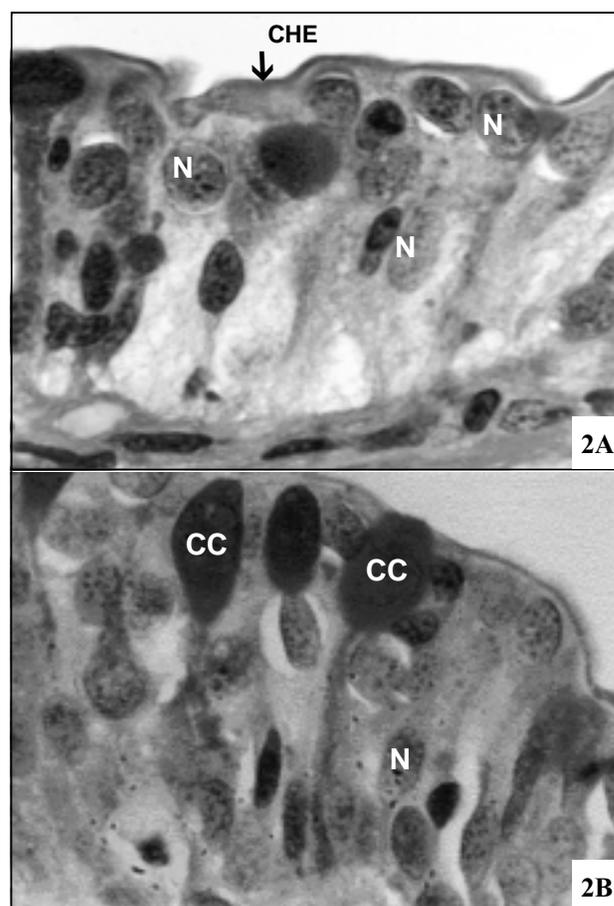


FIGURA 2. CORTE DE INTESTINO ANTERIOR DE UN ESPECIMEN JUVENIL. SE OBSERVAN CÉLULAS CALICIFORMES (CC) Y EL EPITELIO PSEUDOESTRATIFICADO CILÍNDRICO CON CHAPA ESTRIADA (CHE), LOS NÚCLEOS SE VISUALIZAN A DIFERENTES ALTURAS (N). COLORACIÓN PAS+. 1000X.

Muscular propia: la capa interna tiene ubicación circular continua, más desarrollada que la capa muscular externa y compuesta de 14 a 18 capas de musculatura lisa. La capa intermedia está constituida por tejido conectivo laxo con venas, arteriolas y linfáticos de diámetro mediano a grande. La capa externa está conformada por haces o fascículos de musculatura lisa orientadas longitudinalmente y separados por tejido conectivo laxo.

Serosa: esta capa se encuentra tapizada por células mesoteliales cúbicas o ligeramente aplanadas que descansan sobre una membrana basal y una capa fina de tejido conectivo laxo.

Intestino medio

En la mucosa del intestino medio, se observan vellosidades intestinales de menor tamaño que en el intestino anterior, revestidas por un epitelio pseudoestratificado con células caliciformes más abundantes en relación a la porción intestinal anterior. Dicho epitelio presenta una membrana basal delgada (FIG. 3B y 5).

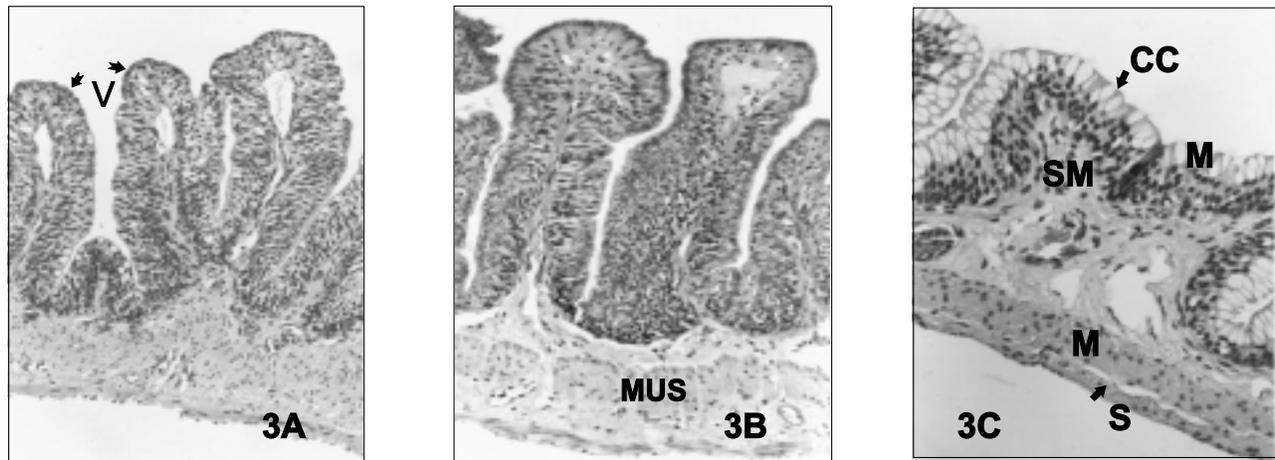


FIGURA 3. SEGMENTOS DEL INTESTINO DE UN EJEMPLAR ADULTO DE *Typhlonectes venezuelensis*. INTESTINO ANTERIOR (3A), SE OBSERVAN VELLOSIDADES INTESTINALES (V), MÁS ELEVADAS QUE EN LOS SEGMENTOS MEDIO (3B) Y POSTERIOR (3C). EN 3B, SE VISUALIZAN EN LA SUBMUCOSA LOS ACÚMULOS LINFOCITARIOS Y UNA CAPA MUSCULAR ENGROSADA (MUS). PAS+100X. En 3C, SE OBSERVAN LAS CUATRO CAPAS CARACTERÍSTICAS DEL INTESTINO: MUCOSA (M) CON ABUNDANTE CÉLULAS CALICIFORMES (CC), SUBMUCOSA (SM), CAPA MUSCULAR (MUS) Y LA SEROSA (S). NOTENSE LAS CÉLULAS PLANASCOLARACIÓN H-E, 200X.

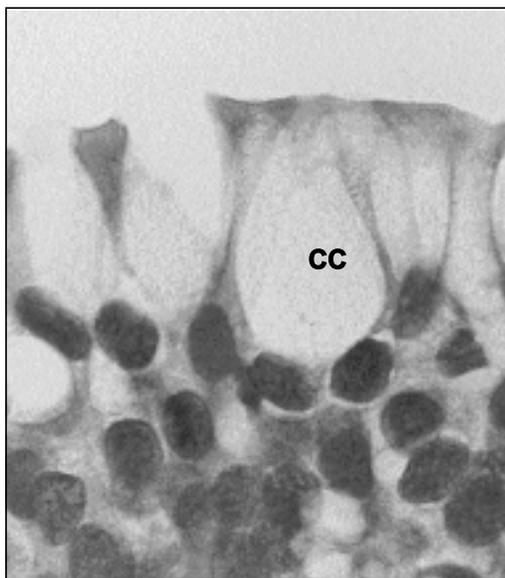


FIGURA 4. INTESTINO POSTERIOR DE UN EJEMPLAR JUVENIL DONDE SE MUESTRAN LAS CELULAS CALICIFORMES (CC) EN ACTIVIDAD SECRETORA. H-E. 1000X.

En la submucosa se observan abundantes linfocitos.

Muscular propia: es más engrosada que en la porción posterior, igualmente se observa la capa interna de musculatura lisa y la capa externa con disposición circular (FIG. 3B y 5).

Serosa: esta capa se encuentra tapizada por células mesoteliales cúbicas o ligeramente aplanadas que descansan sobre una membrana basal y una capa fina de tejido conectivo laxo.

Intestino posterior

Mucosa: forma aproximadamente de 5 a 6 pliegues, proyecciones o vellosidades. Presenta un epitelio pseudoestratifi-

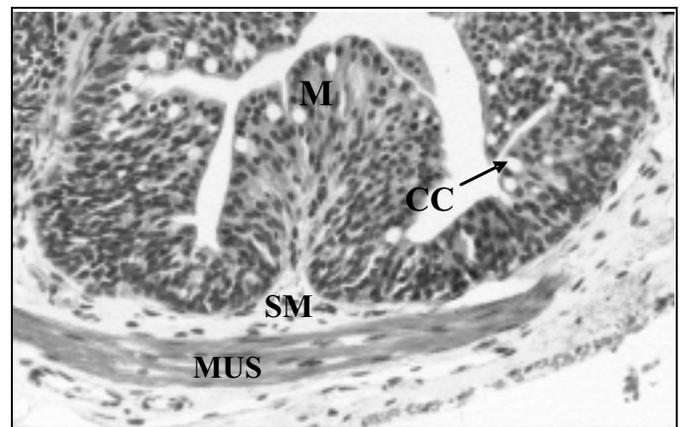


FIGURA 5. INTESTINO MEDIO DE UN EJEMPLAR ADULTO. SE OBSERVA LA CAPA MUCOSA (M) CON CÉLULAS CALICIFORMES (CC), LA SUBMUCOSA (SM) Y LA CAPA MUSCULAR CIRCULAR (MUS). COLORACIÓN H-E. 200 X.

cado cilíndrico compuesto por: a) Células cilíndricas altas, de núcleos cilíndricos con abundante cromatina granular, que se disponen en diferentes alturas. b) Numerosas células caliciformes cilíndricas, de núcleos basales y con vacuola de secreción, ubicada en la porción apical. Posee membrana basal (FIGS. 3C y 4).

Submucosa: está conformada por tejido conectivo laxo más abundante que en la región anterior y media, presenta capilares sanguíneos, arteriolas y vénulas de mediano calibre, vasos linfáticos, fibroblastos, fibras conectivas, abundante fibras de colágeno. En esta capa existe un mayor número de linfocitos formando agregados linfoides. La muscular de la mucosa no se observa claramente.

Muscular propia: la capa interna se encuentra más desarrollada que la capa muscular externa y compuesta aproxi-

madamente de 3 a 6 capas de células musculares lisas de orientación circular y de apariencia discontinua. La capa externa está constituida por haces o fascículos de células musculares lisas orientadas longitudinalmente, se visualizan haces separados por tejido conectivo laxo. Entre ambas capas existe un tejido conectivo laxo con venas, arteriolas y vasos linfáticos (FIG. 3C).

Serosa: esta capa se encuentra tapizada por células mesoteliales cúbicas o ligeramente aplanadas que descansan sobre una membrana basal y una capa fina de tejido conectivo laxo (FIG. 3C).

DISCUSIÓN

Poco se conoce sobre la histología intestinal de la Clase Amphibia, por ello ha sido difícil establecer comparaciones entre sus especies; para solventar este problema, se ha recurrido a la confrontación con otras especies de Vertebrados filogenéticamente cercanas.

El tracto intestinal de *Typhlonectes venezuelensis*, presenta el mismo plan anatómico del resto de los vertebrados, el cual abarca la mayor parte de la cavidad pleuroperitoneal. La longitud promedio intestinal entre los especímenes estudiados en esta investigación, fue de 19,08 cm.

El intestino es casi totalmente recto, sólo existen ligeros enrollamientos en la región posterior, lo cual coincide con lo planteado por Duellman y Trueb [7] y Weichert y col. [32], quienes afirman que en los anfibios existen marcadas variaciones en cuanto al enrollamiento intestinal, siendo más acentuado en los anuros, moderado en las salamandras y escaso en los cecilios. Macroscópicamente, el intestino no presenta diferencias que permitan discriminar entre el intestino delgado y grueso, hecho similar ocurre en algunos peces y anfibios [20]. De igual forma, la estructura histológica del intestino de la especie estudiada concuerda con la descrita por Scocco y col. [28], quienes describen en peces polihíbridos del género *Oreochromis* diferencias microscópicas entre la región anterior y la posterior, no visualizándose diferencias macroscópicas. Resultados similares se registraron en el reptil *Tropidurus peruvianus peruvianus* [22].

Los resultados histológicos indican que la serosa de todo el tubo digestivo está constituida por células ligeramente aplanadas y de apariencia delgada. La misma descripción ha sido reportada para el anfibio *Pseudis paradoxus caribensis* [24], el pez *Misgurnus mezolepis* [20], el cual evolutivamente pertenece a una clase inferior de anfibio y *Tropidurus peruvianus peruvianus* [22] de la clase reptilia ubicada en una escala superior.

La capa muscular propia de *T. venezuelensis* exhibió dos regiones de musculatura lisa; la circular interna y la longitudinal externa, habiendo sido la misma distribución señalada en los peces *Leporinus friderici* y *Leporinus taeniofasciatus* [1] y

Misgurnus mizolepis [20], en el reptil *Tropidurus peruvianus peruvianus* [22] y en la rana *Pseudis paradoxus caribensis* [24]. En esta última especie, la capa muscular externa es delgada o inexistente. La región anterior y la posterior del intestino de la especie estudiada, mostraron diferencias en cuanto a su grosor. La capa muscular interna en la región anterior tiene entre 14 a 18 capas de células musculares lisas compactas, mientras que en la región posterior exhibió de 3 a 6 capas de células musculares de apariencia discontinua. Entre ambas capas musculares, se visualizó tejido conectivo laxo, venas, arteriolas y vasos linfáticos; la misma composición y distribución ha sido descrita por Park y Kim [20] en *M. mizolepis*.

Partiendo de la capa más externa hacia la luz intestinal, la submucosa es la tercera capa del intestino. Esta capa está conformada por vasos sanguíneos y linfáticos y tejido conectivo laxo compuesto por fibras colágenas y elásticas, el cual presentó mayor grosor en la región anterior del intestino, en comparación a la región media y posterior del mismo. Una composición similar de la capa submucosa ha sido reportada para el anfibio *Pseudis paradoxus caribensis* [24], y para el pez *Oreochromis niloticus* [19]. La submucosa mostró una diferencia en cuanto a la distribución de los componentes defensivos linfocitarios. *T. venezuelensis*, presenta mayor cantidad de linfocitos, los cuales inclusive en algunas ocasiones forman agregados linfocitos, dando la apariencia de cierta organización inmunológica; en cambio en *Pseudis paradoxus caribensis* [24], dichos linfocitos sólo se observaron esparcidos en algunas zonas de la submucosa. En la región posterior del *Tropidurus peruvianus peruvianus* [22], se han descrito algunas glándulas submucosales, las cuales no fueron observadas en *T. venezuelensis*.

La mucosa constituye la cuarta capa intestinal, según la distribución planteada en este trabajo. Esta capa mostró una diferencia significativa en cuanto al tipo epitelial reportado para el resto de los vertebrados, donde se describe un epitelio cilíndrico simple. El epitelio observado en *T. venezuelensis*, es pseudoestratificado cilíndrico, con núcleos a diferentes alturas y fue el mismo en todo el tracto intestinal. Park y Kim [20] señalan esta misma descripción para *Misgurnus mizolepis*, y sugieren que este pez presenta este tipo de epitelio característico de órganos respiratorios, para compensar las deficiencias de oxígeno del hábitat donde reside el animal. Un caso similar se observó en *Misgurnus anguillicaudatus* [12, 13] y en *Misgurnus fossilis* [11].

De acuerdo a estos resultados es posible que *T. venezuelensis*, como en los peces mencionados, el tracto intestinal haya sufrido modificaciones para llevar a cabo una doble función: digestiva y respiratoria, promovidas por las condiciones del agua en las que habitan, donde existe poca cantidad de oxígeno y alto contenido de materia orgánica. Existen reportes sobre la capacidad de extraer oxígeno atmosférico, utilizando para esto órganos de respiración aérea, como la piel, la cavidad oral y el tracto digestivo. Esta habilidad ha sido descrita como una característica primitiva de los peces [2, 3, 11, 14].

La respiración intestinal es por lo tanto una conducta primitiva de la respiración aérea [18].

Sólo se observó chapa estriada en la mucosa de la región anterior del intestino, lo cual concuerda con lo descrito por Rada y Bello [24] para *Pseudis paradoxus caribensis*. En *L. friderici* y en *L. taeniofasciatus* [1], esta modificación de la superficie epitelial estuvo presente a lo largo de todo el intestino.

Las células caliciformes de la especie estudiada son más numerosas en la región posterior, que en la anterior y media. Por el contrario, en *Tropidurus peruvianus peruvianus* [22], estas células son abundantes en la región anterior del intestino. Las vellosidades intestinales, 15 en total para esta región, resultaron ser mayores en cantidad y altura en comparación con los intestinos medio y posterior; en este último solo se observaron entre 5 y 6 vellosidades. En *Tropidurus peruvianus peruvianus* [22], se describen vellosidades alargadas en la región anterior y cortas en la región posterior. Por el contrario, Reis [25], describió en la culebra verde común, vellosidades de igual tamaño en ambas porciones del intestino. De manera similar a los peces *Leporinus friderici* y *Leporinus taeniofasciatus* [1], la muscular de la mucosa está ausente en *T. venezuelensis*, lo que pudiese justificarse por la presencia de las dos capas de la muscular propia y la presencia de numerosas fibras elásticas [1].

CONCLUSIONES

El intestino de *Typhlonectes venezuelensis* es casi totalmente recto, sólo se observan ligeros enrollamientos en la región posterior. En todo el tracto intestinal se observó un epitelio cilíndrico pseudoestratificado con núcleos a diferentes alturas. Este hallazgo denota una marcada diferencia con la mayoría de los vertebrados, los cuales poseen en la mucosa intestinal un epitelio cilíndrico simple.

Las vellosidades intestinales son más altas en el segmento anterior del intestino y van disminuyendo en tamaño y cantidad a lo largo de este. La muscular de la mucosa no fue visualizada claramente en ninguno de los segmentos del intestino, así como en ninguno de los especímenes estudiados. No se observaron cambios ni morfológicos ni histológicos en el intestino de los ejemplares juveniles y adultos.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen el valioso apoyo recibido por parte del personal de investigación de la Unidad de Biología Celular y Patología (UBIOCEP) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALBRECHT, M. P.; FERREIRA, M. F.; CARAMASCHI, E. P. Anatomical features and histology of the digestive tract of two related neotropical omnivorous fishes (Characiformes; Anostomidae). **J. of Fish Biol.** 56: 419-430. 2000.
- [2] BOND, C. E. **Biology of fishes.** 2nd ed. Saunders College Publishing, New York, 300 pp. 1996.
- [3] BOOKSTEIN, F.; CHERNOFF, B.; ELDER, J.; HUMPHRIES, J.; SMITH, G.; STRAUSS, R. **Morphometrics in evolutionary biology.** The Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Michigan. 277 pp. 1985
- [4] CÁNEPA, G.; GONZÁLEZ, M.; MARTÍNEZ, T. Diferencias histológicas en la vascularización de la piel de anfibios Gymnophiona de la familia Typhlonectidae. **VI Congreso Latinoamericano de Herpetología.** Lima, Perú. 19 al 23 de Enero, 39-40 pp. 2003.
- [5] CÁNEPA, G.; MARTÍNEZ, T.; GONZÁLEZ – ELORRIAGA, M. A.; AYESTA, C. Algunos aspectos de la Biología de *Typhlonectes cir natans* (Amphibia: Gymnophiona) en cautiverio. **Vº Congreso Latinoamericano de Herpetología.** Museo Nacional de Historia Natural. Montevideo, Uruguay. 12 al 17 de Diciembre, 42-43 pp. 1999.
- [6] CASE, S.; WAKE, M. Immunological comparisons of caecilian albumins (Amphibia: Gymnophiona). **Herpetol.** 33: 94-98. 1977.
- [7] DUELLMANN, W.; TRUEB, L. **Biology of amphibians.** McGraw-Hill Book Company, New York. 670 pp. 1986.
- [8] DUNKER, N.; WAKE, M. H.; OLSON, W. Embryonic and larval development in the caecilian *Ichthyophis kohtaoensis* (Amphibia, Gymnophiona): A staging table. **J. Morphol.** 243: 3-34. 2000.
- [9] ESTES, R.; WAKE, M. H. Caecilians amphibians: Their first fossil record. **Nature.** 239: 228-231. 1972.
- [10] GURR, G. T. **A practical manual of medical and biological staining techniques.** 1ra ed. Interscience, Inc, New York. 380 pp. 1956.
- [11] JOHANSEN, K. Air breathing in fishes. In: **Fish Physiology.** Vol 4 (Hoar, W. S and Randall, D. J. eds). New York: Academic Press. 361-411 pp. 1970.
- [12] KOYAMA, T. A study on the mechanism of the ingestion by intestinal respiration in the loach. **Jap. J. of Ichthyol.** 7: 95-98. 1958a.
- [13] KOYAMA, T. A study of the role of the so-called intestinal respiration of the loach in defecation. **Jap. J. of Ichthyol.** 7: 99-101. 1958b.

- [14] LAGLER, K. F.; BARDACH, J. E.; MILLAR, R. R.; PASSINO, D. R. M. Respiration. In: **Ichthyology**. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc. New York 218-250 pp. 1977.
- [15] LANCINI, A. R. Contribución al conocimiento sistemático y ecológico de *Cthonerpeton haydee*. (Amphibia: Gymnophiona; Caeciliidae). **Public. Ocas. Mus. Cs. Nat.** Caracas. 13: 1-7. 1969.
- [16] MACMANUS, J.; MOWRY, R. W. **Técnica histológica**. Atika. Madrid, 447 pp. 1968.
- [17] MOODIE, G. E. Observations on the life history of the caecilians *Typhlonectes compressicaudus* (Dumeril Bibron) in the amazon basin. **Can. J. Zool.** 56: 1005-1008. 1998.
- [18] MOITRA, M.; SINGH, O. K.; MUNSHI, J.S.D. Microanatomy and cytochemistry the gastrorespiratory tract of an air-breathing cobitid fish, *lepidocephalichthys guntea*. **Jap. J. of Ichthyol.** 36: 227-231. 1989.
- [19] MORRISON, C. M.; WRIGHT, J. R. A study of the histology of the digestive tract of the Nile Tilapia. **J. of Fish Biol.** 54: 597-606. 1999.
- [20] PARK, J. Y.; KIM, I. S. Histology and mucin histochemistry of the gastrointestinal tract of the mud loach, in relation to respiration. **J. of Fish Biol.** 58: 861-872. 2001.
- [21] PARKER, H. Viviparous Caecilians an amphibian phylogeny. **Nature**. 178: 250-252. 1956.
- [22] PAZ-CASTILLO, J. Aspectos histológicos del tracto digestivo de *Tropidurus peruvianus peruvianus*. **Rev. Per. Biol.** 1(2): 159-163. 1974.
- [23] PÉFAUR, J.; SIERRA, N.; PÉREZ, R.; GODOY, F. Aspectos biológicos de una población de cecilios de los andes venezolanos. **Acta Zool.** 41: 67-74. 1992.
- [24] RADA, D. R.; BELLO, R. Morfología e histología del sistema digestivo de la larva *Pseudis paradoxus caribensis* Gallardo, 1961 (Amphibia: Pseudidae). **Inheringia**. 02: 69-91. 1988.
- [25] REIS, R. Histology of the small and large intestine of the common green snake. **Wasmann Col.** 5: 81-88. 1954.
- [26] ROZE, J. Una nueva especie de cecilias (Amphibia: Gymnophiona) para Venezuela. Con notas sobre los géneros *Cthonerpeton* y *Typhlonectes*. **Acta Biol. Venez.** 3(17): 280-282. 1963.
- [27] ROZE, J.; SOLANO, H. Resumen de la familia Caeciliidae (Amphibia: Gymnophiona) de Venezuela. **Acta Biol. Venez.** 3(9): 287-300. 1963.
- [28] SCOCCO, P.; MENGHI, G.; CECCARELLI, P. Histochemical differentiation of glicoconjugates occurring in the tilapine intestine. **J. of Fish Biol.** 53: 39-48. 1997.
- [29] TAYLOR, E. **The Caecilians of the world: A taxonomic review**. University of Kansas Press. Lawrence. 848 pp. 1968.
- [30] VAN DER, H. G.; VISSER, J.; VAN DER, L. M. The ultrastructure of spermatozoon of the *Typhlonectes natans* (Gymnophiona: Typhlonectidae). **J. of Herpetol.** 25 (4): 441-447. 1991.
- [31] WAKE, M. H.; CASE, S. M. The chromosomes of caecilian (Amphibia: Gymnophiona). **Copeia**. 3: 510-516. 1975.
- [32] WEICHERT, C. K.; PRESCH, W. **Elementos de anatomía de los Cordados**. 2nd ed. McGraw-Hill, México, 531 pp. 1981.