

ULTRASTRUCTURA DEL TEGUMENT DE LES LARVES NAUPLIS I DE LA FASE COPEPODET DE MYTILICOLA INTESTINALIS STEUER, COPEPODE PARÀSIT (CRUSTACEA: COPEPODA)

N. Mercadé *

Rebut: juliol 1981

RÉSUMÉ

Ultrastructure du tégument des larves nauplius et de la phase copépodite du copépode parasite *Mytilicola intestinalis* Steuer (Crustacea: Copepoda)

On résout l'ultrastructure du tégument des uniques phases de vie libre du copépode parasite ***Mytilicola intestinalis*** Steuer, c'est à dire, les larves: nauplius, métanauplius et copépodite. L'épiderme est formée principalement par des cellules épithéliales typiques, qui sécrètent la cuticule; des cellules épithéliales intermédiaires entre la cuticule et les fibres musculaires; et d'autres cellules sécrétrices, d'interprétation difficile, en relation probablement avec les phénomènes de la mue; et parsemés entre les antérieures on trouve aussi, dans le nauplius, des mioblastes.

La cuticule, d'une épaisseur maximum de 0,7 μm , présente une ultrastructure simple: épicuticule, procuticule et couche membraneuse. La première se subdivise en plusieurs niveaux; la procuticule est formée par une seule région stratifiée en couches parallèles que, sous une coupe oblique, donnent une image en arceaux. On discute la possible infra-structure de la procuticule comparée à celle d'autres copépodes. Pas toutes les régions de la larve possèdent les deux parties de la cuticule; ainsi, l'on fait un étude de la cuticule «sclérifiée» ou dure qui compose la plus grande partie du corps et celle de l'«articulaire» ou flexible, uniquement épicuticulaire.

On compare la cuticule de ces larves libres avec celle de l'adulte parasite étudiée par DURFORT (1973).

Le texte est accompagné d'images au microscope électronique à balayage et à transmission de toutes les structures étudiés.

* Departament de Morfologia Microscòpica. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Avgda. Diagonal, 645. Barcelona, 28.

INTRODUCCIÓ

L'estudi del tegument * ocupa una posició central dins la biologia dels artròpodes. «La cutícula és una membrana no cel·lular, heterogènia, secretada per cèl·lules epidermiques, i forma la pell i l'esquelet de l'animal» (HACKMAN, 1971). No costa gaire fer-se una idea de la importància de la cutícula repassant algunes de les seves funcions: determina la forma de l'animal i el protegeix del medi ambient; capta els estímuls de l'entorn ja que pren part en la formació de quasi tots els òrgans dels sentits; reforça les parts bucals i tapissa els conductes d'excreció de moltes glàndules, a la vegada que el proctodeu i estomodeu; és lloc d'ancoratge de la musculatura parietal; intervé en la regulació del balanç hídric (MARY & KRISHNAN, 1974); pot exercir funcions respiratòries; i en alguns casos pot servir com a reserva d'aliment, com succeeix durant l'època de muda i quan manquen determinats recursos nutritius, en què les capes més internes són absorbides per l'animal. Tot això fa que es trobi força literatura sobre el tema, tant en l'aspecte morfològic, com pel que fa a la composició química. Pot arribar a establir-se una estructura química i morfològica bàsiques pel tegument de tots els artròpodes: una capa externa molt prima, anomenada epicutícula, no quitinosa, sinó lipoproteica (HACKMAN, 1971) i una altra, generalment estratificada, que fou anomenada procutícula per RICHARDS (1951), de naturalesa quitinoproteica, sovint dividida en subcapes. Però els crustacis presenten una variabilitat dins aquest esquema general que va des d'una cutícula dura, calcificada, rígida i gruixuda en els decàpodes, fins a la cutícula totalment flexible i prima d'alguns copèpodes. No hi ha dubte que aquests canvis responen a una necessitat adaptativa de les espècies.

Els copèpodes constitueixen un grup particularment interessant a l'hora d'estudiar aquesta variabilitat, donat que han conquerit una multitud d'hàbitats i han adoptat nombroses formes de vida: des de la lliure fins al més estricte endoparasitisme. Així, BOULIGAND (1966), després d'estudiar la cutícula de diversos copèpodes ciclopoïds lliures, semiparàsits i paràsits,

conclou que els primers tenen una cutícula constituïda sempre segons una mateixa arquitectura, però pel que fa als paràsits, molt deformats, l'epicutícula pateix profundes modificacions, resultants de les adaptacions a la vida lligada a l'hoste.

La composició química també pot alterar-se, encara que és un aspecte molt més desconegut. KANNUPANDI (1976, 1977), troba en *Pennella elegans* (copèpode que viu parcialment introduït a l'hoste), una composició diferent en la cutícula que es troba dins els teixits de l'hoste, de la que es troba deslligada d'ell.

Mytilicola intestinalis Steuer és l'espècie que ens ocupa en el present treball. És un copèpode paràsit del músculo, considerablement deformat. Fins a adquirir la forma adulta passa per 10 estadis larvaris: els tres primers són lliures (planctònics), els set últims són paràsits forçosos del músculo. DURFORT (1976) fa l'estudi del tegument de l'adult i una interpretació de la seva morfologia envers el parasitisme. L'interès d'aquest treball és resoldre l'ultraestructura del tegument de les fases lliures per tal de comparar amb l'adult paràsit les modificacions sofertes i aportar noves dades a un camp relativament desconegut com és la ultraestructura d'òrgans de larves de copèpode.

Els tres estadis larvaris lliures de *M. intestinalis*, corresponen a les fases: naupli, metanaupli i copepodet (figs. 1, 2, 3), la metamorfosi de les quals es porta a terme en unes 40 hores. Els resultats que es presenten a continuació corresponen, en bona part, a moments d'intermuda (diecdisi), és a dir, no es tractaran els canvis morfològics de la cutícula derivats dels processos de muda, cosa que es farà en un treball a part.

TERMINOLOGIA

L'estudi morfològic dels estrats cuticulars en els Crustacis (sobretot els Decàpodes), ha aportat una sèrie de noms per a designar cadascun d'ells que confon aparentment a l'hora de consultar bibliografia. De les dues capes fonamentals, la més externa —epicutícula—, és respectada per tots els autors, però la interna (subdividida sovint en altres zones), ha estat reiteradament batejada. CHARMANTIER (1978) fa una comparació dels noms emprats per autors destacats, des de DRACH (1939), fins

* S'entén per tegument la cutícula, que és pròpiament l'exosquelet, i l'epidermis.

a LOWER (1964). Així, doncs, d'aquesta segona capa, Drach en diu endocutícula i la divideix en: capa pigmentària, capa principal i capa membranosa. El segon autor en diu: procutícula dividida en: zona pigmentada (o exocutícula), zona calcificada (o mesocutícula) i zona membranosa (o endocutícula). Com es veu, un mateix mot pot referir-se a conceptes diferents.

Donat que els copepodòlegs consultats, en una gran majoria, utilitzen el terme procutícula, faré servir aquesta terminologia en un intent d'unificació, si més no, en el camp dels copepodes. Hi ha una altra raó: en aquestes larves només es dona una capa, a part de l'epicutícula, per tant, aquells noms que fan referència a la localització (endo-, meso-, exo-, etc.) serien inadequats.

MATERIAL I MÈTODES

Els tres tipus de larves s'obtenen mitjançant cultius dels sacs d'ous de la femella, en aigua de mar filtrada, dipositada en petites plaques de Petri de 5 cm de diàmetre, estèrils. L'aigua, cal renovar-la diàriament. Les femelles s'extrauen de la glàndula digestiva de musclos procedents de Galícia. Un cop es tenen els sacs ovígers en el cultiu, es controla periòdicament l'eclosió dels ous, que no és simultània. Primer neix un naupli; de 12 a 20 hores després muda a metanaupli, i en un temps semblant passa a copepodet (figs. 1, 2, 3).

Les observacions al microscopi òptic s'han efectuat en viu i a partir de talls semifins (0,5-1 μm), tenyits pel blau de metilè a l'1 %. Això vol dir que el procés tècnic per a l'obtenció dels talls ha estat el mateix que per a microscòpia electrònica de transmissió. Fixació en glutaraldehid al 2,5 % en tampó Sørensen o cacodilat, barrejat al 50 % en aigua de mar del cultiu (2 hores) a 4° C, rentat en tampó, postfixat amb tetraòxid d'osmi a l'1 %, igualment tamponat, i rentat amb aigua destil·lada. Contrastat amb acetat d'uranil al 2 % (2 hores), rentat amb aigua destil·lada, i deshidratació seguint les dilucions habituals amb alcohol etílic. La inclusió s'ha fet preferentment amb Epon, i també amb Araldit, prèviament tractades les mostres amb òxid de propilè. El contrast final s'ha fet amb citrat de plom, preparat segons el mètode de REYNOLDS (1963).

Els talls s'han efectuat amb un ultramicrotòmm Reichert mod. UM. 2, i les obser-

vacions en un microscopi electrònic de transmissió Phillips-200 M.

Per observar amb el microscopi d'escombratge, se segueix el mateix procés esmentat fins a arribar a l'alcohol etílic. Posteriorment se submergeix en dilucions d'alcohol absolut més acetat d'amil fins a arribar a l'acetat d'amil pur. Se sotmet al punt crític i es metallitza amb or. Hem fet servir un microscopi Cambridge. Tots els aparells pertanyen al Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

OBSERVACIONS

El tegument de les tres fases larvàries pot observar-se al microscopi òptic a partir de talls semifins, però amb certes dificultats d'interpretació. La cutícula no és més que una línia envoltant el cos, dins la qual no és possible descriure cap particularitat (cal tenir en compte que el gruix arriba als 0,76 microns [$1\mu\text{m}$] com a màxim).

L'epidermis, de 10 a 20 μm de gruix, presenta una afinitat tintorial diferent segons es tracti d'una o altra part del cos. Possiblement sigui degut a diferents moments fisiològics dels territoris epidèrmics a l'hora de secretar la cutícula per mudar. Aquest fenomen no és el mateix en el temps per les diferents regions del cos. Està formada per una o dues capes cel·lulars com a màxim. Els nuclis són ben visibles encara que els límits cel·lulars són difícils de precisar a moltes zones. La forma de les cèl·lules és predominantment cúbica, si bé adopten formes diverses en funció del lloc on es troben: les dels apèndixs cefàlics són aplanades, mentre que les esofàgiques són prismàtiques. La làmina basal és pràcticament inobservable.

POLARITAT DEL TEGUMENT: MICROSCÒPIA D'ESCOMBRATGE (*scanning*)

L'aspecte de la cutícula en les tres fases larvàries observades al microscopi d'escombratge és el d'una estructura «arrugada», si es vol d'una imatge «estrellada»; sobretot en els nauplis, on no hi ha segmentació del cos. En el copepodet, l'arrugament és més palès a les zones intersegmentàries. En una primera interpretació, podríem concloure que és la traducció de les unitats cel·lulars de l'epidermis subja-

cent. L'estudi de la forma d'aquestes arrugues no indica polaritat, com succeeix en altres artròpodes com l'isòpode *Rocinela damnoniensis* o l'insecte *Periplaneta americana*, on les unitats cuticulars mostren una forta polaritat antero-posterior (CALS, 1973).

En canvi, la posició de l'ornamentació de tipus espínules (o denticles) arreu de la cutícula i fonamentalment sobre els límits tergalis intersegmentaris, així com la direcció presa per totes les sedes, àdhuc els cilis, denoten una forta polaritat antero-posterior pel que fa al cos, i pròxim-distal pels apèndixs. Podem pensar en l'existència de gradients metamèrics comparables als gradients coneguts en embriologia, tal com ja apuntava WIGGLESWORTH (1940).

De tota manera, no descartem la possibilitat que les imatges d'aquestes arrugues no corresponguin exactament amb els límits cel·lulars epidèrmics i pugui tractar-se d'algun artefacte tècnic (retracció del cos per efecte dels alcohols, etc.); però és evident que com a mínim es repeteix sempre la mateixa forma; per tant, són conseqüència de quelcom existent normalment en l'epidermis (figs. 4, 5).

ULTRASTRUCTURA DE L'EPIDERMIS

S'hi troben diversos tipus cel·lulars: les cèl·lules epidèrmiques (en direm típiques), les cèl·lules intermediàries de la musculatura, unes cèl·lules glandulars enigmàtiques i els mioblasts. Les dues darreres pertanyen en realitat a l'hipodermis, i no s'hi troben sempre.

a) *Cèl·lula epidèrmica típica*. Mesura uns 10 μm . Té els nuclis el·lipsoïdals (4 μm de llarg) amb la cromatina densa als electrons situada centralment i perifèricament, i posseeix un o dos nuclèols. Les cèl·lules s'uneixen per desmosomes septats (unions septades), molt abundants en la part apical. Hi ha un nombre elevat de mitocondris petits (0,50 μm) que acostumen a trobar-se prop la cutícula. Això fa pensar en una respiració cutània d'aquestes larves i també en la necessitat energètica per construir la cutícula. Pràcticament, totes les cèl·lules presenten reticle endoplàsmic rugós en diferents disposicions, amb una gran quantitat de ribosomes. Els grans espais ocupats per les vesícules ergastoplàsmiques són plens d'un

ABREVIACIONS GENERALS A LES FIGURES

- a1: primera antena; *antenne antérieure*
- a2: segona antena; *antenne postérieure*
- ar: nivell de la cutícula en zona articular; *niveau de la cuticule en zone articulaire*
- c: cutícula; *cuticule*
- ep: epidermis; *épiderme*
- es: nivell de la cutícula en zona esclerificada; *zone sclérifiée de la cuticule*
- gl: cèl·lula glandular enigmàtica; *cellule sécrétrice énigmatique*
- md: mandíbula; *mandibule*
- mi: mitocondri; *mitochondrie*
- mu: musculla; *musculature*
- p: procutícula; *procuticule*
- t: nivell de la cutícula en zona de transició; *zone de transition de la cuticule*

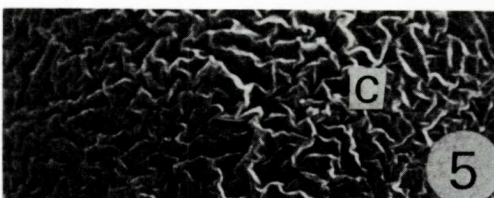
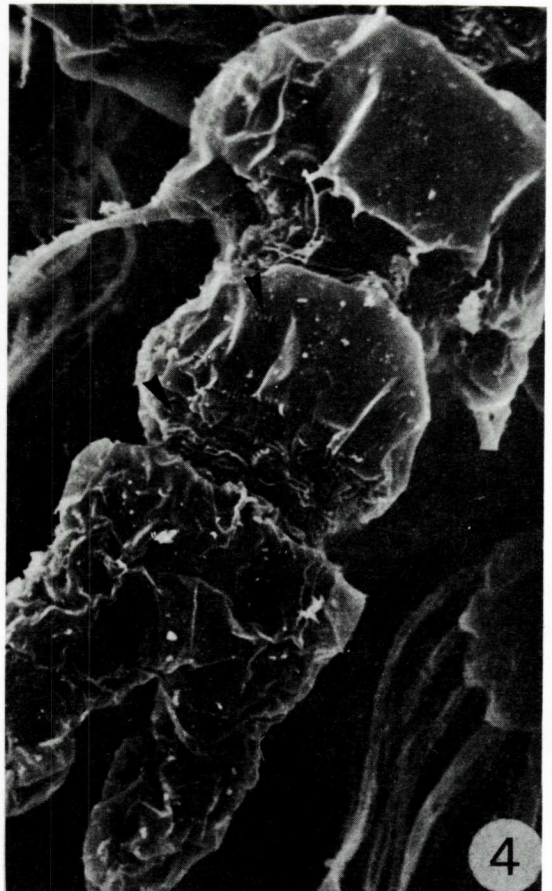
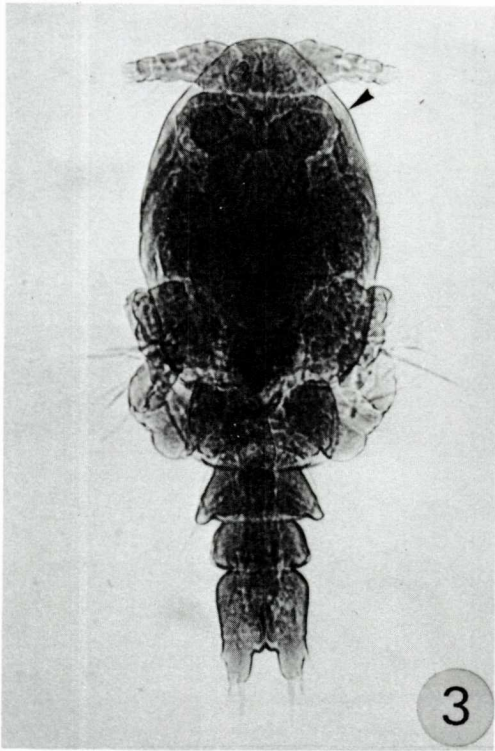
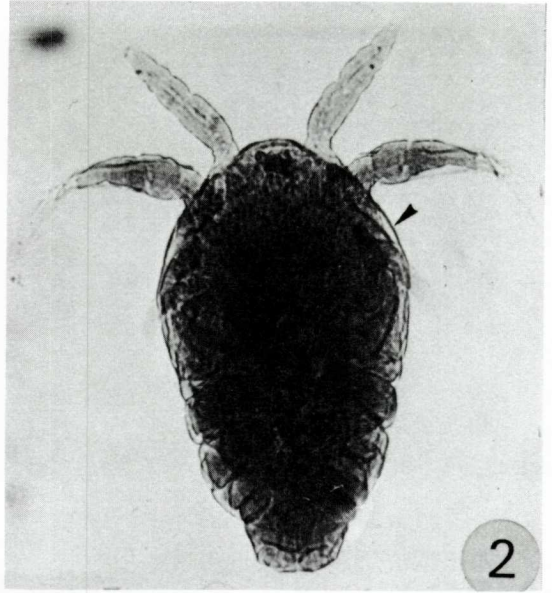
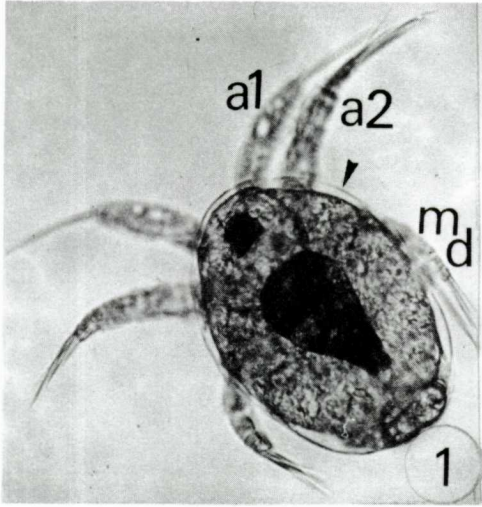
FIG. 1. Naupli: exemplar viu. Es veu per transparència la cutícula despresada del cos, ja que és un exemplar pròxim a la muda (fletxa). 200 x. Nauplius: observation vitale d'une larve prochaine à la mue. On voit la vieille cuticule déjà écartée du corps (flèche). 200 x.

FIG. 2. Metanaupli: exemplar osmificat. La mandíbula queda amagada pel cos. La cutícula s'observa com una línia fosca limitant el cos (fletxa). 250 x. Métanauplius: exemplaire fixé au OsO₄. On observe la cuticule comme un trait obscur qui entoure tout à fait le corps (flèche). 250 x.

FIG. 3. Copepodet: exemplar osmificat. Comparant-lo amb l'anterior es veu la important metamorfosi que ha sofert. La cutícula és un xic més gruixuda que en els nauplis, si bé en aquest augment no pot apreciar-se. 250 x. Copépodite: exemplaire fixé au OsO₄. La cuticule est un peu plus épaisse que dans les phases larvaires précédentes, mais il n'est pas possible de l'observer. 250 x.

FIG. 4. Urosoma del copepodet. Les regions intersegmentals estan més arrugades que no pas les tergalis. Es veuen petites espínules arreu de la cutícula. Microscopi electrònic d'escombratge. 1025 x. Urosome du copépodite. La surface des zones intersegmentaires est plus ridée que celle du reste du corps. La présence de denticles sur la cuticule des segments est bien apparente. Microscope électronique à balayage. 1025 x.

FIG. 5. Aspecte de la cutícula externa d'un naupli. Possiblement l'arrugament tradueix els límits cel·lulars de l'epidermis. Correspon a l'abdomen ventral. Microscopi electrònic d'escombratge. 1132 x. Cuticule de la surface abdominale d'une larve nauplius. Les ridées possiblement sont la traduction des limites des cellules épidermiques. Microscope électronique à balayage. 1025 x.



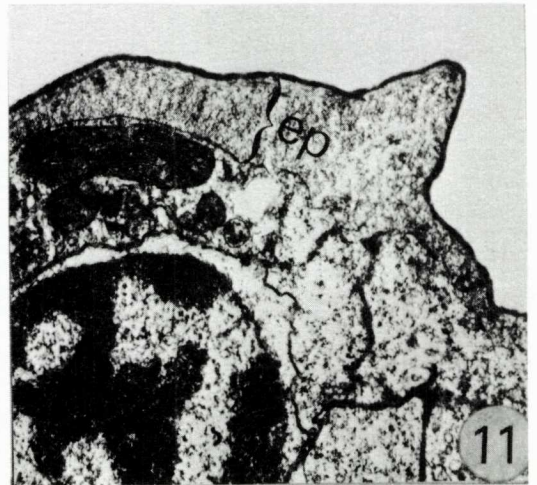
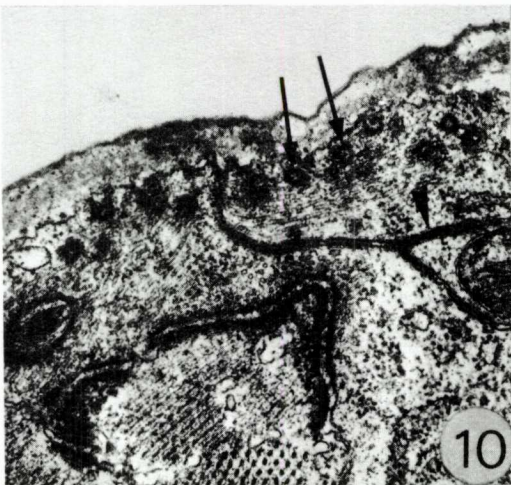
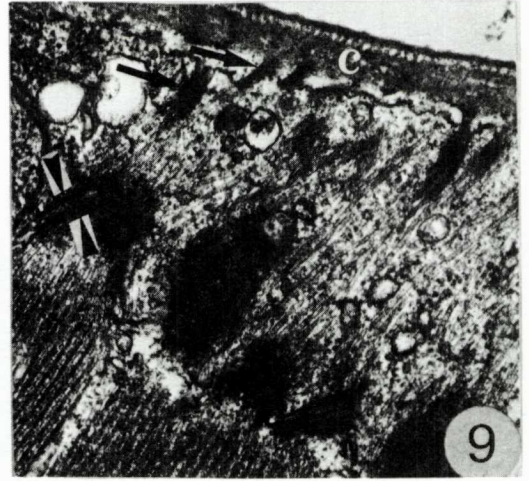
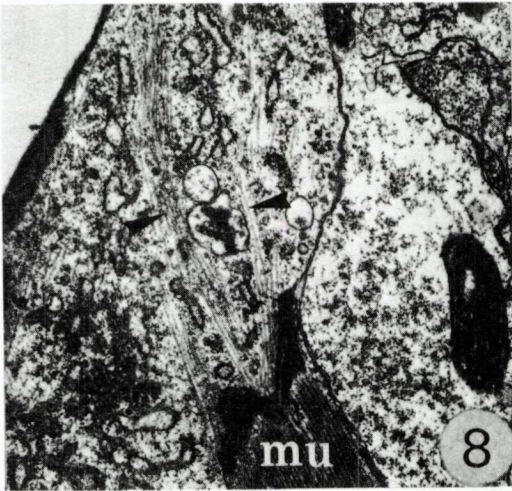
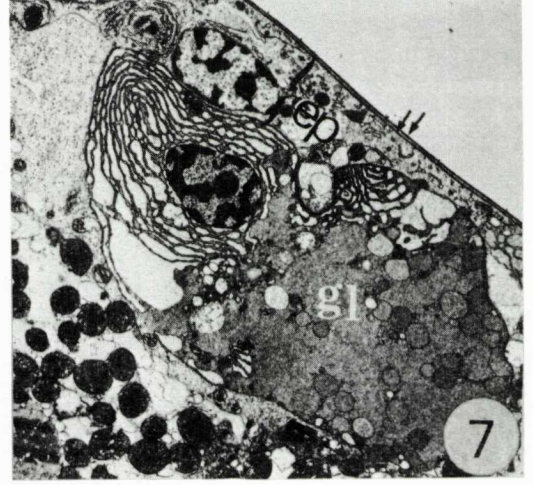
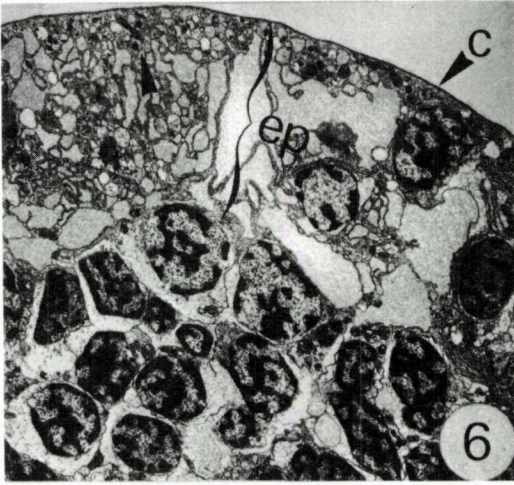


FIG. 6. El tegument: epidermis i cutícula. Gran quantitat de reticle endoplasmàtic rugós i grànuls de secreció (fletxa). Són cèl·lules epidermiques típiques. Naupli. Ultraestructura. 2600 x.
Le tégument: épiderme et cuticule. Il y a un ergastoplasme très abondant et des grains à sécrétion (flèche). Les cellules épidermiques sont assez typiques. Nauplius. Ultrastructure. 2600 x.

FIG. 7. Cèl·lula glandular enigmàtica. Per damunt d'ella hi ha la cèl·lula típica secretora de la cutícula. S'hi veuen dues cutícules, per tractar-se d'un exemplar pròxim a la muda (dues fletxes). Naupli. Hipodermis. Ultraestructura. 3640 x.
Cellule sécrétrice énigmatique situé au niveau de l'hypodérme. On peut voir deux cuticules (vieille et nouvelle) parce que c'est un exemplar dans le période de proedysis (deux flèches). Nauplius. Hypodérme. Ultrastructure: 3640 x.

FIG. 8. Cèl·lula intermediària muscular: unió de la cutícula amb la fibra muscular estriada. Molts microtúbuls orientats en una mateixa direcció (fletxes), reticle rugós, vesícules i cossos multivesiculars. Hi ha dues miofibrilles fent el zig-zag característic. Naupli. Ultraestructura. 16.900 x.
Cellule épidermique qui assure la jonction mécanique entre la cuticule et les fibres musculaires striées. Parsemé par le cytoplasme il y a des microtubules orientées a une seule direction (flèches). Ergastoplasme, vesicules et corps multivesiculaires. Voyez le trait scaleriforme correspondant aux dispositifs de jonction des myofibrilles. Nauplius. Ultrastructure. 16900 x.

FIG. 9. Densificacions entorn les invaginacions que fa la membrana apical de les cèl·lules intermediàries musculars (fletxes llargues). Dins les invaginacions es veu també un material dens que s'uneix amb la procutícula. Dipòsit de material dens als electrons, a banda i banda de les membranes musculars, i cèl·lula intermediària (fletxes curtes). Metanaupli. Ultraestructura. 38.220 x.
Autour des invaginacions du plasmalemma apical des cellules intermédiaires musculaires il y a un matériel dense aux électrons (flèches longues), et dans l'invagination il y a aussi un matériel qui s'attache avec la procuticule. Les membranes des deux cellules, épidermique et musculaire, sont épaissies et séparées par un intervalle plus ou moins constant (flèches courtes). Métanauplius. Ultrastructure. 38.220 x.

FIG. 10. Tall transversal de les invaginacions de la imatge anterior (fletxes llargues). Desmosoma septat, molt freqüent en les unions entre totes les cèl·lules epidermiques (fletxa curta). Copepodet. Ultraestructura. Pota abdominal. 35.840 x.
Coupe transversale des invaginacions de la figure antérieure (flèches longues). «Union septée» (septate desmosome) (flèche courte). Copepodite. Ultrastructure. Patte thoracique. 35.840 x.

FIG. 11. Zona articular. La cutícula només és formada per epicutícula. La seva capa profunda és molt desenvolupada (material fibro-granulós). Copepodet. Ultraestructura. 17.280 x.
Zone articulaire de la cuticule (plus souple et moins épaisse); formée seulement par l'épicuticule. On voit la couche inférieure de l'épicuticule très large. Copepodite. Ultrastructure. 17.280 x.

contingut fibrogranulós de mitjana densitat als electrons (fig. 6). Hi ha multitud de vesícules (400 Å) i grànuls de secreció (0,20 µm) sempre prop de la cara cuticular. Els grànuls presenten diferents estadis de concentració del material secretat. La gran quantitat d'aquests grànuls va lligada amb l'existència de vesícules de tipus vesiculós. Deuen estar relacionats amb els processos de formació cuticular. També s'hi troben cossos multivesiculars. La làmina basal és tan prima que en molts indrets passa del tot desapercebuda.

b) *Cèl·lula intermediària de la musculatura* (figs. 8, 9, 10). És més estreta que la típica. Situada en les zones d'ancoratge de les fibres musculars, fa de pont entre la cutícula i la musculatura parietal. En la part apical (cuticular) de la cèl·lula presenta una sèrie d'invaginacions on van a parar grups de microtúbuls que travessen tota la cèl·lula (fig. 9). Dins les invaginacions hi ha material dens als electrons que es fusiona amb el material cuticular. La membrana de la cara basal adopta una forma en zig-zag, calcant la forma de la cèl·lula muscular subjacent. Cada dent correspon a una miofibrilla. Ambdós entallaments tenen una marcada densificació a banda i banda; l'espai que les separa és d'uns 280 Å.

Les invaginacions de la part apical en secció transversal apareixen com a cercles que no s'han de confondre amb altres estructures (fig. 10).

També s'hi troben vesícules derivades del reticle endoplasmic rugós, cossos multivesiculars i ribosomes, però la característica inequívoca és l'elevada quantitat de microtúbuls d'uns 150 Å, orientats en una mateixa direcció. No hem observat nuclis.

c) *Cèl·lula glandular enigmàtica*. Present no sols a l'epidermis sinó també en la regió cefàlica interna. Són més aviat hipodèrmiques, perquè sempre damunt d'elles n'hi ha una altra d'epidermica, però tan prima que dona la impressió d'estar situada a l'epidermis (fig. 7). Són grans (20 µm), amb el nucli desplaçat a un costat de la cèl·lula i envoltat per ergastoplasma; tota la resta està ocupada per un contingut de secreció de mitjana densitat als electrons, retingut en vesícules o lliure. Són de difícil interpretació funcional, si bé podrien ser sintetitzadores d'algun producte que en ser lliurat a l'exterior faci-

lités l'exuviació. La qual cosa pot pensar-se donat que es troben molt desenvolupades, en estadis pròxims a l'exuviació. En la fig. 7 s'observa com ja hi ha les dues cutícules.

d) *Mioblasts*. Són freqüents sobretot en la fase naupli. També se situen en un nivell hipodèrmic. Presenten les característiques normals d'aquest tipus celular, és a dir, un nucli voluminos desplaçat per l'organització de les proteïnes musculars de tipus fibrillar presents en el citoplasma.

ULTRASTRUCTURA DE LA CUTÍCULA

Dins un mateix exemplar, el gruix de la cutícula no és ben uniforme, ni tampoc la seva ultraestructura. Això succeeix en les tres fases larvàries.

Cal distingir la cutícula de protecció, completa i consistent, que ocupa la major part del cos, de la cutícula flexible i prima situada en les articulacions o en zones on és necessària més permeabilitat. Seguint la nomenclatura de BOULIGAND (1966), de la primera en diem «esclerificada» i de la segona «articular». L'esclerificada és formada per epicutícula i procutícula, i l'articular només per epicutícula. És evident que hi ha zones de transició entre l'una i l'altra on s'aprecia com va disminuint la procutícula de la part esclerificada per donar pas a l'increment de l'epicutícula de la zona articular (fig. 13).

Epicutícula. Es presenta com una capa molt densa als electrons, normalment d'uns 160 a 190 Å (figs. 14, 15). En el seu interior pot diferenciar-se, de fora a dins: una línia d'uns 20 Å molt densa als electrons, una de clara també d'uns 20 Å, una altra de més ampla, fins a 190 Å, altre cop densa als electrons (fig. 15). A continuació pot haver-hi o no una quarta capa d'un material fibro-granulós que pot arribar a ser de 0,5 µm de gruix en les zones articulars (figs. 11, 12). Aquests quatre nivells corresponen als e1, e2, e3, e4 trobats per GHARAGOZLOU (1973) en *Cletocamptus retrogressus*. L'orientació del tall ha de ser molt perpendicular per poder trobar totes aquestes capes.

Procutícula. En les tres fases larvàries és caracteritzada per una regió única, present només en les zones esclerificades, que

fa $0,33 \pm 0,10 \mu\text{m}$ en els nauplis i metanauplis, i $0,50 \pm 0,20 \mu\text{m}$ en els copepodets. Aquestes mesures poden variar segons el moment de la muda, però aquestes dades fan referència al gruix màxim que un exemplar pot arribar a tenir.

L'orientació del tall és definitiva a l'hora de verificar la ultraestructura de la procutícula. Pot presentar-se com una capa homogènia, però si el tall és ben transversal, es veuen una sèrie d'estrats paral·lels, d'elevada densitat als electrons, que van des de 12 estrats en el naupli fins a 25 en el copepodet (fig. 15). La distància entre els estrats és de 250 Å aproximadament. Dins



FIG. 12. Zona articular. Només epicutícula. Són estructures per augmentar la superfície permeable. Es troben prop de la regió mandibular. Copepodet. Ultraestructura. 17.280 x. La zone articulaire presente uniquement l'epicuticule. C'est une structure pour augmenter la surface perméable. Région mandibulaire du copepodite. Ultrastructure. 17.280 x.

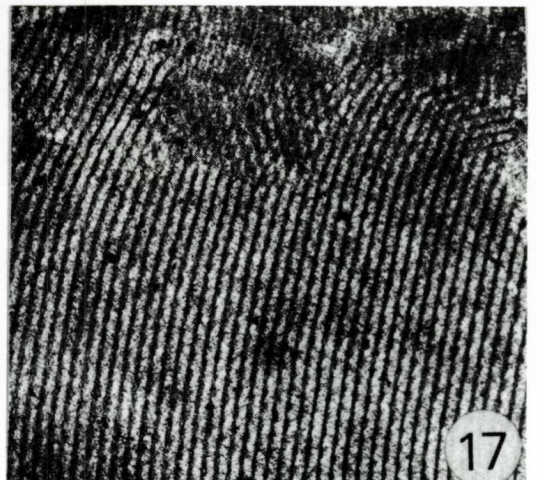
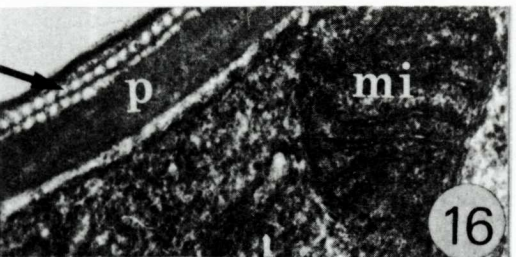
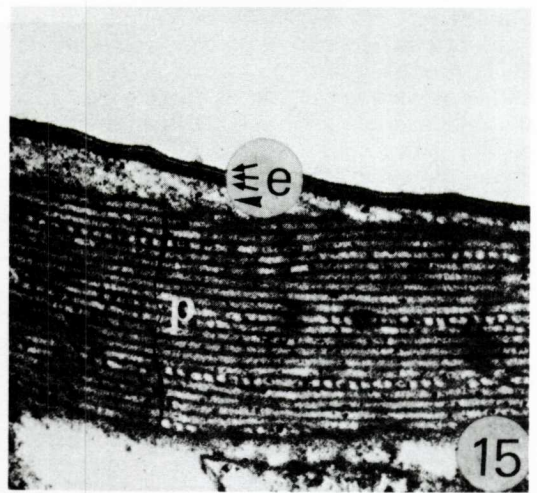
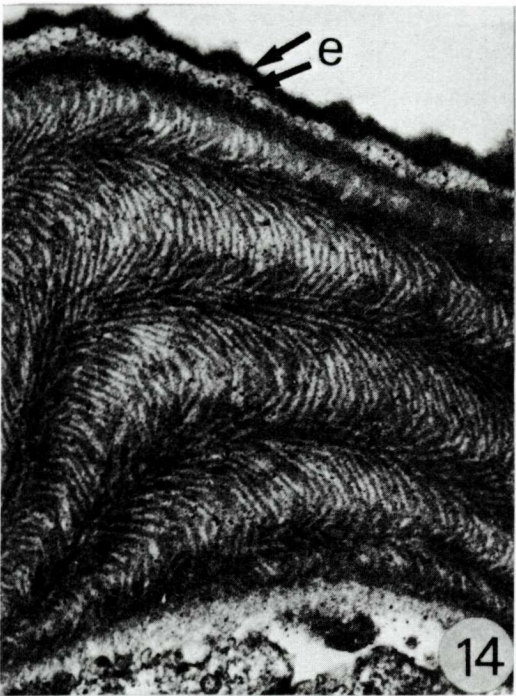
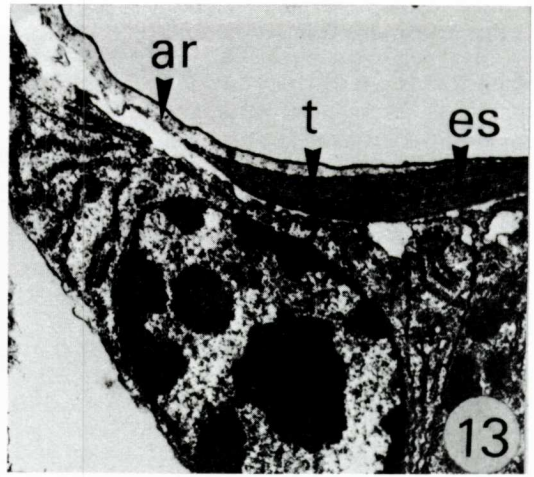
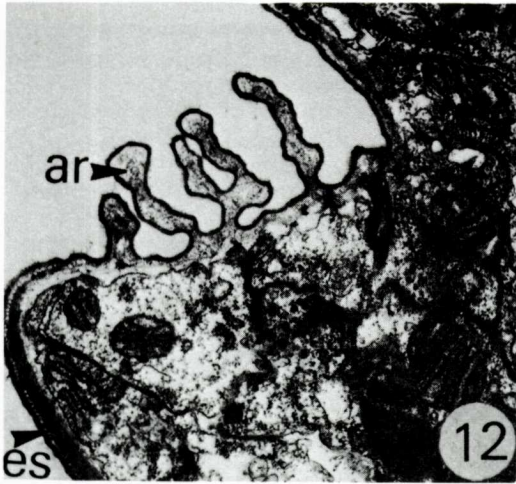
FIG. 13. Zona de transició. S'observa el progressiu increment de la capa profunda de l'epicutícula contra el descens de la procutícula. Copepodet. Ultraestructura. 12.160 x. Zone de transition entre une zone articulaire et celle «scléifiée». Copépodite. Ultrastructure. 12.160 x.

FIG. 14. Tall oblic de la cutícula esclerificada. La procutícula mostra una disposició en arcades. Cada arc és constituït per la seqüència de quatre nivells d'elements fibrillars que van voltant uns 120° cada vegada. Copepodet. Ultraestructura. 47.040 x. Coupe oblique de la cuticule «scléifiée». Aspect en arcades de la procuticule. On peu voir que chaque arc est constitué par quatre niveaux d'elements fibrillaires non curvés et qu'ils présentent une rotation de 120°. Copépodite. Ultrastructure. 47.040 x.

FIG. 15. Tall perpendicular de cutícula esclerificada. Es posen de manifest els quatre nivells de l'epicutícula i els estrats de la procutícula. Copepodet. Ultraestructura. 62.080 x. Coupe perpendiculaire de la zone «scléifiée». On peut voir les quatre niveaux de l'epicuticule et la procuticule stratifiée. Copépodite. Ultrastructure. 62.080 x.

FIG. 16. Aspecte homogeni de la procutícula, però amb estructures rodones a la part superior. Aspect homogène de la procuticule, mais avec des figures rondes à la part supérieure.

FIG. 17. Tall tangencial d'un dels estrats que formen la procutícula. Metanaupli. Ultraestructura. 67.200 x. Coupe tangentielle d'un des strates qui forment la procuticule. Métanauplius. Ultrastructure. 67.200 x.



aquest espai (clar als electrons), s'hi observa a vegades una seqüència de rodones, en diversos estrats o bé solament a la part superior (figs. 15, 16). Aquestes rodones deuen ser el resultat de l'especial organització del material que forma els estrats, que segons l'orientació del tall es posa o no de manifest.

Fins a arribar a la capa membranosa que descansa sobre la cèl·lula epidèrmica, hi ha un espai procuticular, no estratificat, granulós, que oscil·la entre els 800 Å i els 1.500 Å.

El tall oblic dóna una imatge a base d'arcades, que no són contínues sinó formades per l'oposició d'elements llargs i estrets que en anar canviant d'angle (uns 120°) van configurant una volta. Cada arcada és formada per quatre d'aquests elements fibril·lars (fig. 14), que mesuren uns 210 Å de diàmetre.

El tall tangencial d'un sol dels estrats de la procutícula dóna com a resultat que cada estrat a la vegada és format per filaments paral·lels corbats. Cada filament té 50 Å i estan separats uns 230 Å. Dins els espais de separació hi ha un material granulós. El tall s'ha obtingut gràcies a la corbatura de la cutícula de la primera antena d'un metanaupli (fig. 17).

Capa membranosa. Només amb alta resolució pot veure's que la procutícula no descansa directament sobre la membrana de les cèl·lules epidèrmiques, sinó que hi ha una altra membrana, pròpia de l'exosquelet, dita capa membranosa, molt densa als electrons, d'uns 199 Å de gruix, fàcilment confusible amb el plasmalemma. Presumiblement és de naturalesa glicoproteica.

ALGUNES ESTRUCTURES PARTICULARS A NIVELL DE CUTÍCULA

Els apèndixs cefàlics: antènula, antena i mandíbula, presenten la cutícula esclerificada ja descrita, però les sedes ornamentals, així com les espínules, tenen solament epicutícula; com si es tractés d'una cutícula de tipus articular. També en la regió del labre de copèpode es troba aquest tipus de cutícula.

DISCUSSIÓ I CONCLUSIONS

Cèl·lules pròpiament epidèrmiques, només serien les anomenades típiques i les intermediàries musculars, ambdues secretores de la cutícula.

Les cèl·lules epidèrmiques típiques de les fases larvàries de *M. intestinalis*, difereixen de les de l'adult (DURFORT, 1976), en la manca total de glicogen, en la morfologia dels mitocondris i en la presència de grànuls de secreció relacionats amb la secreció cuticular. Són iguals pel que fa al desenvolupament del reticle endoplasmàtic i a la presència d'un o dos nuclèols en nuclis relativament voluminosos.

Les cèl·lules intermediàries musculars són d'estructura pràcticament igual a les trobades en altres copèpodes adults (GHARAGOZLOU & BOULIGAND, 1973). Lògicament són larves nedadores i tenen perfectament desenvolupat el sistema muscular.

Les cèl·lules secretores enigmàtiques i els mioblasts, pertanyen a l'hipoderma. Una interpretació correcta de les primeres obliga encara a estudis histoquímics i morfològics, que s'estan fent simultàniament.

En les tres fases larvàries la cutícula no és essencialment diferent; només cal destacar que en el copepodet la procutícula és més gruixuda i és molt més organitzada.

No existeixen canalicles, ni estructures semblants que travessin la cutícula i comuniquin amb l'epidermis.

L'epicutícula de les larves i la de l'adult són diferents. En les larves pot afirmar-se que és com la dels artròpodes en general, per tant, lipoproteica. En canvi en l'adult (DURFORT, 1976) no es distingeixen els nivells observats i, a més, és rica en mucopolisacàrids. Penso que pot tenir una aplicació adaptativa. L'adult per fer front a l'acció dels enzims de l'hoste té mucopolisacàrids àcids (MONNE, 1959; CROMPTON, 1963; ROTHMAN & ELDER, 1970; KANNUPANDI, 1976), en tant que les larves de vida lliure tenen l'epicutícula normal, per afrontar les necessitats de regulació hídrica i iònica (YONGE, 1936; MARY & KRISHNAN, 1974).

La procutícula de larves i adults consta d'una sola capa i no de dues o tres com en altres copèpodes o crustacis en general. Ara bé, en l'adult hi ha una manca total d'estratificació en la procutícula. En les larves, en canvi, la procutícula és com la trobada en subcapes procuticulars d'altres

copèpodes adults (GHARAGOZLOU *et al.*, 1973, 1975, 1976; BOULIGAND, 1966). Pot concloure's, doncs, que la cutícula de l'adult és una adaptació al parasitisme i que les larves tenen un model de cutícula molt simplificat, però seguint el d'altres copèpodes.

Quant a la infraestructura de la procutícula, per tal d'explicar les imatges en arcades, o les rodones dins els estrats paral·lels, etc., comparteixo la interpretació donada per GHARAGOZLOU (1976), que rectifica alguna cosa i completa la donada per BOULIGAND (1966), si bé penso que les estructures «paracristal·lines» del primer autor són orientacions especials de la procutícula, concretament un tall tangencial d'un dels estrats, i no formacions rares trobades a vegades.

AGRAÏMENTS

He de donar les gràcies d'una manera especial a la doctora M. Durfort, per tot l'ajut inestimable que m'ha brindat. També als tècnics en microtòmia i fotografia M. Almudena Garcia i Lluís Reynaldo. Al doctor Robert Bargalló per la resolució dels problemes tècnics, i a Ramon Fontarnau, responsable de la secció d'escombratge.

BIBLIOGRAFIA

BOULIGAND, Y. 1966. Le tégument de quelques copépodes et ses dépendances musculaires et sensorielles. *Mem. Muséum Natl. Hist. Nat., Paris*, 40: 189-206.

CALS, PH. 1973. Polarité antéro-postérieure du tégument des Arthropodes. Apport du microscope de balayage dans l'analyse des structures cuticulaires à l'échelle cellulaire. *C. Rend. Acad. Sc. Paris*, 277 (D): 1021-1024.

CHARMANTIER, G. 1978. *La mue de puberté et la senescence chez les males de Sphaeroma serratum (Fabricius, 1787) (Crustacea, Isopoda, Flabellifera): Ecologie, métabolisme, endocrinologie*. Thèse doctorale. Université de Montpellier.

CROMPTON, D. W. T. 1963. Morphological and histochemical observations on *Polymorphus minutus* with special reference to the body wall. *Parasitology*, 53: 633-685.

DRACH, P. 1939. Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes. *Annls. Inst. Océan. Monaco*, 19: 103-391.

DURFORT, M. 1976. Estructura y ultraestructura del tegumento de *Mytilicola intestinalis* Steuer (Crustacea, Copepoda). *Miscelánea Zoológica*, III (5): 69-77.

GHARAGOZLOU VAN GINNEKEN, I. D. & BOULIGAND, Y. 1973. Ultrastructures tegumentaires chez un Crustacé Copépe, *Cletocamptus retrogressus*. *Tissue & Cell*, 5 (3): 413-439.

GHARAGOZLOU VAN GINNEKEN, I. D. & BOULIGAND, Y. 1975. Studies on the fine Structure of *Porcellidium*, Crustacea, Copepoda. *Cell Tiss. Res.*, 159: 399-412.

GHARAGOZLOU VAN GINNEKEN, I. D. 1976. Particularités morphologiques du tégument des Peltidiidae (Crustacés Copépodes). *Arch. Zool. exp. gén.*, 117: 411-422.

HACKMAN, R. H. 1971. The integument of Arthropoda. In: *Chemical Zoology*. Ed. by M. Florin & B. T. Scheer, 6, B: 1-62. Acad. Univ. Press. New York.

KANNUPANDI, T. 1976. Cuticular adaptations in two parasitic copepods in relation to their modes of life. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 22: 235-248.

KANNUPANDI, T. 1977. The composition and nature of cuticular proteins in parasitic copepods. *Acta histochem.*, 60: 10-17.

LOWER, H. F. 1964. The Arthropod integument. *Sonderdr. Studium gen.* 5: 275-288.

MARY, R. F. & KRISHNAN, G. 1974. On the nature and role of protein constituents of the cuticle of crustaceans in relation to permeability of the cuticle. *Marine Biol.*, 25: 299-309.

MONNE, L. 1959. On the external cuticle of various helminths and their role in the host parasite relationship. *Ark. Zool.*, 12: 343-358.

REYNOLDS, E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17: 208-212.

RICHARDS, A. G. 1951. *The integument of Arthropods*. University of Minnesota Press. Minneapolis.

ROTHMAN, A. H. & ELDER, J. E. 1970. Histochemical nature of an acanthocephalan, a cestode and a trematode absorbing surface. *Comp. Biochem. Physiol.*, 33: 745-762.

WIGGLESWORTH, V. B. 1940. The physiology of Insect Metamorphosis. *J. Exp. Biol.*, 17: 180-200.

WIGGLESWORTH, V. B. 1954. *The physiology of Insect Metamorphosis*. Cambridge Univers. Press.