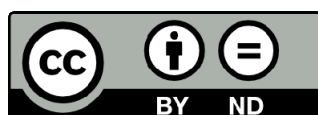




UNIVERSITAT DE
BARCELONA

**La glàndula digestiva en *Palaemonetes zariquieyi*
(Crustacea, Decapoda): estudi ultraestructural**

Elena Sagristà i Mateo



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència *Reconeixement- SenseObraDerivada 4.0. Espanya de Creative Commons.*

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia *Reconocimiento - SinObraDerivada 4.0. España de Creative Commons.*

This doctoral thesis is licensed under the *Creative Commons Attribution-NoDerivatives 4.0. Spain License.*

Universitat de Barcelona

Facultat de Biologia

*La glàndula digestiva en Palaemonetes zariquieyi (Crustacea,
Decapoda): estudi ultraestructural.*

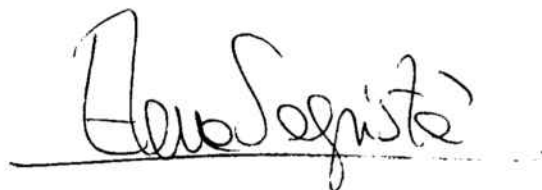
*Memòria realitzada per
Elena Sagristà i Mateo
per obtenir el Grau de
doctor en Biologia.*



El director de la Tesi

Prof. Dra. Mercè Durfort i Coll.

*Catedràtica de la Unitat de Biologia Cel·lular (Departament de
Bioquímica i Fisiologia), de la Facultat de Biologia de la
Universitat de Barcelona.*



Barcelona, maig de 1988

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0700182592

TRIBUNAL

PRESIDENT

Dra. Montserrat Poquet
Dept. Bioquímica i Fisiologia. Unitat de Biologia
Cel.lular.
Facultat de Barcelona.
Universitat de Barcelona.

VOCALS

Dr. Celestino Barastegui
Dept. Anatomia.
Facultat de Medicina.
Universitat de Barcelona.

Dra. Ruth Ferrer
Dept. Bioquímica i Fisiologia de la nutrició.
Facultat de Farmacia.
Universitat de Barcelona

Dr. Gabriel Palacios
Dept. Biologia Cel.lular.
Facultat de Medicina.
Universitat Autònoma de Bellaterra.

Dr. Francesc Sardà
Institut de investigacions pesqueres.
(C.S.I.C.)

SUPLENTS

Dr. Pablo Hervas
Dept. Biologia Cel.lular.
Fac. Biologia.
Universitat Autònoma de Bellaterra.

Dr. Senen Vilaró
Dept. Bioquímica i Fisiologia. Unitat de Biologia
Cel.lular.
Fac. Biologia.
Universitat de Barcelona.



La memòria present ha estat possible gràcies a la col.laboració de força persones. A totes elles el meu reconeixement.

L'agraïment més sincer i afectuós a la Dra. Mercè Durfort i Coll per la seva acurada direcció, i les seves encertades orientacions. El seu entusiasme, encoratjament, confiança constant han estat fonamentals per a seguir endavant.

A la Dra. M.C. Ruiz de Villa, del Departament d'Estadística de la Facultat de Biologia, pel seu assessorament i ajut en el tractament estadístic de les dades morfomètriques.

Al Dr. Francesc Sardà de l'Institut d'Investigacions Pesqueres (C.S.I.C.) pel seu consell en la caracterització dels períodes de muda.

A Maite Mitjavila per la seva col.laboració en les tècniques enzimàtiques.

A tots els membres del Servei de Microscòpia electrònica, en especial al Dr. R. Bargalló, al Dr. J. Lopez, a R. Fontarnau, pel seu assessorament tècnic.

A Almudena García per la seva elevada professionalitat en el camp de la ultramicrotomia. A Elisenda Coll per la seva assistència en el maneig de l'equip IBAS.

A l'equip del Dr. A. Sostoa: Eloisa, Marta i Víctor; del Departament de Zoologia de la Facultat de Biologia per la seva contribució en l'obtenció de les mostres.

A Manel Navarro, per la seva acurada correcció del manuscrit.



Als companys de departament per la seva ajuda constant i reconfortant amistat que en tot moment m'han sabut demostrar.

A la meva família li agraiixo l'ajuda i l'estímul que m'han proporcionat. A Manel, Caterina i Adrià, i a tots aquells que m'han ajudat en les últimes èpoques facilitant-me unes condicions de treball favorables.

Per últim recordar els mestres i companys que m'iniciaren en la tècnica histològica, i que varen saber transmetre'm el gust per les coses ben fetes: Maria A. Cayuela, Dr. M. Márquez, Dr. G. Palacios, Dr. J. Rubió.

Als meus pares.

Al Manel,

per tot.

INDEX

1. INTRODUCCIO.....	1
1.1. INTRODUCCIO HISTORICA.....	1
1.2. OBJECTIUS.....	19
2. MATERIAL I METODES.....	24
2.1. CARACTERISTIQUES DE LA ESPECIE ESTUDIADA.....	24
2.1.1. POSICIO SISTEMATICA.....	24
2.1.2. DISTRIBUCIO GEOGRAFICA.....	25
2.1.3. HABITAT: DESCRIPCIO DELS AMBIENTS AQUATIC DEL DELTA DE L'EBRE.....	29
2.1.3.1. AIGUA DOLÇA.....	29
2.1.3.2. AIGÜES SALABROSES.....	30
2.1.4. CARACTERISTIQUES MORFOLOGIQUES EXTERNES DE L'ESPECIE.....	32
2.1.4.1. CUTICULA	32
2.1.4.2. CICLE DE MUDA.....	37
2.1.4.2.1. DETERMINACIO DELS ESTADIS DEL CICLE DE MUDA	38
2.2. OBTENCIO DELS EXEMPLARS.....	43
2.3. METODOLOGIA I TECNIQUES D'ESTUDI.....	44
2.3.1. ESTUDI ANATOMIC: LUPA.....	44
2.3.2. MICROSCOPIA OPTICA	45
2.3.2.1. FIXACIO, INCLUSIO I TINCIO.....	45
2.3.2.2. TECNIQUES SOBRE SECCIONS SEMIFINES	49
2.3.3. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISSIO: PROCES- SAT DEL MATERIAL.....	51
2.3.3.1. METODE HABITUAL.....	51
2.3.3.1.1. FIXACIO.....	51
2.3.3.1.2. INCLUSIO.....	52



2.3.3.1.3.	ULTRAMICROTOMIA.....	53
2.3.3.1.4.	CONTRASTAT.....	54
2.3.3.2.	TECNiques ESPECIFIQUES	55
2.3.3.2.1.	TECNICA DEL NITRAT DE LANTA.....	55
2.3.3.2.2.	TECNICA DEL PIROANTIMONIAT.....	57
2.3.3.2.3.	TECNICA DE L'ACID TANNIC.....	58
2.3.3.2.4.	TECNICA AMB OSMI-TIOCARBOHIDRACIDA- OSMI (O.T.O.).....	58
2.3.3.2.5.	TECNICA DE PROLONGADA OSMIFICACIO.	60
2.3.3.2.6.	TECNICA DE LA FOSFATASA ACIDA.....	60
2.3.3.2.7.	METODE DE THIERY.....	61
2.3.3.2.8.	TECNICA DEL P.T.A.....	62
2.3.3.2.9.	TECNICA DE BERNHARD.....	63
2.3.3.2.10.	CAPTACIO D'OR COL.LOIDAL.....	63
2.3.4.	MICROSCOPIA ELECTRONICA DE RASTREIG.....	66
2.3.4.1.	METODOLOGIA PER FRAGMENTES D'HEPATOPAN- CREAS.....	66
2.3.4.2.	METODOLOGIA PER SECCIONS SEMIFINES.....	67
2.3.5.	MICROANALISI: SISTEMA EDAX.....	70
2.3.6.	ESTUDI MORFOMETRIC.....	71
2.3.6.1.	OBTENCIO DE LA IMATGE.....	72
2.3.6.2.	ANALISI ESTADISTICA	74
	RESULTATS.....	77
3.	ANATOMIA E HISTOLOGIA DE L'APARELL DIGESTIU:GENERALITATS.	77
3.1.	ESTOMODEU.....	77
3.2.	MESENTERON.....	84

4. HISTOLOGIA DE L'HEPATOPANCREAS.....	85
5. ULTRAESTRUCTURA DE L'HEPATOPANCREAS.....	89
5.1. ELEMENTS EXTERIORS ALS TUBULS EPITELIALS DE L'HEPATOPANCREAS	89
5.1.1. FIBRES MUSCULARS.....	89
5.1.2. VASOS SANGUINIS.....	91
5.1.3. ELEMENTS CEL·LULARS ENTRE ELS TUBULS DE L'HEPATOPANCREAS.....	93
5.1.3.1. CEL·LULES AMB INCLUSIONS.....	93
5.1.3.2. CEL·LULES AGRUPADES: FAGOCITS.....	94
5.1.3.3. CEL·LULES GRANULOSES.....	95
5.2. EPITELI DELS TUBULS DE L'HEPATOPANCREAS.....	97
5.2.1. LAMINA BASAL	97
5.2.2. CONTACTES INTERCEL·LULARS.....	97
5.2.3. CEL·LULES E (EMBRIONARIES).....	100
5.2.4. Cèl·lules R (ABSORBENTS).....	104
5.2.4.1. CARACTERISTIQUES GENERALS.....	104
5.2.4.2. REGIO APICAL.....	105
5.2.4.3. CONDRIOMA.....	107
5.2.4.4. COSSOS DENSOS.....	109
5.2.4.5. DILATACIONS DE L'ESPAI INTERCEL·LULAR...111	
5.2.4.6. INCLUSIONS PRAPLASMÀTIQUES.....	113
5.2.4.7. NUCLI I REGIO PERINUCLEAR.....	115
5.2.4.8. RETICLE ENDOPLASMÀTIC.....	115
5.2.4.9. COMPLEX DE GOLGI.....	116
5.2.4.10. REGIO BASAL.....	118

5.2.5. CEL·LULES F (FIBRIL·LAR).....	123
5.2.5.1. CARACTERISTIQUES GENERALS.....	123
5.2.5.2. REGIO APICAL.....	124
5.2.5.3. CONDRIOMA.....	125
5.2.5.4. RETICLE ENDOPLASMATIC.....	126
5.2.5.5. COMPLEX DE GOLGI.....	127
5.2.5.6. NUCLI I REGIO PERINUCLEAR.....	128
5.2.6. CEL·LULES B (VACUOLADES).....	130
5.2.6.1. CARACTERISTIQUES GENERALS.....	130
5.2.6.2. REGIO APICAL.....	130
5.2.6.3. CONDRIOMA.....	132
5.2.6.4. REGIO SUPRANUCLEAR.....	133
5.2.6.5. NUCLI I REGIO PERINUCLEAR.....	134
5.2.6.6. REGIO BASAL.....	135
5.2.7. CEL·LULES ENDOCRINES.....	137
5.2.7.1. CARACTERISTIQUES GENERALS.....	137
5.2.7.2. NUCLI.....	137
5.2.7.3. CITOPLASMA.....	138
5.3. ANALISI ESTADISTICA DE LES VARIABLES MORFOMETRIQUES. RESULTATS I DISCUSSIO.....	140
5.3.1. DIAMETRE MAXIM DEL CITOPLASMA.....	140
5.3.2. DIAMETRE MINIM DEL CITOPLASMA.....	141
5.3.3. DIAMETRE MAXIM DEL NUCLI.....	142
5.3.4. DIAMETRE MINIM DEL NUCLI.....	142
5.3.5. AREA CITOPLASMA, AREA NUCLI, AREA NUCLI/AREA CITOPLASMA.....	143

6. DISCUSSIO I CONCLUSIONS	
6.1. CARACTERISTIQUES GENERALS DE L'HEPATOPANCREAES.....	154
6.1.1. HEMOCITS.....	154
6.1.2. FIBRES MUSCULARS.....	158
6.2. CAPA EPITELIAL.....	161
6.2.1. CONTACTES INTERCEL·LULARS.....	161
6.2.2. TIPUS CEL·LULARS EPITELIALS.....	168
6.2.2.1. CEL·LULES E (EMBRIONARIES).....	168
6.2.2.2. CEL·LULES R (ABSORBENTS).....	173
6.2.2.2.1. SUPERFICIE APICAL.....	173
6.2.2.2.2. CONDRIOMA.....	175
6.2.2.2.3. LISOSOMES.....	177
6.2.2.2.4. REGIO PERINUCLEAR.....	183
6.2.2.2.5. ABSORCIO LIPIDICA.....	184
6.2.2.2.6. INLUSSIONS PARAPLASMATIQUES.....	195
6.2.2.2.7. REGIO BASAL	201
6.2.2.3. CEL·LULES F (FIBRIL·LARS).....	207
6.2.2.3.1. CARACTERISTIQUES GENERALS.....	207
6.2.2.3.2. CONDRIOMA.....	207
6.2.2.3.3. COS RESIDUAL.....	208
6.2.2.3.4. SINTESI I SECRECIO ENZIMATICA....	210
6.2.2.4. CEL·LULES B (VACUOLADES).....	217
6.2.2.5. CEL·LULES ENDOCRINES.....	226
7. CONCLUSIONS GENERALS.....	231
8. BIBLIOGRAFIA.....	i-xxix
9. ICONOGRAFIA	

INDEX TAULES

Taula I.- Nomenclatura dels tipus cel·lulars de l'hepatopàncreas en els decàpodes segons autors.....	21
Taula II.- Esquemes de les seqüències de diferenciació cel·lular en l'hepatopàncreas dels decàpodes.....	22
Taula III.- Enzims localitzats en l'hepatopàncreas dels decàpodes. Resum tret de Gibson i Barker (1979).....	23
Taula IV.- Resum composició i etapes de formació de les capes de la cutícula.....	36
Taula V.- Resum nomenclatures de les capes de la cutícula...	36
Taula VI.- Nombre de cèl·lules mesurades segons el tipus cel·lular i el tall	73
Taula VII.- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació per la variable diàmetre màxim citoplasma.....	144
Taula VIII.- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació de la variable diàmetre mínim del citoplasma.....	145
Taula IX .- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació per la variable àrea citoplasma.....	146
Taula X.- Valors de mitjana, desviació tipus i coeficient de variació per la variable diàmetre màxim del nucli.....	147
Taula XI.- Mitjana, desviació tipus, coeficients de variació de la variable diàmetre mínim del nucli.....	148
Taula XII.- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació de la variable àrea del nucli.....	149
Taula XIII.- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació de la variable àrea nucli / àrea citoplasma.....	150
Taula XIV .- Taula de comparació múltiple de la variable diàmetre màxim del citoplasma.....	151
Taula XV .- Taula de comparació múltiple de la variable diàmetre mínim del citoplasma.....	151
Taula XVI.- Taula de comparació múltiple de la variable diàmetre màxim del nucli.....	152

Taula XVII.- Taula de comparació múltiple de la variable diàmetre mínim del nucli.....152

Taula XVIII.- Origen tanny i funció principal de les lipoproteïnes del plasma.....192

INDEX FIGURES

Figura I.- Esquema general d'un túbul de l'hepatopàncreas realitzat per Jacobs (1929).....20

Figura II.- Mapa del Delta de l'Ebre, estan marcades les zones on Chinchilla i Comín (1977) localitzen Palaemonetes zariquieyi.....27

Figura III.- Mapa del Delta de l'Ebre, estan marcades les zones on estan marcats les zones on s'han recolectat Palaemonetes zariquieyi per el present estudi28

Figura IV.- Esquema de les capes de la cutícula en període d'intermuda.....35

Figura V.- Períodes generals que constitueixen el cicle de muda.....42

Figura VI.- Esquema de cefalotòrax de Palaemonetes zariquieyi, on veiem la regió de cutícula estreta per afavorir la penetració del fixador.....48

Figura VII.- Esquema de les cèl.lules epitelials dels túbuls de l'hepatopàncreas.....136

Figura VIII.- Esquema de l'absorció de lípids en enteròcits de vertebrats.....193

Figura IX.- Esquema del procés de l'absorció lipídica en les cèl.lules R de l'hepatopàncreas.....194

Figura X.- Esquema de gota lipídica de les cèl.lules R de l'hepatopàncreas i òrgans relacionats.....200

INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIO

1.1. INTRODUCCIO HISTORICA

La presència d'una glàndula digestiva associada a l'intestí mitjà és un tret comú de tots els Crustacis, llevat d'alguns grups, com els Copèpodes o els Amfípodes que tant sols tenen un parell de túbuls intestinals cecs.

En el grup dels Decàpodes la glàndula digestiva presenta un màxim desenvolupament. En aquest ordre està constituïda per gran quantitat de túbuls que acaben cecs i que ocupen gran part del volum del cefalotòrax. Es tracta de túbuls formats per cèl.lules de tipus epitelial, recolzats sobre una làmina basal i envoltats, amb certa periodicitat, per fibres musculars circulars. Entre els túbuls es troben diversos elements cel.lulars del teixit connectiu i de l'hemolinfa, així com elements vasculars.

La glàndula digestiva, en els decàpodes, és coneguda preferentment amb el nom d'**hepatopàncreas**, encara que, des que s'inicià el seu estudi, a finals del segle passat, ha rebut d'altres noms. Així en els treballs inicials se l'anomenava **fetge**, degut a què en els primers estudis s'hi reconegué una semblança amb el fetge dels vertebrats, doncs el producte secretat per aquesta glàndula fou relacionat amb la formació de pigments biliars (Weber, 1880). Posteriorment s'establí que els productes de secreció d'aquesta glàndula eren semblants als secretats pel pàncreas dels vertebrats (Huxley, 1880). Així rebé el nom de

pàncreas i més tard el d'hepatopàncreas.

En els estudis fets en espècies de l'ordre dels decàpodes, han estat donades altres denominacions a aquesta glàndula, la relació de noms és la següent: fetge, pàncreas, glàndula de l'intestí mitjà, glàndula gàstrica, glàndula digestiva, cecs anteriors, diverticle digestiu, òrgan digestiu, òrgan entèric o hepatopàncreas. Malgrat ésser el terme hepatopàncreas el més emprat actualment, cal dir que aquest nom ens pot induir a error si creiem que indica una analogia quant a funcions i morfologia amb el fetge i el pàncreas dels vertebrats. Van Weel (1974) revela que, degut a les diferents característiques de la glàndula digestiva dels decàpodes i el fetge i pàncreas presents en els vertebrats, creu més encertat denominar-la glàndula de l'intestí mitjà.

En aquest treball utilitzarem, com a sinònims, hepatopàncreas i glàndula digestiva, en tant que són les denominacions més emprades.

Els treballs realitzats sobre l'hepatopàncreas es polaritzen en dos aspectes: uns eminentment bioquímics i els altres de caire histològic. Tots ells tracten de conèixer i establir millor les funcions d'aquesta glàndula.

Els treballs de caire histològics de la glàndula digestiva dels decàpodes s'iniciaren l'any 1880, quan Huxley descriu l'estructura tubulosa del "fetge" del cranc de riu Astacus fluviatilis. Al mateix any, Weber (1880) distingeix en els túbuls epitelials que constitueixen aquest òrgan, dos tipus de cèl.lules

diferents: cèl.lules que tenen gotes lipídiques en el seu citoplasma, que denomina "Lebertzellen" (cèl.lules hepàtiques) i cèl.lules que contenen grossos vacuols: "Fermentzellen" (cèl.lules amb ferments o enzims).

Més tard **Frenzel** (1884), identifica els dos tipus cel.lulars descrits per **Weber**, i palesa que les "Fermentzellen" es tenyeixen amb colorants bàsics i que el seu citoplasma exhibeix un aspecte estriat o fibrilar. Indica la presència d'un altre tipus cel.lular que té el citoplasma fibrilar però no té els vacuols típics de les "Fermentzellen" contenint sols un petit vacuol. Així mateix aquest autor assenyala que les divisions mitòtiques es localitzen només a la part distal dels túbuls.

Cuènot (1893) és un dels autors que es manifesta clarament a favor d'una funció absorbent d'aquest òrgan, indicant que l'absorció dels nutrients es realitza en el tram de l'intestí mitjà i en l'hepatopàncreas, úniques zones del tram digestiu que no presenten una recoberta cuticular. Anteriorment altres autors, com **Frenzel** (1884), opinaven que donada la poca superfície que tenia l'intestí mitjà, normalment en els decàpodes té un recorregut rectilini i curt, l'absorció dels nutrients es realitzava també en les zones del tub digestiu recobertes per la cutícula, argumentant la possible presència de petits porus en la cutícula que permetrien el pas i l'absorció de substàncies.

Aquest autor també observa els dos tipus cel.lulars descrits anteriorment, anotant, però que les "cèl.lules amb ferments" i els seus voluminosos vacuols, tenen també una funció excretora.

Aquesta hipòtesi es basa en la següent experiència: després d'injectar blau de metilè en l'hemocel de l'animal, i passat un cert temps, els vacuols d'aquestes cèl·lules contenen gran quantitat de colorant; al cinquè dia, el colorant es localitza a la cavitat de l'estómac, per a la seva posterior eliminació amb els excrements.

Saint-Hilaire (1892) corrobora aquesta idea. Ell opina que el "fetge" de les gambetes estudiades és una glàndula amb funcions digestives. Demostra la presència d'enzims amb propietats digestives i assenyala la possibilitat que, en aquest òrgan, hi tinguin lloc, també, processos d'absorció de nutrients. Indica, alhora, una tercera funció: l'excretora, en apuntar que el producte de secreció eliminat, normalment, per aquesta glàndula és comparable als pigments biliars, encara que ambdós presentin diferents característiques químiques.

Guleysse (1907) realitzà un extens treball comparatiu de l'òrgan entèric de diverses espècies de decàpodes. Estudià gran nombre, d'espècies, tant del grup de reptàntia com natàntia ⁽¹⁾ : Calanus, Palinurus, Palaemon, Carcinus, Portunus, Squilla, Helleria, i Orchestia. Assenyala les següents particularitats en aquest òrgan:

- l'aliment passa a la zona de la glàndula digestiva fins a l'interior dels oecs dels túbuls.

1.- En l'actualitat els criteris taxonòmics sobre els Decàpodes s'han modificat i no se subdivideixen en Reptàntia i Natàntia. Alguns autors, però utilitzen encara aquests grups taxonòmics per la qual cosa hem mantingut l'ús d'aquesta nomenclatura.

- és en els túbuls que constitueixen aquesta glàndula on té lloc la digestió i l'absorció de l'aliment.

- s'acumulen substàncies de reserva: principalment lípids i glicogen.

- reté les substàncies verinoses que posteriorment elimina. En aquest sentit, realitzaria una funció desintoxicadora semblant a la del fetge dels vertebrats.

Són molt interessants les experiències de **Guieysse** respecte a l'absorció d'aliments. Després de mantenir l'animal durant unes hores amb tinta xinesa o blau de metilè, els dos colorants es veuen a les cèl.lules vacuolades, mentre que utilitzant vesuvina (colorant que actualment ja no subministren les cases comercials) l'absorció té lloc a totes les cèl.lules hepatopancreàtiques. **Guieysse** indica que si les substàncies a absorbir no són fàcilment assimilables, és possible una digestió en el vacuol, essent separades i eliminades posteriorment les substàncies tòxiques.

Deflandre (1905) posà també de manifest les funcions desintoxicadores d'aquest òrgan. Després de subministrar aliment que contenia arsènic, trobà únicament el verí acumulat a les cèl.lules de l'hepatopàncreas.

Apathy i Farkas (1908) són els primers que distingeixen, clarament, quatre tipus cel.lulars en l'epiteli de l'hepatopàncreas que anomenen segons les seves característiques morfològiques i d'acord amb la seva localització: "**Fibrillenzellen**" (cèl.lules fibril.lars), "**Blasenzellen**" (cèl.lules amb forma esferoidal o amb forma de bombolla), "**Anfangzellen**" (cèl.lules

primordials) i "Alveolenzellen" (cèl.lules alveolars).

Hirsch i Jacobs (1928) també descriuen els mateixos tipus cel.lulars en l'hepatopàncreas de Astacus leptodactylus, però les anomenen diferentment: "Embryonalenzellen" (cèl.lules E), "Restzellen" (cèl.lules R), "Fibrillenzellen" (cèl.lules F), "Blasenzellen" (cèl.lules B). Posteriorment els mateixos autors denominen les "Restzellen" com a "Resorptzellen" en comprovar que són cèl.lules que presenten absorció de nutrients.

Les característiques citològiques diferencials d'aquests tipus cel.lulars, indicades breument, són les següents:

Cèl.lules E : situades en la part més distals dels túbuls, presenten mitosis. Són cèl.lules, normalment un xic més baixes que les restants.

Cèl.lules R : Cèl.lules prismàtiques que presenten en el seu citoplasma nombrosos vacuols de naturalesa lipídica

Cèl.lules F : Cèl.lules prismàtiques amb un citoplasma molt basòfil i d'aspecte fibril·lar.

Cèl.lules B : Cèl.lules molt voluminoses que presenten un citoplasma molt vacuolat.

Aquest autors també posen de manifest l'existència d'una periodicitat en la secreció d'enzims digestius, determinant una màxima secreció d'enzims a les sis hores de la ingestió d'aliment.

Actualment, la terminologia establerta per Hirsch i Jacobs (1928) és vigent i utilitzada, generalment, en tots els estudis que es realitzen sobre hepatopàncreas de decàpodes: cèl.lules E

(embrionàries), cèl.lules R (absorbents), cèl.lules F (fibril-lars), cèl.lules B (bombolla o vacuolades). Excepcions terminològiques les trobem en Pierre (1935) que localitza tres tipus cel.lulars en Pagurus : cèl.lules embrionàries, cèl.lules absorbents i cèl.lules secretores. Van Weel (1955) denomina els quatre tipus cel.lulars respectivament: **embrionàries** (cèl.lules E), **cèl.lules fosques** (cèl.lules F), **cèl.lules d'extrussió** (cèl.lules B) i **cèl.lules clares** (cèl.lules R). Pillai (1960) segueix aquesta mateixa terminologia.

Un resum de les diferents denominacions dels tipus cel.lulars es pot veure en la **TAULA I** (pag. 21).

Dorman (1928) estudia l'hepatopàncreas de Cambarus virilis descrivint la seva vascularització, injectant tinta índia en el cor. El mateix autor determinà bioquímicament la presència dels enzims digestius: tripsina, amilasa i lipasa; típics del pàncreas dels vertebrats.

Jacobs (1929) posà de manifest l'existència de tres regions diferents al llarg dels túbuls epitelials que constitueixen la glàndula digestiva. Aquestes regions són reconegudes principalment per la diferent distribució dels percentatges dels diversos tipus cel.lulars.

Localitza una Regió I, distal on majoritàriament es troben les cèl.lules E (embrionàries), també troba en aquesta regió cèl.lules R (absorbents) i cèl.lules B (cèl.lules vacuolades) poc diferenciades. La Regió II es caracteritza per la presència majoritària de cèl.lules del tipus B (vacuolades), on també s'hi

distingeixen, entre elles, cèl.lules R (absorbents) i cèl.lules F (fibril.lars). Per últim una Regio III, més proximal, en la qual el tipus de cèl.lula majoritari és el R (cèl.lules absorbents), localitzant-s'hi, també, cèl.lules F (cèl.lules fibril.lars) i cèl.lules B (cèl.lules vacuolades), algunes de les quals en estat degeneratiu. L'esquema que realitzà en el seu treball el podem veure a la **Figura I** (pag. 20).

Quant als estudis histològics efectuats en les últimes dècades no han estat molt nombrosos i pocs han utilitzat la resolució de la microscòpia electrònica. Un altre fet a remarcar és l'absència d'estudis en el grup tradicional dels Natàntia i en particular dels Caridea, al qual pertany Palaemonetes zariquieyi.

Baffoni (1965) realitza un estudi histològic de la glàndula digestiva en diverses espècies de decàpodes : Eriphia spinifrons (braquiur), Periclimenes migratorius (natàntia), Palaemon serratus (natàntia), i Potamon fluviialis.

Es el primer en fer servir la resolució del microscopi electrònic. Les característiques ultraestructurals descrites breument en aquest treball corresponen a Potamon fluviialis i palesa que les altres espècies no presenten diferències remarcables. Observa que tots els tipus cel.lulars presenten en la seva part apical els característics microvillis.

Al 1968 es realitzen dos nous treballs ultraestructurals d'aquesta glàndula. **Stainer i col.** (1968) estudien l'hepatopàncreas de Carcinus maenas (decàpoda, brachiura) i indiquen, breument, les característiques ultraestructurals de tots els

tipus cel·lulars. **Bunt** (1968) descriu els tres tipus principals (cèl·lules R, cèl·lules F, cèl·lules B) de Procambarus clarkii (Decàpoda, Reptàntia), ometent l'estudi de les cèl·lules E. És remarcable la descripció de fibres musculars, localitzades circularment als túbuls, que aquest autor descriu com cèl·lules de naturalesa mioepitelial. Cal recordar, que emprant el microscopi fotònic, alguns autors ja havien posat de manifest l'existència de fibres musculars (**Yonge**, 1924).

L'estudi ultraestructural més general i complet que hem trobat en el buidat bibliogràfic fet, és el publicat per **Loizzi** al 1971. Les espècies estudiades són Procambarus clarkii i Orconetes virilis (Decàpoda, Reptàntia).

Distingeix tres regions, com ho féu **Jacobs** (1929), en els túbuls de l'hepatopàncreas. En la regió distal hi localitza les cèl·lules E i algunes cèl·lules R i F joves, que quan migren distalment adquireixen la morfologia típica: cèl·lules R amb grosses gotes lipídiques i agrupacions de glicogen, cèl·lules F amb el reticle endoplasmàtic rugós molt desenvolupat i els aparells de Golgi constituïts per sàculs dilatats. En la regió mitjana hi ha un predomini dels tipus cel·lulars R (absorbents) i F (fibril·lars), mentre que a la regió proximal s'hi troba, majoritàriament, cèl·lules B (vacuolades), alternant amb cèl·lules R (absorbents) i cèl·lules F (fibril·lars).

Al 1971 **Loizzi** i **Peterson** completen el seu treball amb tècniques histoquímiques que posen de manifest l'existència d'activitat enzimàtica: esterases no específiques, en els vacuols

de les cèl.lules B (vacuolades) i en la part apical de les cèl.lules R (absorbents), així com a l'interior de la llum dels túbuls. Les característiques de les esterases presents a la llum del túbul i a l'interior dels vacuols de les cèl.lules B són semblant, i presenten el mateix comportament. Quan en el tub d'assaig hi ha fluoride, la activitat enzimàtica no es afectada, mentre que és inhibida en presència de sals biliars i de quinina. El comportament de l'activitat enzimàtica present a la part apical de les cèl.lules R (absorbents) és diferent: és activada en presència de fluoride, no és inhibida per les sals biliars i no és afectada per quinina. Aquest comportament palesa la presència de dos enzims diferents.

Al 1979, **Gibson i Barker** realitzen una exhaustiva revisió sobre els coneixements de l'hepatopàncreas.

Un dels principals punts de discussió, des que s'inicià el seu estudi histològic i encara actualment no resolt, és la seqüència en la diferenciació cel.lular. Es admès per tots els autors que tots els tipus cel.lulars provenen de les cèl.lules E, situades en les parts distals dels túbuls; les cèl.lules E, originant per succesives mitosis i posterior diferenciació als altres tipus cel.lulars. Cal assenyalar que **Davis i Burnet** (1964) realitzen una experiència per demostrar l'origen dels tipus cel.lulars. Incuben l'hepatopàncreas amb timidina i uridina tritiada i estableixen que totes provenen de les cèl.lules E.

Les seqüències de diferenciació descrites són diferents segons els autors i les espècies estudiades. Un resum d'aquestes

diferents opinions el trobem en la **TAULA II** (pag. 22).

Al 1980 **Johnson** publica una monografia sobre la histologia general d'un cranc Gallinectes sapidus i en el capítol dedicat a l'aparell digestiu estudia les característiques histològiques i ultraestructurals de l'hepatopàncreas, caracteritzant diferències morfològiques en relació als diferents estadis de muda.

Quant als treballs histològics més recents cal esmentar entre d'altres els de **Merril i col.** (1985) sobre la histologia de la glàndula de Cambarus robustus (Decàpoda, Reptàntia). Demostren citoquímicament la presència d'activitat peroxidàsica en els vacuols de les cèl.lules B. Observen que en el tram distal del túbul, zona on es localitzen les cèl.lules E (embrionàries), hi ha cèl.lules que presenten en el seu citoplasma petites zones peroxidasa positiva. Dedueixen que les cèl.lules B provenen d'una diferenciació de les cèl.lules F.

Un altre treball, també aparegut al 1985, i realitzat per **Al-mohana i col.** és un estudi ultraestructural d'un Decàpoda Natàntia. Té el doble interès de ser un dels pocs treballs ultraestructurals fets en el grup Natàntia, que com hem pogut observar ha estat força negligit, i descriu un nou tipus cel.lular; les cèl.lules Midget, cèl.lules M (cèl.lules menudes) escampades per la major part del túbul. Es tracte de cèl.lules petites de 6 µm, situades sempre basalment. En animals en intermuda presenten diferents estadis de desenvolupament que estan associats a la situació d'aquestes cèl.lules en les diferents zones dels túbuls.

Les cèl.lules M joves presenten un nucli gros, voltat per una fina capa de citoplasma amb ergastoplasma, complex de Golgi, ribosomes i pocs mitocondris. Les cèl.lules M situades més proximalment presenten material electrodens en el seu interior: vesícules rodones, o ovals, amb grànuls electrodens amb un zona perifèrica de reduïda electrodensitat. Aquest material electrodens ocupa la major part del volum cel.lular.

Aquestes cèl.lules no estan en contacte apicalment amb la llum del túbul, la qual cosa indicaria que els precursors dels grànuls derivarien de les cèl.lules epitelials veïnes, o de l'hemolinfa. Atorgem a aquestes cèl.lules una missió de reserva de material orgànic.

Per últim indicar un nou treball realitzat també al 1985. **Factor i Near** (1985) descriuen ultraestructuralment la capa conjuntiva i muscular de l'hepatopàncreas de Homarus americanus.

Un fet posat de manifest des de l'inici de l'estudi d'aquest òrgan, com ja hem indicat, ha estat la presència de grosses gotes lipídiques i posteriorment la de grànuls de glicogen.

La quantitat de material orgànic acumulat en aquesta glàndula presenta moltes vegades una variació cíclica que alguns autors han relacionat amb el complicat procés fisiològic que comporta el procés de la muda present en els decàpodes.

Passano (1960) indica que les reserves orgàniques s'acumulen de forma cíclica en l'hepatopàncreas i relaciona aquests canvis amb el procés de la muda: l'estadi C, període d'estabilitat entre dues mudes, està caracteritzat per una acumulació de reserves

lipídiques i glucídiques que continuen, durant els primers estadis de muda D_0 i D_1 finalitzant en l'estadi D_2 , en el qual l'animal teòricament deixa d'alimentar-se. Les reserves acumulades en aquest òrgan serien utilitzades en aquells estadis, -etapa de muda-, que l'animal no s'alimenta. Sobre aquesta qüestió, normalment admesa, cal esmentar una excel·lent filmació, realitzada per Sardà (1980), on es pot comprovar com, moments abans de l'eodissi el Nephrops norvegicus ingereix, amb afany, partícules d'aliment. Queda clar, però, que aquest aliment no serà absorbit al moment de l'eodisi; l'animal també es desprèn de la cutícula que revesteix la part anterior del tub digestiu: esòfag i estómac, per tant l'aliment acabat d'ingerir no es manté en el tub digestiu.

Lautier i Vernet (1972) assenyalen, també, una variació de la quantitat total de lípids en la glàndula digestiva segons el període de la muda. La quantitat de lípids en l'hepatopàncreas de Pachygrapsus marmoratus augmenta progressivament des del període A, període de postmuda, fins al període D_0 , inici de la muda, en el qual observen un progressiu decreixement en la quantitat de lípids.

Aquest fet indica que les reserves orgàniques acumulades en aquest òrgan són utilitzades per mantenir les necessitats energètiques i per aportar materials per a la constitució de la nova cutícula durant el període de muda.

Quant a l'estudi del procés de la muda i a canvis relacionats amb els diferents estadis, cal destacar també, el treball

realitzat per **Hubert i col.** (1978) en què remarquen diferències a nivell ultraestructural en l'hepatopàncreas de dues espècies de Natàntia: Palaemon serratus i Crangon crangon i una espècie de Reptàntia Carcinus maenas. Observen que en els períodes d'intermuda (C₄) i períodes postmuda (D) el reticle endoplasmàtic de tipus llis localitzat en la part basal de les cèl.lules epitelials presenta un diàmetre variable i és lleugerament opac als electrons, presentant pocs mitocondris en la regió basal. En canvi, en el període de premuda, el reticle endoplasmàtic llis presenta un diàmetre constant i un aspecte regular i anastomosat, amb un contingut de poca densitat electrònica, associat a la presència de nombrosos mitocondris d'aspecte cupuliform i que tenen una matriu densa als electrons.

Altres estudis bioquímics i fisiològics han determinat diferències en aquesta glàndula tant en el contingut de reserves de tipus orgànic (lípid i glicogen) com en reserves de tipus inorgànic (cúmuls de Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Fe⁺) segons el període del cicle de la muda.

Així cal assenyalar un altre aspecte de la glàndula digestiva en algunes espècies de decàpodes, el de presentar intracel.lularment ions inorgànics. Aquest fet fou posat de manifest histoquímicament per **Ogura** (1959) en localitzar cúmuls de ions de coure i de ferro en les cèl.lules R i F respectivament. Basant-se en aquest fet classificà les cèl.lules en cèl.lules amb Cu i cèl.lules amb Fe. La presència de grossos vacuols amb un alt contingut de ferro ha estat descrita en diverses espècies de

decàpodes i per diversos autors (Bunt, 1968 en Procambarus clarkii; Loizzi, 1971; Miyawaki i col. 1961; Davis i Burnett 1964).

Combinant tècniques histoquímiques i el microanàlisi de raigs X Lyon i Simkiis (1984) localitzen en l'hepatopàncreas de Austropotamobius pallipes, la presència de Mg i Cu en les cèl.lules R (absorbents), i Fe en els vacuols de les cèl.lules F (fibril.lars). Indiquen que aquests ions estan probablement units a proteïnes, i que en estudis realitzats amb material fixat convencionalment el Cu no es detecta, precipitant i detectant-se només quan realitzen una fixació amb sulfur d'hidrogen.

Un altre element inorgànic present, habitualment, en l'hepatopàncreas de determinades espècies és el ió calci. L'existència de cúmuls de calci, que formen esferocristalls en l'hepatopàncreas ha estat posada de manifest en algunes espècies, però, cal remarcar que aquest fet no és constant en tots els decàpodes, doncs en algunes espècies no s'ha localitzat (Loizzi, 1971, Gibsson i Barker, 1979).

Graf (1978) publica un treball sobre les fonts del calci en els crustacis després de mudar. Indica que l'origen del calci necessari per calcificar el nou exoesquelet està lligat a l'habitat del crustaci. Diferència dos possibles orígens del calci utilitzat per a la calcificació: calci d'origen exogen (aigua, nutrició) i de calci endogen acumulat abans de l'ecdisi, per reabsorció de la cutícula o a partir de l'aliment. L'acumulació de calci es localitza segons les espècies en: l'hepatopàn-

creas, hemolinfa, i en alguns grups de crustacis en gastrolits (Astacids), plaques externals (Isopods), o cecs posteriors (Amfipodes). Considera que en els crustacis aquàtics és més important el calci exogen, mentre que en les espècies d'habitat terrestre el calci endogen és el que predomina.

Graf (1978) indica, que en un treball previ Renaud (1949) assenyalar que el paper dels esferocristalls en el moment de la consolidació de la nova cutícula seria més qualitatiu que quantitatiu, per la presència de fosfats, necessaris per a la síntesi de quitina. Així l'hepatopàncreas seria més un lloc de reserva de fosfats que de calci. En Panulirus en l'estadi de premuda, on la major part del calci originat per la reabsorció de la cutícula, és excretat. La totalitat del fosfat reabsorbit és emmagatzemat en l'hepatopàncreas i en l'hemolinfa.

La presència d'esferocristalls eminentment calcaris, en l'hepatopàncreas ha estat demostrada en diverses espècies de decàpodes, però la seva localització no és sempre coincident.

Així cal esmentar, entre d'altres, les acumulacions càlciques descrites en les cèl.lules R, per Travis (1957), Davis i Burnett (1964), Barker i Gibson (1978), Stanier i col. (1968), Johnson (1980). En les cèl.lules B han trobat esferocristalls càlcics Becker i col. (1974), Davis i Burnet (1964). Per últim Baffoni (1965) en localitza en les cèl.lules B i R.

Les interpretacions i el sentit de la presència d'aquests ions han estat diverses. Martin (1973), que demostra bioquímicament la presència de ferro, assenyala que normalment constitueix

el nucli dels enzims i pigments, normalment de naturalesa porfirínica.

La presència de ions minerals en aquest òrgan pot tenir una doble missió: com a òrgan desintoxicador amb una missió excretora o com a òrgan de reserva, sobretot en el cas del calci acumulat o utilitzat segons l'estadi del cicle de la muda. La idea que l'hepatopàncreas actua com a òrgan desintoxicador ha estat aportada per, **Brown** 1978, entre d'altres, pel fet que animals que viuen en aigües pol.lucionades amb diferents metalls presenten en l'hepatopàncreas grans cúmuls de ions metàl.lics: Zn, Pb, Fe, Cu.

Cal indicar, però, que el procés de bioacumulació de calci amb la formació d'esferocristalls càlcics en els epitelis implicats en processos digestius, té lloc de forma bastant generalitzada en diferents grups d'invertebrats.

Han estat descrits esferocristalls càlcics en cèl.lules intestinals d'insectes (**Humbert**, 1978); en cèl.lules de la glàndula digestiva (hepatopàncreas) de moluscs (**Abolins-Krogis**, 1970; **Durfort**, 1982), en altres grups de crustacis: en els Anfípodes (**Graf**, 1966), en les cèl.lules intestinals vacuolades dels Copèpodes tant de vida lliure (**Arnaud i col.**, 1980, **Durfort**, 1981) com de règim paràsit (**Poquet**, 1982).

Overnell (1982) comprova l'existència de proteïnes de baix pes mol.lecular en l'hepatopàncreas de decàpodes, estables amb enllaços metal.lo-proteïcs semblants a les metal.lo-tionines presents en les cèl.lules d'alguns vertebrats. Els metalls associats a aquestes proteïnes són Zn, Cu i Cd.

Per últim ens cal assenyalar els nombrosos estudis bioquímics que han tractat d'establir quins tipus d'enzims digestius són presents en els decàpodes, tant en l'hepatopàncreas com en l'estómac. En podeu veure un resum dels enzims localitzats a la **TAULA III** (pag. 23).

1.2. OBJECTIUS

La problemàtica general en els estudis de la glàndula digestiva dels decàpodes i els pocs estudis realitzats en el grup dels Decàpodes Caridae, va promoure el plantejar un estudi histològic i ultraestructural de l'hepatopàncreas d'un crustaci d'aquest grup. L'espècie escollida Palaemonetes zariquieyi forma part de la fauna del nostre país essent una espècie endèmica de les costes de Llevant (Delta de l'Ebre, llacunes de Castelló).

Els objectius del treball realitzat son:

- Estudi anatòmic, histològic i ultraestructural de la glàndula digestiva, caracteritzant els models cel·lulars que constitueixen la glàndula digestiva.

- Estudi del procés absorbent en l'hepatopàncreas i del procés digestiu general en l'espècie estudiada.

- Determinar la presència de cúmuls de ions inorgànics en l'hepatopàncreas i la possible implicació de la glàndula en processos fisiològics generals com a reserva inorgànica relacionat amb el procés de muda i /o la funció detoxificadora de la glàndula.

- Desenvolupar tècniques específiques i histoquímiques que permetessin complementar l'estudi ultraestructural de la glàndula digestiva.

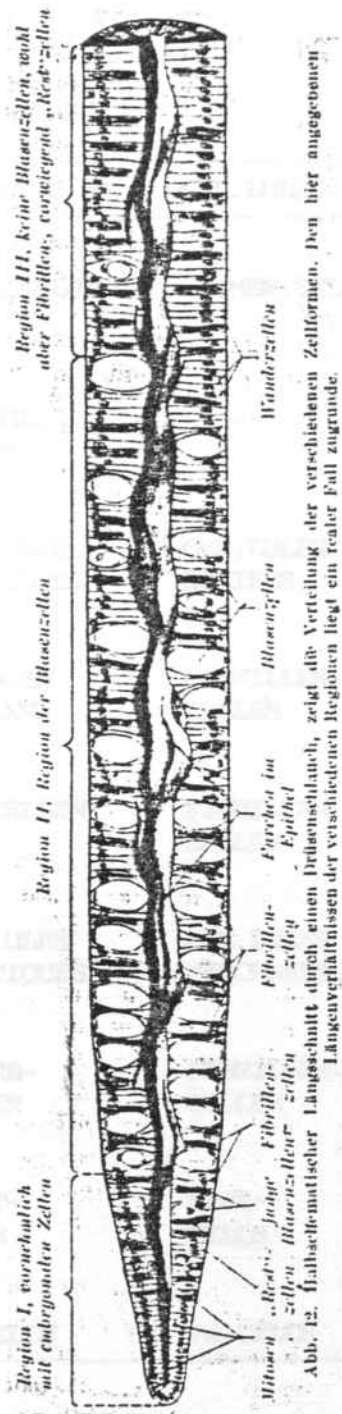
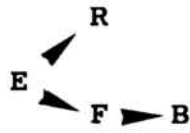


Abb. 12. Halbaxienmäßiger Längsschnitt durch einen Drüsenkanal, zeigt die Verteilung der verschiedenen Zellformen. Den hier angegebenen Längenverhältnissen der verschiedenen Regionen liegt ein realer Fall zugrunde.

FIG. I.- Esquema general d'un túbul de l'hepatopàncreas realitzat per Jacobs (1929).

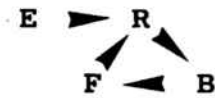
CEL.LULES E	CEL.LULES R	CEL.LULES F	CEL.LULES B	
--	LEBERZELLEN	FERMENTZELLEN	--	Weber, 1880 Frenzel, 1883
--	CEL.LULES PAROIS	--	CEL.LULES à FERMENTS	Cuenot, 1895
CEL.LULES SIMPLES	CEL.LULES GRANULOSES	CEL.LULES STRIEES	CEL.LULES VACUOLAIRES	Guieysse 1904
ANFANG- ZELLEN	ALVEOLEN- ZELLEN	FIBRILLEN- ZELLEN	BLASEN- ZELLEN	Apathy i Farkas, 1906
EMBRIONALEN- ZELLEN	RESTZELLEN	FIBRILLEN- ZELLEN	BLASEN- ZELLEN	Jacobs, 1928
	CEL.LULES HEPATIQUES	CEL.LULES PANCREATIQUES		Dorman, 1928
EMBRYONALEN- ZELLEN	RESORB- ZELLEN	FIBRILLEN- ZELLEN	BLASEN- ZELLEN	Hirsch i Jacobs, 1928
EMBRYONIC- CELLS	LIGHT- CELLS	DARK- CELLS	EXTRUSION- CELLS	Pillai, 1960 VanWeel, 1955
YOUNG CELLS	Cu-CELLS	Fe-CELLS	B-CELLS	Ogura, 1955

TAULA I. Nomenclatura dels tipus cel.lulars de l'hepatopàncreas en els decàpodes segons autors.

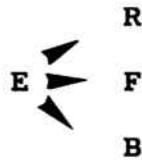


Hirsch i Jacobs
(1928)

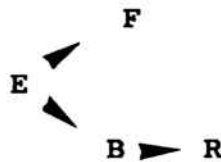
Loizzi (1971)



Van Weel (1955)



Ogura (1954)



Bunt (1968)

TAULA II.- Esquemes proposats per la diferenciació cel.lular en l'hepatopàncreas dels decàpodes.

PROTEASES

triptic proteasa
quimotriptic proteasa
alcalina proteasa
colagenasa
endopeptidasa inespecífiques
aminopeptidasa
carboxipeptidasa
dipeptidasa

GLUCOSIDASES

amilasa
x glucosidasa
b galactosidasa
b fructofuronosidasa
x manosidasa
xilosidasa
fucosidasa
quitobiosa
laminarasa
quitinasa
celulasa
b gucosaminidasa
b glucoronidasa
xilanasa
rafinasa
amilopectin, 1 ,6 glucosidasa
carbohidrases inespecífiques

LIPASES

lipasa
esterasa

TAULA III.- Enzims localitzats en l'hepatopàncreas dels decàpodes. Resum tret de Gibson i Barker (1979).

MATERIAL
I
MÈTODES

2. MATERIAL I METODES.

2.1. CARACTERISTIQUES DE L'ESPECIE ESTUDIADA.

2.1.1. POSICIO SISTEMATICA DE L'ESPECIE.

La classificació dels crustacis està actualment en revisió. La gran quantitat d'espècies així com llur variabilitat han generat diversitat de criteris a l'hora de classificar-los.

La situació sistemàtica de l'espècie estudiada, seguint els criteris taxonòmics de **Bowman i Abele (1982)** és la següent:

CRUSTACEA

CLASSE MALACOSTRACEA

SUBCLASSE EUMALACOSTRACEA

SUPER ORDRE EUCARIDA

ORDRE DECAPODA

SUBORDRE PLEOCYEMATA

INFRAORDRE CARIDEA

SUPERFAM. PALAEMONOIDEA

FAMILIA PALAEMONIDAE

Palaemonetes zariqüieyi (**Sollaud, 1939**).

2.1.2. DISTRIBUCIO GEOGRAFICA.

L'espècie estudiada, Palaemonetes zariquieyi, va ser descrita per primer cop per Sollaud (1939), que la diferencià exteriorment de Palaemonetes varians al presentar més de dues sedes plomoses en el tarsi (LAM. II, Fig. 1). El seu hàbitat és restringit, tant sols es localitza a les aigües dolces i dessalades prop de la costa mediterrània: Albufera de València, llacunes d'Almenara (Castelló), Ullals de Tortosa i d'Amposta (Delta de l'Ebre) i a les llacunes de Salou (Tarragona) (Zariquiey, 1968). La distribució geogràfica és molt reduïda, es tracta d'una espècie endèmica del litoral llewantí.

En el Delta de l'Ebre Chinchilla i Comín (1977), en mostres fets als mesos d'octubre i novembre, localitzen Palaemonetes zariquieyi en diferents llacunes i canals:

- Encanyissada (llacuna litoral)
 - Canal caseta dels barquets (Illa de Buda)
 - L'Estella (Canal vell) (llacuna litoral)
 - Gola Nord del riet Zaida (canal)
 - La Goleta (estany litoral)
 - Gola de migjorn (Illa de Buda) (desguàs tancat del riu Ebre).
 - Embarcador de l'Illa de Buda (vora del riu Ebre)
 - Ullals del Prat del notari
- (Vegeu Figura II, pag. 27).

En aquest estudi hem realitzat prospeccions durant tot

l'any, però algunes particularitats del sistema del Delta de l'Ebre (tancament de canals) han limitat el nombre de captures segons l'època de l'any. Els exemplars de Palaemonetes zariquieyi han estat recolectats en les següents àrees del Delta:

- Canal dret (a prop d'Amposta)
 - Canal esquerre (a prop d'Amposta)
 - Canal sota el pont de l'Autopista (més amunt d'Amposta)
 - Canal de l'Anglès
 - Canals de la zona de l'Encanyissada
 - Canal a prop de fàbrica farmacèutica (Amposta)
- (Vegeu Figura III, pag. 28)

La localització de Palaemonetes zariquieyi en els canals ha estat complicada, sobretot a partir de 1986. A l'iniciar-se l'encimentat dels canals i sèquies, s'elimina la vegetació de les vores dels canals i com a conseqüència s'ha anat reduint les zones on era fàcil de localitzar Palaemonetes zariquieyi. La presència de vegetació a les vores dels canals comportava un habitat ideal per a l'espècie.

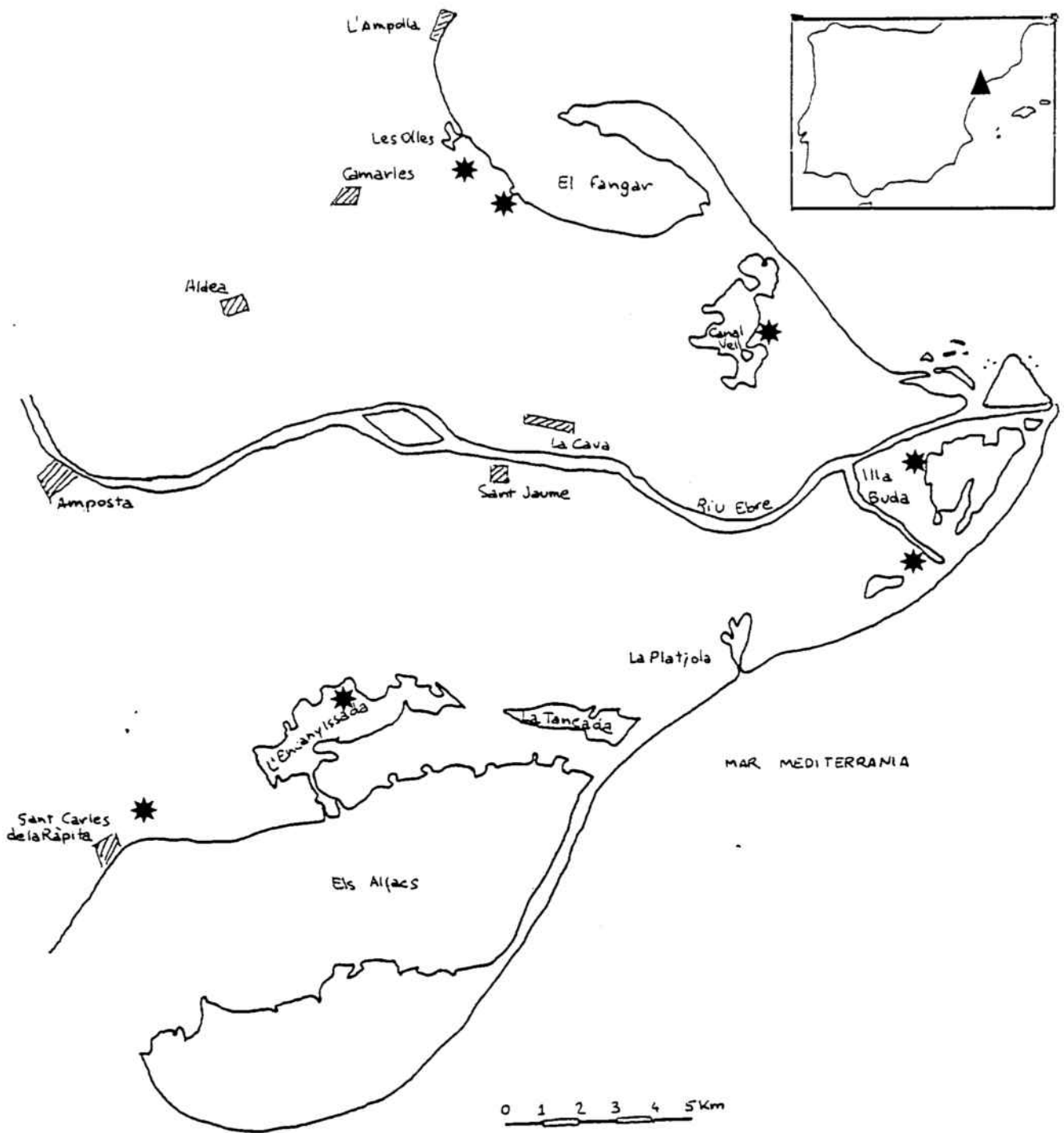


Figura II.- Mapa del Delta de l'Ebre, estan marcades les zones on Chinchilla i Comín (1977) localitzen Palaemonetes zarigueyi.

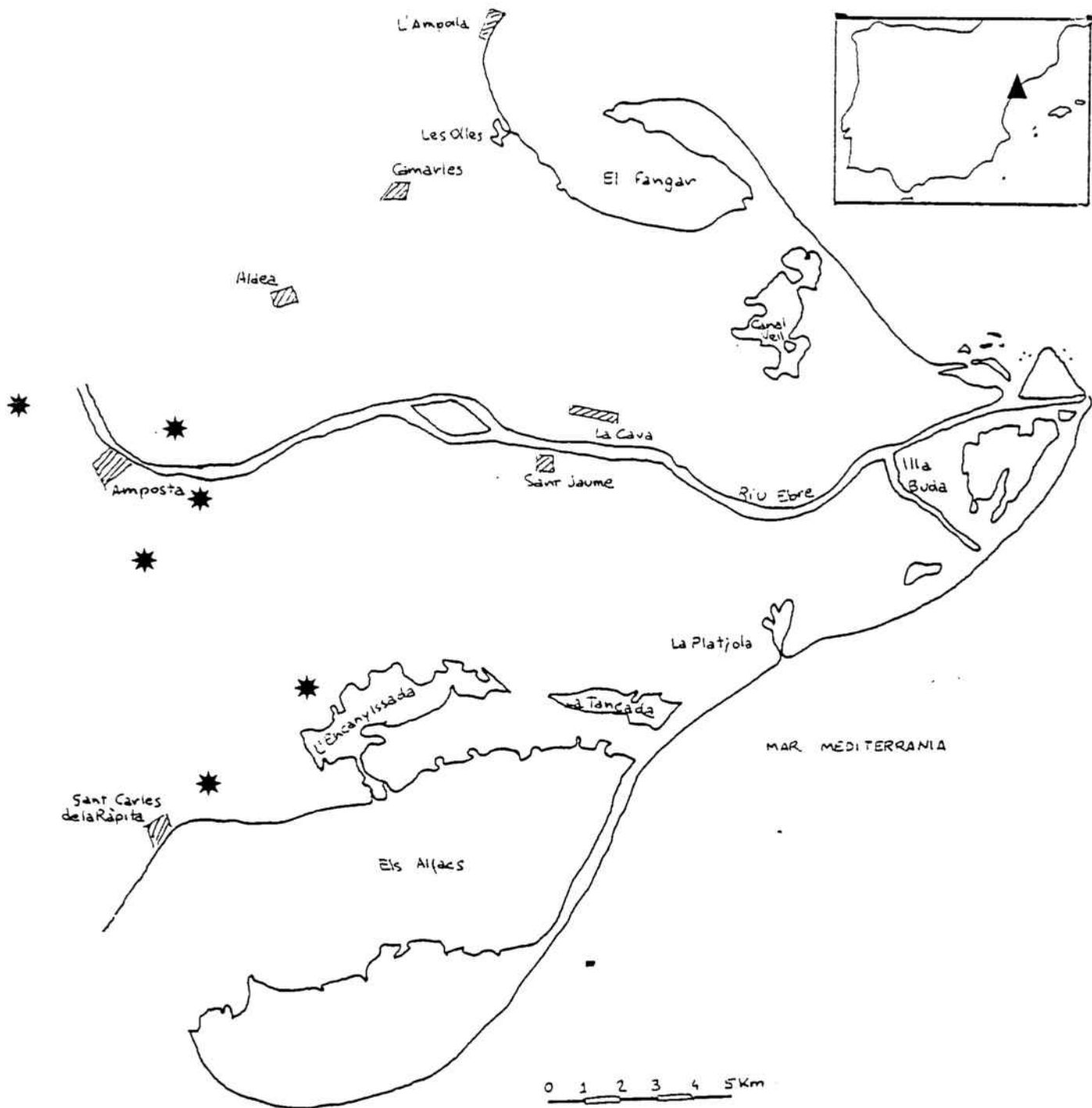


Figura III.- Mapa del Delta de l'Ebre on estan marcades les zones on s'han recolectat Palaemonetes zriquieyi per el present estudi.

2.1.3. HABITAT: DESCRIPCIÓ DELS AMBIENTS AQUÀTICS DEL DELTA DE L'EBRE.

Els ambients aquàtics del Delta de l'Ebre presenten diferències físico-químiques que permeten de distingir diversos ambients segons les característiques de les aigües.

2.1.3.1. AIGUA DOLÇA.

Més amunt d'Amposta , a Xerta, surten de l'Ebre dos canals principals: el Canal Dret, construït el 1860, i el Canal Esquerre construït al 1906. Ambdós canals, tenen un recorregut paral·lel al llit del riu, entren dins del delta i formen una complexa xarxa de canals i sèquies que porten aigua cap a tots els conreus agrícoles, de forma principal a l'arròs.

El sistema de canals i sèquies són regulats mitjançant unes comportes situades a l'origen dels canals principals, canal dret i esquerre. Les comportes s'obren cap al mes d'abril i es tanquen passats dos mesos de la collita d'arròs, cap al desembre, per permetre els treballs d'acondicionament dels camps per al següent cicle de conreu. Com a resultat de la pràctica agrícola hi ha una inversió del cicle anual, durant els mesos d'abril a desembre hi ha un important cabdal d'aigua dolça que després de regar les terres desemboca a les llacunes litorals.

El riu i els canals en conjunt constitueixen l'ambient fluvial del Delta. Caldria , però, distingir-hi el canal natural

del riu, amb contacte amb el mar i els jaços abandonats que no comuniquen amb el mar excepte quan hi ha forts temporals de llevant.

Per últim en el Delta també es troben els Ullals, que són estanys d'aigua dolça de poca extensió, de cinc a vint-i-cinc metres de diàmetre. Aquest ambient és diferent de l'ambient fluvial, car l'aigua dels ullals no arriba pels canals principals de l'Ebre sinó que s'origina per filtració subterrània.

2.1.3.2. AIGÜES SALABROSES.

Les llacunes litorals: Encanyissada, Tancada, Canal vell, canals de desguàs de les llacunes, Estella, La bassa de les olles, Calaix de l'illa de Buda, Platjola, Anfacada, formarien en conjunt un ambient de característiques similars.

Les característiques de l'aigua de les llacunes litorals canvien segons l'època de l'any. El motiu principal del canvi és que l'aport d'aigua dolça prové del sistema de canals i sèquies que com ja hem indicat obren o tanquen segons les necessitats.

La salinitat de l'aigua segueix un model caracteritzat fonamentalment per les diferències existents entre els períodes d'abril - desembre i de gener - març.

La conductivitat disminueix per sota dels 10 mS/cm i s'aproxima a valors inferiors a 2 mS/cm a l'abril després de l'abertura dels canals que porten aigua dolça a les llacunes. Continua minvant fins a un mínim de 1 mS/cm registrat a finals de

novembre (Comín, 1982).

A partir de desembre, al tancar-se les comportes, deixa de circular aigua pels canals i per tant no arriba aigua dolça a les llacunes litorals (l'aigua de pluja és molt poca, segons Maldonado, 1972, tan sols es registren 600 mm a l'any). La conductivitat augmenta progressivament al coincidir la tancada dels canals amb un major aport marí degut a temporals de Llevant. La màxima conductivitat es troba al mes d'abril (Comín, 1982).

A l'obrir-se de nou els canals té lloc un descens brusc de la conductivitat, en un mes baixa 20mS/cm arribant a valors de 4,8 mS/cm.

Resumint, les aigües de les llacunes litorals presenten fluctuacions: hi ha un període d'abril a desembre on les aigües són oligohialines i un període de gener a març en què són mesopolihalines.

Les aigües en les quals viu Palaemonetes zariquieyi són aigües salades diluïdes de llacunes litorals o bé aigües totalment dolces (Margalef, 1953), aquest fet els diferencia d'altres espècies de la mateixa família com Palaemonetes varians o Palaemonetes serratus que són espècies d'habitat més marins.

Els animals utilitzats en el nostre estudi són en la majoria, d'ambient fluvial, d'aigua dolça. (Figura III, pag. 28).

2.1.4. CARACTERISTIQUES MORFOLOGIQUES EXTERNES DE L'ESPECIE.

El cefalotòrax de Palaemonetes zariquieyi acaba amb un rostre típic. Presenta a la part inferior del rostre dues dents que caracteritzen el gènere Palaemonetes (LAM. I, Fig. 1).

L'abdomen acaba amb un telsi i un parell d'uropodis. El telsi presenta dos parells d'espines i més de dues sedes plumoses (LAM. II, FIG. 1) , el nombre de sedes plumoses és diferent en l'altre espècie de la família, Palaemonetes varians, que tant sols en té dues essent una característica taxonòmica, útil per classificar l'espècie.

Els pleopodis abdominals estan constituïts per un exopodi i endopodi, i un apèndix intern. En el cas dels mascles el segon pleopodi té un apèndix sexual amb forma de porra. (LAM. II, FIG. 2).

2.1.4.1. CUTICULA

Palaemonetes zariquieyi, com la majoria dels crustacis, presenta una coberta externa: la cutícula o exoesquelet. Està constituïda bàsicament per una estructura quitino-proteica sovint calcificada. Les parts del tub digestiu d'origen ectodèrmic: part anterior (estomodeu) i part posterior (proctodeu) estan també recobertes per la cutícula.

La cutícula dels decàpodes està formada per vàries capes que es diferencien tant per la seva composició com per la seva

ultraestructura. La formació dels diferents estrats es produeix en diferents etapes del cicle de muda. (Taula IV, pag. 36).

Per a possibilitar el creixament periòdicament es desprèn d'aquest exoesquelet rígid: moment de l'ecdisi, o exclòvia. Al desprendre's de la vella cutícula en deixa al descobert una de nova, més grossa i no tant calcificada; formada en el període anterior a l'ecdisi: període de premuda. La nova cutícula acaba de consolidarse en el període de postmuda. Les modificacions de la cutícula i les variacions fisiològiques de tot el procés permeten dividir el cicle de muda en diferents períodes que en l'apartat posterior detallarem.

Tot això denota que la cutícula presenta característiques variables i el conjunt de capes que es poden distingir varia segons el període del cicle de muda. Així en el període de intermuda, període d'estabilitat o període C (Drach, 1939), en la cutícula dels decàpodes s'hi poden distingir, sense dificultat, quatre estrats.

L'estudi morfològic dels estrats cuticulars en els decàpodes ha dut com a conseqüència una proliferació de noms per designar els diferents estrats. Podem veure un resum a la taula V (pag. 36). Nosaltres hem adoptat la nomenclatura utilitzada per Drach (1939): **epicutícula, capa pigmentada, capa principal, capa membranosa.**

Les característiques d'aquestes capes són les següents:

EPICUTICULA

Es la capa més exterior i alhora la més prima de totes, normalment medeix 160-190 Å i és secretada per les cèl.lules epidèrmiques en l'etapa de premuda (període D₁, Drach, 1939). Està constituïda per proteïnes impregnades de lípids, que li confereixen una certa impermeabilitat. Charagozlou-Van Ginneken (1974) en un estudi ultraestructural distingeix quatre subcapes : e₁ , e₂ , e₃, totes d'un gruix de 15 Å i la subcapa e₄ que té uns 130 Å de gruix.

CAPA PIGMENTADA

Està formada per una sèrie d'estrats paral.lels de quitina i desigualment calcificats. Caracteritzada, moltes vegades per la presència de grànuls de pigments semblants a la melanina. Es secretada per l'epidèrmis en l'etapa de premuda, període D₂ (Drach, 1939).

CAPA PRINCIPAL

Es la capa més gruixuda, normalment constitueix el 80% de la cutícula. Està formada per diversos estrats paral.lels i està molt calcificada. Es rica en quitina. Es secretada paulatinament per les cèl.lules epidèrmiques després de l'ecdisi, durant l'etapa de postmuda, en els períodes A₂ fins el període C₃ (Drach, 1939).

CAPA MEMBRANOSA

Capa relativament prima de 20-30 μm (Passano, 1960). Està formada per proteïnes heterògenes i normalment no està calcificada. La seva presència determina l'inici del període d'estabilitat o etapa d'intermuda: C_4 (Drach, 1939).

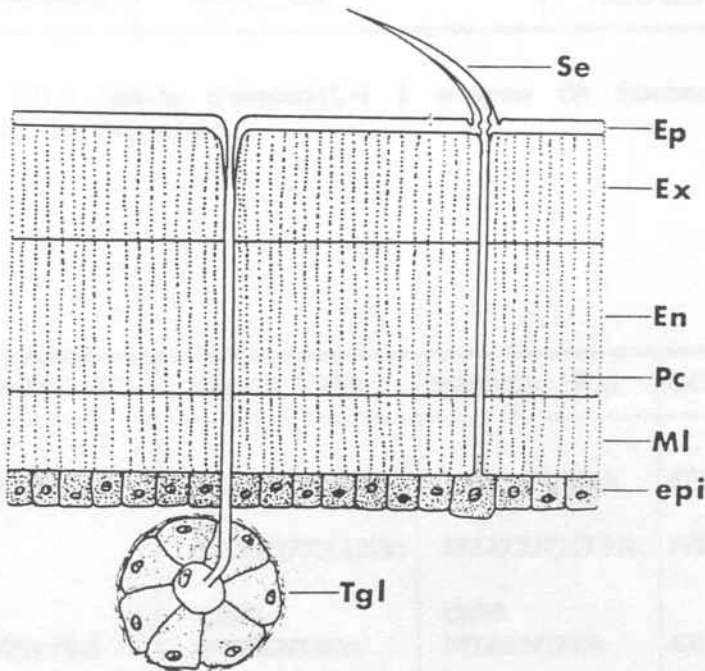


Figura IV.- Esquema de les capes de la cutícula en el període d'intermuda. epi: epidermis, Ml: capa membranosa, Pc: porus, En: endocutícula, Ex: exocutícula, Ep: epicutícula, Se: seda, Tgl: glàndula. Tret de Johnson (1980).

CAPES	COMPOSICIO	ETAPA FORMACIO
EPICUTICULA	PROTEICA, LIPIDICA	PREMUDA, D ₁
C. PIGMENTADA	PROTEICA, CALCIFICADA	PREMUDA, D ₂
C. PRINCIPAL	PROTEICA, CALCIFICADA	POSTMUDA, A ₂ a C ₃
C. MEMBRANOSA	PROTEICA	POSTMUDA, C ₃

TAULA IV.- Resum composició i etapes de formació de les capes de la cutícula.

WATERMAN, 1960	DRACH, 1939	DENNELL, 1960	SKINNER, 1962
EPICUTICULA	EPICUTICULA	EPICUTICULA	EPICUTICULA
	ENDOCUTICULA:	ENDOCUTICULA:	PROCUTICULA:
EXOCUTICULA	CAPA PIGMENTADA	CAPA PIGMENTADA	EXOCUTICULA
ENDOCUTICULA	CAPA PRINCIPAL	CAPA CALCIFICADA	MESOCUTICULA
CAPA MEMBRANOSA	CAPA MEMBRANOSA	CAPA NO CALCIFICADA	ENDOCUTICULA

TAULA V.- Resum nomenclatures de les capes de la cutícula.

2.1.4.2. CICLE DE MUDA

Des de principis de segle, com a conseqüència de l'estudi del cicle vital d'un cranc de riu del gènere Astacus, se sap que periòdicament els crustacis es desprenen de la seva envoltura externa o exoesquelet, fent-se visible, a la part interna, un de nou, que en la seva constitució definitiva té més superfície i volum que el seu predecessor. Aquest mecanisme possibilita el creixament de l'animal.

El terme de muda va ser utilitzat per referir-se a aquest fenomen de desprendiment del vell exoesquelet. Actualment però, el desprendiment de la cutícula es coneix com a ecdisi, exuvia o exclovia.

Basant-se en aquest concepte, Drach (1939) denomina cicle d'intermuda al període comprès entre una exuvia i la següent. Posteriorment Passano (1960) va ampliar el concepte de muda aplicant-lo al concepte denominat per Drach cicle d'intermuda, reservant el nom d'intermuda al període d'estabilitat comprès entre la fi de la consolidació del nou exoesquelet i l'inici de preparació d'un exoesquelet nou.

L'estudi realitzat per Drach (1939) en els Braquiurs va permetre d'establir, observant diferents característiques de la cutícula, quatre períodes principals entre dues ecdisi.

1. ecdisi.
2. etapa de postmuda o postecdisi : període A, B i C₁, C₂, C₃.
3. etapa d'estabilitat o període d'intermuda (Passano, 1960):

període C₄.

4. etapa de premuda o preecdisi: període D.

Després d'aquest treball ha estat reconegut el principi de fraccionament del cicle de muda d'una manera general per a la Classe dels Crustacis, els diversos períodes signifiquen no tant sols una diferent composició en les capes de la cutícula, sinó, també, varietat en diverses característiques fisiològiques.

En efecte, des de l'adopció dels períodes de muda feta en els Natantia pel mateix Drach (1944) han estat molt els treballs realitzats per establir i caracteritzar aquest períodes en els diferents grups dels Crustacis. Cal recordar, entre d'altres, les caracteritzacions dels períodes del cicle de muda en els Anfípodes (Charniaux-Legendre, 1952); en els Cirrípedes (Bocquet-Vedrine, 1956, 1965) i en els Filòpodes (Chaigneau, 1962), per a esmentar només alguns treballs.

2.1.4.2.1. DETERMINACIO DELS ESTADIS DEL CICLE DE MUDA

Les variacions bioquímiques establertes en l'hepatopàncreas (Van Wormhoudt, 1983; Lautier i Vernet, 1972; Passano, 1980) i relacionades amb el procés de la muda ens va induir en el curs del treball a determinar l'estadi del cicle de muda en què es trobaven els animals ha estudiar.

La determinació dels estadis del cicle de la muda es realitza, normalment, observant al microscopi òptic els apèndix abdominals o pleopodi i les seves sedes. Es imprescindible

d'observar-los en fresc; sense prèvia fixació; senzillament muntant el pleopodi en un portaobjectes amb aigua destil.lada i col.locant un cubreobjectes. També ajuden a determinar alguns dels estadis altres característiques com són l'aspecte i duresa de la cutícula, en el cas d'espècies que tinguin una cutícula molt calcificada.

Nosaltres, per determinar els estadis del cicle de muda hem pres la precaució d'observar com a mínim tres pleopodis i totes les seves sedes, a fi d'assegurar la determinació correcte. Dos motius ens han induït a fer-ho així:

- al seccionar els pleopodis es pot produir un desplaçament de les capes subcuticulars que pot motivar un error en la determinació.

- l'aspecte de les sedes presenta algunes diferències a la zona de la base del pleopodi respecte a la zona de l'extrem del mateix. Així l'observació només d'una zona determinada del pleopodi pot induir a una determinació errònia. Aquest fet ha estat observat en altres espècies (Drach i Tchernigovtzeff, 1967).

En el cas de les espècies estudiades, al presentar una cutícula poc calcificada, és possible determinar els períodes definits per Drach i Tchernigovtzeff (1967) en el seu treball realitzat en decàpodes d'exoesquelet poc calcificat:

PERIODE A

Immediatament després de l'ecdisi o muda. Es pot subdividir en dos estadis:

PERIODE A₁: Immediatament després de l'ecdisi. Les sedes observades per transparència al microscopi es veuen en el seu interior elements cel.lulars.

PERIODE A₂ : Les sedes es veuen buides iniciant-se aquest fenomen des de l'extrem cap a la base. (LAM. III, Fig. 1)

PERIODE B

Es un període de secreció postexuvial, hi ha una consolidació i engruiximent de la cutícula. En aquest període se secreta la capa principal i la capa membranosa.

En el cas de les espècies poc calcificades, Tchermigotzeff (1965) i Passano (1960) indiquen com a característica d'aquest període la formació de cons a la base de les sedes, diferencien dos subperíodes:

PERIODE B₁ : el contingut de les sedes està retraïgut fins a la zona on es formaran els cons, o sigui s'observen buides fins al con.

PERIODE B₂ : es formen els cons característics en la base de les sedes.

PERIODE C

En les espècies que tenen una cutícula fortament calcificada s'ha subdividit aquest període. Es pot diferenciar un període C₁,

C₂, C₃ fins que el tegument no adquireix la seva duresa definitiva. L'aparició de la capa membranosa determina l'estadi C₄; la construcció del nou tegument és ja acabat: és un període d'estabilitat denominat per Aiken (1973) període d'anecdisi.

En les espècies de cutícula poc calcificada la capa membranosa és difícil de distingir observant els pleopodi per transparència, per tant aquestes subdivisions del període no es poden establir.

Per tant s'estableix el període C quan els cons estan ben formats, o sigui el seu gruix és màxim i encara i no s'observen característiques del període posterior (no hi ha retrecció de l'epidermis). Aquest període correspon al anomenat C₄, període d'estabilitat. (LAM. III, Fig. 2).

PERIODE D

Es el període de preparació d'una nova muda, anomenat, també, període de premuda. S'inicia la formació de la nova cutícula. Se subdivideix, també, en diferents períodes:

PERIODE D₀ : Retracció progressiva de les matrius de les sedes, observant-se per sota de la cutícula, entre les sedes un retrocés de les capes subcuticulars.

PERIODE D₁ : Formació d'invaginacions al voltant de les matrius de les sedes.

PERIODE D₂ : Secreció de les capes prexuvials: **epicutícula** i **capa pigmentada**. S'observen aquestes capes sobre l'epidermis retraïda. (LAM. III, Fig. 3 i 4).

Un resum d'aquests períodes que constitueixen tot el cicle el veiem en el següent esquema:



Figura V.- Períodes generals que constitueixen el cicle de muda.

2.2. OBTENCIO DELS EXEMPLARS.

Els exemplars de Palaemonetes zariquieyi han estat recol·lectats en diversos canals del Delta de l'Ebre (Tarragona). La captura ha estat realitzada mensualment; amb sort diversa, segons l'època de l'any.

La proporció d'exemplars recol·lectats varia, doncs, segons l'estació: mentre que a l'estiu i primavera, amb una bona dosi de paciència i molta tenacitat, i després de salabrar bastants canals s'aconsegueix recol·lectar una vintena d'animals; a l'hivern resulta pràcticament impossible d'aconseguir-ne cap.

Les zones mostrajades, on hem pogut trobar animals han estat les següents:

- Canal dret (a prop d'Amposta)
- Canal esquerre (a prop d'Amposta)
- Canal sota el pont de l'Autopista (més a munt d'Amposta)
- Canal de l'Anglès
- Canals de la zona de l'Encanyissada
- Canal a prop de fàbrica farmacèutica (Amposta)

Els animals un cop recollits han estat col·locats en un bidó amb aigua del mateix canal i traslladats al laboratori. Per mantenir-los vius durant el viatge s'ha emprant un compresor a piles, dels habitualment usats pels pescadors per mantenir l'esquer viu. Un cop al laboratori els animals han estat anestesiats. La tècnica que ha donat més bon resultat, després de molts assajos, ha estat la següent: amb una pipeta Pasteur s'han

deixat petites gotes de cloroform a l'interior de l'aigua, tenint cura que quedessin a la part inferior; l'animal resisteix perfectament l'anestèsia i quan es col·loca en aigua, sense anestèsic es recupera ràpidament.

Per tal d'identificar l'espècie hem emprat les claus descrites per Zariquiey (1968). Amb l'ajuda d'una lupa Wild se'ls ha caracteritzat, reconeixent el rostre i el tèl·si. (LAM. I, Fig. 1; LAM II, Fig. 1).

2.3. METODOLOGIA I TÈCNiques D'ESTUDI.

L'estudi anatòmic i morfològic del tracte digestiu, i en particular de la glàndula digestiva ha estat realitzada a quatre nivells de resolució progressiva: utilitzant lupa, microscopi fotònic, microscopi electrònic de rastreig i de transmissió.

2.3.1. ESTUDI ANATOMIC: LUPA.

La distribució anatòmica del tracte digestiu és possible distingir-la observant l'animal amb lupa, prèvia anestèsia amb cloroform de l'animal. Això és degut a què la cutícula externa està poc calcificada i permet veure per transparència l'anatomia interna de l'animal.

Per tal d'aprofitar aquesta circumstància i poder veure amb major contrast l'anatomia del tracte digestiu hem mantingut els animals vius en un cristal·litzador amb aigua que contenia una

concentració de 0,01 % de carbó actiu. Realitzant-hi observacions, prèvia anestèsia de l'animal, a les tres hores, a les vint-i-quatre hores i a les quaranta-vuit hores.

L'experiència ha estat positiva. L'animal ha captat les partícules de carbó actiu de la dissolució i la seva disposició en l'aparell digestiu s'ha pogut visualitzar amb l'animal viu, senzillament per transparència. (LAM. IV, Fig. 1 i 2).

2.3.2. MICROSCOPIA OPTICA.

2.3.2.1. FIXACIO, INCLUSIO I TINCIO.

Els animals prèviament anestesiats amb clorofom foren dissecionats, separant el cefalotòrax de l'abdomen. Donat el tamany del cefalotòrax es pot fixar tot sencer per immersió.

Per tal d'afavorir la penetració del fixador, normalment, extreiem, amb tisoreta, la cutícula d'un dels laterals del cefalotòrax. (Figura VI, pag. 48).

Van ser utilitzats com a fixadors de rutina: el formol al 10% o el líquid de Bouin (solució aquosa saturada d'àcid pícric, formol, àcid acètic; en la proporció de 15:5:1) amb un temps mínim de fixació de tres hores.

Quan el fixador utilitzat és el formol al 10% cal fer-hi un llarg rentat amb aigua corrent per eliminar les restes de fixador en el teixit que poden perjudicar el procés d'inclusió (mínim dues hores).

En el cas del líquid de Bouin és suficient el rentat amb alcohols de baixa gradació (alcohol al 50%) per eliminar-lo.

El procés de deshidratació necessari per poder dur a terme la inclusió amb parafina ha estat realitzat amb una sèrie d'alcohols de gradació creixent (A 50%, A 70%, A 90%, AA), essent cada pas d'una hora i mitja com a màxim. Hem utilitzat normalment alcohol etílic, essent necessari el pas del material a incloure per un líquid intermediari entre l'alcohol i la parafina. Hem utilitzat habitualment el tolué com a líquid intermediari; després del bany amb alcohol absolut hem submergit les mostres en una solució alcohol absolut-tolué (1:1); i posteriorment realitzàvem dos banys de tolué pur. Atès el petit volum de les mostres el temps màxim de cada bany ha estat de 30'.

Com a agent deshidratant també hem fet servir alcohol isopropílic o alcohol butílic, presentant ambdós l'avantatge d'ésser miscibles amb parafina, per la qual cosa no cal el pas pel líquid intermediari. Així doncs un cop acabada la deshidratació feta amb una sèrie d'alcohols de gradació creixent, es podia introduir en parafina, o sigui iniciar el procés de la inclusió. En tots els casos els resultats han estat bons.

El procés de la inclusió ha estat igual en tots els casos: el material a incloure s'ha submergit en parafina pura d'un grau de fusió de 56-58°C i ha estat mantingut dins de l'estufa a 58°C, una nit.

Posteriorment es van confeccionar els blocs utilitzant parafina pura i les habituals pinces de Leuckart; orientant la

mostra per tal d'aconseguir talls transversals o longitudinals de la glàndula digestiva.

Els blocs han estat tallats de manera seriada amb un gruix de 4 μm a 6 μm , amb micròtoms de Minot: REICHERT-JUNG, model AUTOCUT 1140, utilitzant ganivetes d'acer o ganivetes d'un sol ús, de l'equip Kultzer; o un micròtom LEITZ.

Tècniques de tinció

S'ha utilitzat diferents mètodes de coloració, alguns de caire general i panoràmics i d'altres més específics per posar de manifest determinats paràmetres estructurals o citoquímics.

Les tècniques realitzades han estat:

- _ Hematoxilina- eosina. (LAM. V, Fig. 1; LAM. VII, Fig. 1).
- _ Tricròmic de Mallory.
- _ Mètode del P.A.S. (àcid periòdic, reactiu de Schiff): per a la detecció de polisacàrids i glucoproteïnes neutres.
- _ Carmí de Best: tècnica citoquímica que posa de manifest el glucogen.
- _ Roig d'alizarina: per detectar la possible existència de calci. (LAM. VI, Fig. 2).
- _ Tècnica de P.E.R.L.S. per detectar Ferro. (LAM. V, Fig. 2).

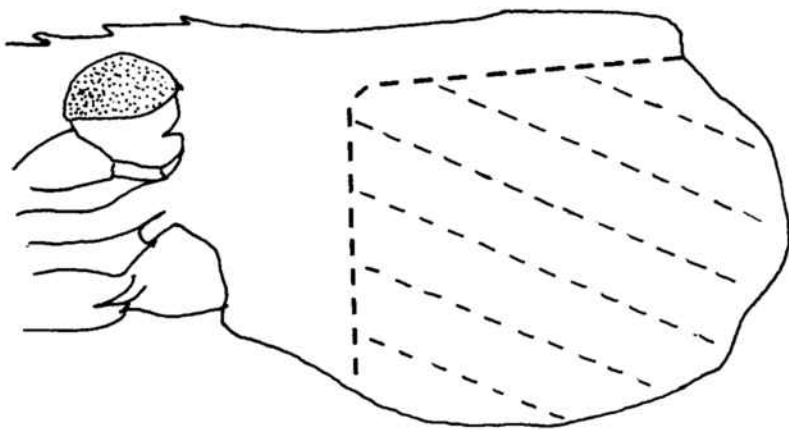


FIGURA VI.- Esquema de cefalotòrax de Palaemonetes zariquieyi, on veiem la regió de cutícula estreta per afavorir la penetració del fixador.

2.3.2.2. TÈCNiques SOBRE SECCIONS SEMIFINES

Per a l'estudi en microscòpia òptica també s'ha utilitzat talls semifins; de 0,5 μm a 1,5 μm de gruix, realitzats a partir de material incluit en Spurr o Araldita de material destinat a les observacions per microscòpia electrònica. La tècnica de fixació i inclusió de les mostres és l'habitual en microscòpia electrònica de transmissió.

Els talls semifins han estat tenyits, sobre placa calefactora a 80°C amb les tècniques següents:

- Blau de mètile 1% - borax. (LAM. VII, Fig. 2).
- Blau de toluidina 1% - borax. (LAM. VII, Fig. 3).
- Blau de toluidina - Fucsina bàsica (Flores i Hoffman, 1981) (LAM. VI, Fig. 1)

La tècnica és la següent:

- * un cop els talls adherits al porta objectes i sobre la placa calefactora a 80°C, es tenyeixen durant 20'' amb la solució colorant de blau de toluidina 1% en borax.
- * rentat amb aigua destil.lada.
- * assecat del portaobjectes en la placa calefactora
- * tinció amb la solució de fucsina bàsica 0,1% i tetraborat sòdic al 0,06% durant 30''. La barreja d'aquestes dues solucions s'ha de fer en el moment d'utilitzar-les en la proporció 1:1.
- * rentat amb aigua destil.lada.
- * assecat sobre placa calefactora.
- * muntar amb D.P.X.

- Mètode de Mac Gallum

* procés mordent: submergir durant 5' els portaobjectes en una solució aquosa de KMnO_4 al 5 %

* rentat amb aigua destil.lada.

* solució d'àcid oxàlic al 5% durant un temps de 3'a 5.

* rentat amb aigua destil.lada.

* neutralitzar amb una solució de CO_2Li al 1% durant 2'.

* rentat amb aigua destil.lada.

* tinció durant 30'' amb Good Pasture:

alcohol etílic al 30%100 ml.

fucsina bàsica..... 1 gr.

anilina..... 1 ml.

fenol..... 1 gr.

La solució colorant, com quasi totes, s'ha de filtrar abans d'és-ser utilitzada.

* rentat amb aigua destil.lada.

* tinció amb cristall violeta:

alcohol etílic..... 100 ml.

cristall violeta..... 5 gr.

anilina..... 2 gr.

Filtrar abans de fer servir.

* rentar amb aigua destil.lada.

* assecar i muntar amb D.P.X.

2.3.3. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISIO: PROCESSAT DEL MATERIAL.

2.3.3.1. METODE HABITUAL.

2.3.3.1.1. FIXACIO.

Els animals s'anestesiaren amb cloroform, com hem descrit anteriorment (pag. 43). Per dissecció s'extregueren petits fragments del tub digestiu. Els petits fragments de la glàndula digestiva van ser fixats ràpidament per immersió.

Habitualment van ser fixats amb el mètode proposat per Karnovsky (1965), que es basa en l'ús d'una barreja de glutaral·dehid al 2,5% i paraformaldehid al 2%, tamponant la solució amb fosfat monosòdic bisòdic 0,2M i ajustant el pH a 7,4. La fixació va ser feta a 4°C i durant 1 hora i mitja.

Van ésser utilitzades les següents mesclures fixadores, que podríem considerar variants de l'anterior:

-Fixació amb glutaral·dehid al 2,5%, tamponat amb fosfat monopotàsic bisòdic 0,2M, segons Sørensen, ajustant el pH a 7,4.

-Utilitzar com a tampó de la solució fixadora cacodilat sòdic, 0,2M afegint a la solució sacarosa al 8% per tal d'aconseguir una solució isosmòtica.

Després de la fixació, les mostres s'han de rentar amb el tampó utilitzat, durant 10'. Un cop fet el rentat es postfixaren amb una solució de OsO₄ al 1%, amb el mateix tampó utilitzat en



la fixació. El temps de la postfixació va ser d'1 hora i mitja i a 4°C.

2.3.3.1.2. INCLUSIO.

Després de la postfixació, el material va ser rentat amb tampó fosfat durant 10'. Iniciant després el procés de la deshidratació. Com a agent deshidratant s'utilitzaren una sèrie d'alcohols etílics o acetona de gradació creixent (50°, 70°, 90°, AA). Cada pas s'ha fet durant 7'; en el cas de l'últim bany se n'han realitzat dos.

Un cop deshidratat el material hem utilitzat com a líquid intermediari, entre l'alcohol i la resina d'inclusió, l'òxid de propilè.

Els banys han estat progressius: primer se submergeixen les mostres en una solució d'alcohol etílic absolut-òxid de propilè, en proporció 3:1, després en una solució de proporció 1:1, i per últim en una solució de proporció 1:3, abans d'utilitzar una solució pura d'òxid de propilè. Cada bany ha durat 10'.

El pas per líquid intermediari ha estat suprimit quan la deshidratació s'ha realitzat amb acetona.

La inclusió l'hem realitzada, habitualment, amb la resina de tipus **Spurr** (1969) de la següent manera:

Banys, durant 10', amb solucions de diferent proporció de líquid intermediari o cetona i medi d'inclusió: 3:1; 1:1; 1:3 i per últim amb resina pura a temperatura ambient durant 1 hora i

mitja.

Per a la confecció dels blocs s'ha utilitzat càpsules de gelatina o motllos de silicona especials. La polimerització s'ha realitzat en l'estufa a 60°C durant 24-48 hores.

2.3.3.1.3. ULTRAMICROTOMIA.

Els blocs han estat tallats amb un ultramicròtom REICHERT JUNG, model Ultracut E. S'ha utilitzat navalles de vidre o navalla de diamant DUPONT de 55°.

Els talls ultrafins d'uns 60 nm. de gruix han estat recollits en reixetes de coure o bé d'or, si estava previst de fer alguna reacció citoquímica.

2.3.3.1.4. CONTRASTAT.

Els talls ultrafins depositats en reixetes de coure han estat contrastats amb sals de metalls pesants per augmentar el contrast de les estructures. La tècnica utilitzada ha estat la següent:

- * Flotació de les reixetes en una solució aquosa d'acetat d'uranil al 2%, durant 30', a temperatura ambient.
- * Rentat amb aigua bidestil·lada (3 cops).
- * Assecar la reixeta pel costat del darrere amb paper de filtre.
- * Flotació de les reixetes en citrat de plom, segons Reynolds (1963) durant 10', a temperatura ambient i en atmosfera anhidra.

* Rentat amb aigua bidestil.lada (3 cops).

* Assecat amb paper de filtre pel costat del darrere de la reixeta.

2.3.3.2. TÈCNIQUES ESPECÍFIQUES.

Per tal de posar de manifest característiques ultraestructurals i químiques del material estudiat, hem realitzat tècniques que es poden agrupar com a tècniques específiques. Són les següents:

2.3.3.2.1. TÈCNICA DEL NITRAT DE LANTÀ.

La utilització del nitrat de lantà en solució col·loidal va ser introduïda per Doggenweiler i Frenk (1965) i va ser modificada per Revel i Karnovsky (1967) per tal de posar de manifest l'espai intercel·lular i les estructures en contacte o amb relació amb l'espai extracel·lular.

La tècnica es fonamenta en la impermeabilitat de la membrana cel·lular a la solució col·loidal de nitrat de lantà, quedant retinguda en l'espai extracel·lular i intercel·lular. L'esmentada solució dona lloc a un precipitat altament electrodens.

Totes les unions intercel·lulars estan comunicades directament a l'espai extracel·lular, a excepció de les unions estretes (tight junctions); per tant poden ser deliniades pel lantà, que com ja hem indicat penetra i precipita en l'espai intercel·lular.

Com que les unions intercel·lulars són primàriament estructures extracel·lulars aquesta tècnica ha estat utilitzada per identificar i classificar les estructures d'unió intercel·lular.

Hem utilitzat la tècnica descrita per Revel i Karnovsky (1967) modificada:

* s'ha fixat petits fragments d'hepatopancreas per immersió durant 1 hora i 30', amb una solució de 2,5% glutaraldehid-2% paraformaldehid en tampó cacodilat, 0,2M, pH 7,2 , a la qual s'hi afegeix un volum igual d'una solució de nitrat de lantà al 4% en solució aquosa, ajustant el pH a 7,4 amb una disolució de NaOH 0,01N.

* rentat durant 10' amb una solució de tampó cacodilat 0,2M, pH 7,2 a la qual s'hi afegeix igual volum de solució aquosa al 4% de nitrat de lantà, pH 7,4.

* postfixació, durant 1 hora amb una solució al 2% de OsO₄ amb tampó cacodilat a la qual també se li afegeix igual volum de solució aquosa de nitrat de lantà al 4%.

* deshidratació amb acetones i inclusió amb Spurr seguint el protocol habitual.

* els talls ultrafins recollits en reixetes de coure han estat mirats sense contrastar o contrastats segons la tècnica habitual amb acetat d'uranil i citrat de plom.

(LAM. X, Fig. 1, 2; LAM. XXVIII, Fig. 2; LAM. XXXII, Fig. 1).

2.3.3.2.2. TECNICA DEL PIROANTIMONIAT.

El piroantimoniat ha estat utilitzat en microscòpia electrònica per la seva propietat de precipitar els ions de Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ (Klein i col., 1972).

Hem seguit el protocol descrit per Humbert (1978):

* Fixació amb glutaraldhid al 5%, en solució tamponada amb fosfat, pH 7,3; afegint-hi igual volum d'una solució de piroantimoniat potàsic preparada així:

- 4 gr. piroantimoniat potàsic ($\text{K}(\text{Sb}(\text{OH})_6$ (Merck)
- 200 ml. d'una solució 0,1N d'àcid acètic
- ajustar el pH a 7,4 amb KOH 0,1N.
- la solució es manté durant 1 hora al bany maria a 80°C , conservant el volum inicial afegint-hi aigua destil.lada.
- un cop refredada la solució ràpidament, s'ha de filtrar abans d'ésser utilitzada.

* Rentat amb tampó fosfat al qual se li afegeix igual volum de la solució del 2% de piroantimoniat potàsic.

* Postfixació amb OsO_4 al 1% al qual li afegim igual volum de la solució de piroantimoniat potàsic al 2%.

* Deshidratació i inclusió rutinària amb Spurr.

Els talls ultrafins s'han mirat sense contrastar, o contrastant amb acetat d'uranil i citrat de plom.

(LAM. 0, Fig. 3).

2.3.3.2.3. TECNICA DE L'ACID TANNIC (T.A.G.O.).

La utilització de l'àcid tànnic junt amb solucions aldehídiques durant la fixació presenta certes avantatges pel fet que l'àcid tànnic actua com a mordent, augmentant l'afinitat de determinats compostos amb el tetròxid d'osmi. Per aquest motiu la superfície de les cèl.lules, i les fibres musculars, entre altres, exhibeixen una elevada electrodensitat.

Hem realitzat la tècnica següent:

- * fixació amb una solució de glutaraldehid-paraformaldehid (Karnovsky, 1965) a la qual hem afegit un 2% d'àcid tànnic, durant una hora i mitja.
- * rentat amb tampó fosfat, durant mitja hora.
- * postfixació amb tetòxid d'osmi, deshidratació i inclusió amb Spurr, segons la tècnica habitual.

Els talls ultrafins han estat observats sense contrastar o contrastats amb el mètode habitual.

(LAM. 0, Fig. 4; LAM. XI, Fig. 2; LAM XV, Fig. 2; LAM. XXXII, Fig. 2 i 3)

2.3.3.2.4. TECNICA AMB OSMI-THIOCARBOHIDRACIDA-OSMI (O.T.O.).

Per tal d'aconseguir una millor fixació de les substàncies lipídiques, i alhora augmentar-ne el contrast s'ha realitzat la tècnica descrita per Seligman i col., (1966).

Aquest mètode augmenta el contrast de les substàncies

lipídiques impregnades i fixades prèviament amb el tetròxid d'osmi durant la fixació inicial. Utilitzant un tractament amb un excés de tiocarbhidracida. Un extrem d'aquesta molècula s'uneix a l'osmi present en el teixit i quan posteriorment s'exposa a més osmi aquest es deposita o s'uneix a l'altre extrem de la molècula de tiocarbhidracida, amb la qual cosa s'aconsegueix un augment considerable del contrast. La tècnica és la següent:

* petits fragments de teixit són fixats per immersió a temperatura ambient durant una hora i mitja amb una solució al 2% de tetròxid d'osmi en tampó fosfat, 0,2M, pH 7,4.

* Després d'una deshidratació ràpida (cinc minuts en cada pas) i sense utilitzar òxid de propilè s'ha inclòit seguint el protocol habitual amb resina Spurr.

* un cop realitzats els talls ultrafins, es recullen en reixetes d'or i s'introdueixen durant una hora en una solució aquosa de tiocarbhidracida al 1%, mantenint-los a una temperatura de 50º C. Prèviament la disolució ha d'ésser escalfada a 50º C.

* després d'un rentat de quinze minuts amb aigua bidestil.lada que prèviament havíem escalfat a 50º C, els talls es postosmifiquen. Poden seguir-se dos protocols:

A.- utilitzant una solució de tetròxid d'osmi al 2% no tamponat durant una hora, després es fa un lleu rentat.

B.- utilitzant vapors d'osmi durant una hora. Es mantenen les reixetes en un recipient tancat amb osmi, i aquest recipient s'ha de col.locar al bany maria a una temperatura de 60º C. (LAM. XXV, Fig. 4).

2.3.3.2.5. TECNICA DE REDUCCIO DE OSMI (PROLONGADA OSMIFICACIO).

La prolongada osmificació descrita per **Friend** (1965) ha estat utilitzada per marcar la cara CIS de l'aparell de Golgi on s'hi deposita l'osmi.

La tècnica és com ha continuació descrivim:

* immersió de petits fragments de teixit en una solució de tetròxid d'osmi a l'1% amb tampó fosfat, durant una hora.

* posteriorment les petites mostres es posen en una solució aquosa de tetròxid d'osmi al 2 %, i són mantingudes a l'estufa a una temperatura de 40º C, durant quaranta-vuit hores. Es convenient de renovar la solució de tetròxid d'osmi a les vint-i-quatre hores.

* després d'un breu rentat amb tampó fosfat, durant deu minuts, les mostres són deshidratades i incluídes en Spurr seguint la metodologia habitual.

2.3.3.2.6. TECNICA DE LA FOSFATASA ACIDA.

Descrit per **Gomori** (1952), es tracta d'un mètode que permet la determinació de l'activitat de l'enzim fosfatasa àcida:

* fixació de petits fragments de teixit amb glutaraldehid al 2,5% en tampó cacodilat, 0,1 M, pH 7,4 , amb sucrosa al 5%. La fixació ha d'ésser molt breu: trenta minuts.

* rentat amb sucrosa al 7,5% en tampó cacodilat 0,1M, pH 7,4 , durant dues o tres hores, fent diferents canvis.

* incubar en el medi Gomori durant una hora i a 37°C. S'han realitzat controls incubant mostres en medi sense substracte.

* rentar amb sucrosa al 7,5% en tampó cacodilat 0,1M.

* postfixar amb tetròxid d'osmi al 1% en tampó cacodilat 0,1M durant trenta minuts.

* Deshidratació i inclusió amb Spurr segons la tècnica habitual.

(LAM. 0, Fig. 6; LAM. XVII, Fig. 2; LAM. XXII, Fig. 4).

2.3.3.2.7. TECNICA CITOQUIMICA PER DETECTAR CARBOHIDRATS (THIERY, 1967).

La tècnica descrita per Thiery (1967) contrasta tant sols els carbohidrats. La metodologia seguida és:

* els talls ultrafins, recollits en reixetes d'or es tracten amb una solució aquosa d'àcid periòdic al 10% durant trenta minuts.

Es convenient de renovar l'àcid periòdic tres cops.

* rentats successius amb aigua bidestil.lada.

* flotació de les reixetes en una solució de tiosemicar-bohidracida al 1% en àcid acètic al 20%, o en tiocarbohidracida al 0,2% en àcid acètic al 20%. S'han assajat diversos temps: 30', 24 hores i 48 hores.

* rentat amb àcid acètic en concentracions decreixents:

- dos rentats ràpids amb àcid acètic al 10%, seguits de dos passos de quinze minuts cada un.

- dos rentats de cinc minuts amb àcid acètic al 5%

- dos rentats de cinc minuts amb àcid acètic al 1%

* rentat amb aigua bidestil.lada durant 5', realitzant diversos canvis.

* flotació dels talls en una solució de proteïnat de plata durant trenta minuts, mantenint la solució a les fosques i a temperatura ambient.

* rentat abundant amb aigua bidestil.lada.

(LAM. 0, Fig. 5; LAM. XX, Fig. 2; LAM. XXII, Fig. 2).

2.3.3.2.8. TECNICA DEL P.T.A. (ACID FOSFOTUNGSTIC).

La tècnica citoquímica descrita per Marinozzi (1968) posa de manifest les glucoproteïnes i els polisacàrids. Hem utilitzat la tècnica modificada per Garcia Valero (1987).

* Els talls ultrafins realitzats a partir de blocs fixats i incluits segons la metodologia habitual, són recollits en reixetes d'or.

* per flotació de les reixetes els talls són tractats amb una solució d'àcid periòdic al 10% durant vint minuts.

* bon rentat amb aigua bidestil.lada.

* flotació durant trenta minuts o una hora de les reixetes en una solució d'àcid fosfotúngstic al 2% i pH 0,3. Preparada així:

- 0,2 gr d'àcid fosfotúngstic

- 9 ml. d'aigua bidestil.lada

- 1 ml. d'àcid clorhídric

* rentat força abundant amb aigua bidestil.lada. (LAM. 0, Fig. 2; LAM. XVI, Fig. 3; LAM. XX, Fig. 1; LAM. XL, Fig.2 i 3)

2.3.3.2.9. TECNICA DE BERNHARD (1969).

Tècnica utilitzada com a detector de material ribonucleoproteic, doncs presenta una tinció preferencial per les ribonucleoproteïnes encara que no es especifica doncs també queden marcades altres estructures com glicogen, lisosomes, fibres de col.làgena (Bernhard, 1969).

* Els talls ultrafins realitzats de mostres fixades i incluídes segons la tècnica habitual son recollits en reixetes d'or.

* oxidació amb àcid periòdic al 10 % en aigua destil.lada durant trenta minuts.

* acetat d'uranil al 5% durant un minut.

* rentat amb aigua bidestil.lada.

* tractament amb EDTA 0,2 M, pH 7, durant seixanta minuts.

* rentat amb abundant aigua bidestil.lada.

* citrat de plom durant un minut.

* rentat amb aigua bidestil.lada.

(LAM. XXXIV, Fig. 2).

2.3.3.2.10. CAPTACIO D'OR COL.LOIDAL.

Al realitzar l'experiència amb carbó actiu (vegeu apartat 2.3.1.) i comprovar que les partícules que es trobaven en suspensió en l'aigua eren captades i després visualitzades en el tub

digestiu de Palaemonetes zariquieyi, ens vàrem plantejar una experiència semblant, però amb algun element que fos opac als electrons per poder analitzar llur captació per pinocitosi per part d'algunes cèl.lules de l'hepatopàncreas.

Com a "traçador" vam escollir partícules d'or en solució col.loidal. La solució col.loidal va ésser preparada seguint el protocol de Frens (1973). En aquest mètode s'utilitza citrat trisòdic com a agent reductor de l'àcid cloroauric i dona un diàmetre de partícula d'entre 15 i 150 nm, en funció de les quantitats emprades de cada agent. Nosaltres preparam un col.loide de 15 nm de diàmetre:

- * escalfar fins a l'ebullició una solució de 0,01% d'àcid cloroauric en aigua destil.lada.
- * afegir 4 ml. de citrat trisòdic al 1% el més ràpid possible.
- * després de 10' d'ebullició es completa el temps de reducció, la qual cosa queda palesa pel color vermellós de la solució.
- * es deixa refredar la solució a temperatura ambient i s'ajusta el pH entre 5,9 i 6,1 amb carbonat potàsic 0,2 M.

L'animal va ser posat en la solució obtinguda, diluïda un 33% i a les vint i quatre hores va ser sacrificat. Després de fer la dissecció petits troços d'intestí i d'hepatopàncreas van ser fixats i incluits seguint la metodologia habitual.

L'observació de talls ultrafins sense contrastar o contrastat amb la tècnica normal (citrat de plom-acetat d'uranil) no ens ha permès de detectar partícules d'or col.loidal en l'interior de cap cèl.lula ni en la llum dels túbuls hepatopancreàtics.

Actualment estem pendants de realitzar altres assajos en els que variarem la dissolució, el tamany de partícula d'or i el temps, factors tots ells que poden determinar l'èxit de la prova.

Totes les mostres han estat observades amb els microscopis de transmissió model Phillips EM.200 i EM.301 del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

Les imatges obtingudes treballant amb un potencial d'acceleració de 60 kV, varen ser registrades sobre pel·lícula KODAK tipus Eastman 5302 de gra fi de 35 mm.

2.3.4. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE RASTREIG: PROCESSAT DEL MATERIAL.

L'estudi en microscòpia electrònica de rastreig s'ha realitzat a partir de dos tipus diferent de material:

- fragments de la glàndula, per estudiar carecterístiques morfològiques i aspecte extern i disposició general dels túbuls.
- talls semifins obtinguts de material incluit prèviament en Spurr, per poder realitzar microanàlisi de raigs X.

La metodologia seguida és:

2.3.4.1. METODOLOGIA PER FRAGMENTIS DE HEPATOPANCREAS.

Com que els fragments d'hepatopàncreas procedien de dissecció hem utilitzat la tècnica de criofractura per evitar la deformació que es produeix sempre que es talla un teixit tou.

Els petits fragments de l'hepatopàncreas després de ser fixats i postfixats seguint la metodologia habitual en microscòpia electrònica; han estat rentats amb tampó fosfat i després submergits en glicerina al 20%. La glicerina s'utilitza com a crioprotector, evitant la formació de cristalls grans durant la congelació ràpida de la mostra amb freon 22 a la temperatura del N₂ líquid.

La mostra ha estat fracturada en N₂ líquid amb una fulla de bisturí. Un cop fracturada es va recollir el fragment a 4°C, submergint-lo amb cetona de 50%, iniciant-se així, una deshidra-

tació paulatina amb cetones de gradació creixent.

Un cop deshidratades les mostres es van submergir en una barreja de cetona-acetat d'amil augmentant-ne la concentració d'aquest últim de forma progressiva (3:1, 1:1, 1:3) per a finalment ésser introduïts en acetat d'amil pur.

Després les mostres han estat assecades amb la tècnica del punt crític amb un aparell marca Polaron model E 2000 i utilitzant diòxid de carbó, que és soluble amb acetat d'amil amb el qual estan impregnades les mostres. Posteriorment s'han recobert amb una capa d'or de 20 nm per tal d'evitar possibles càrregues electrostàtiques durant l'observació amb el microscòpi electrònic de rastreig. El metal·litzat s'ha realitzat amb un aparell de Sputtering Polaron model E5000.

Les observacions s'han realitzat en els microscopis electrònics de rastreig Stereoscan SS.4 (CAMBRIDGE) i JSM.840 (JEOL) del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona. Segons el tipus de mostre es va treballar amb un potencial d'acceleració de 10 a 30 kV. Les imatges es van registrar en pel·lícula fotogràfica KODAK TRI.X 120. (LAM. VIII, Fig. 1 i 2).

2.3.4.2. METODOLOGIA PER A TALLS SEMIFINS.

S'han realitzat talls semifins de diferents gruixos: 0,5 µm, 1,5 µm o de 3 µm, a partir de mostres fixades i incluídes en Spurr segons la tècnica habitual.

Els talls un cop recollits s'han depositat en diferents

soports:

A.- Disquets de llautó:

Els talls eren depositats sobre un petit disquet de llautó de 10 mm de diàmetre. L'adhesió dels talls al suport metàl·lic es realitza gràcies a una placa calefactora a 80°C.

Després el disquet de llautó s'enganxa al porta mostres del microscopi amb plata col·loidal.

El disquet de llautó utilitzat com a suport presenta l'avantatge d'ésser bon conductor amb la qual cosa s'evita que el tall es carregui electrostàticament. Té l'inconvenient, però, que si el gruix del tall que es vol observar és inferior a 3 µm, els electrons que hi incideixen penetren atravesant el tall fins al disc de llautó, donant-ne una imatge borrosa.

B.- Cubreobjectes rodó de vidre:

Els talls són recollits sobre un cubreobjectes rodó de diàmetre semblant al del porta mostres del microscopi electrònic de rastreig.

El cubre depositat sobre un porta objectes, per facilitar la seva manipulació, es col·locat sobre la placa calefactora perquè els talls s'hi adhereixin .

El suport de vidre permet de controlar prèviament la qualitat dels talls amb un microscopi òptic en camp clar i en contrast de fases.

Un cop realitzat aquest control els cubres són enganxats a un disquet de llautó i aquest al porta mostres, utilitzant plata col·loidal. La finalitat del disquet de llautó, en aquest cas, és

per poder recuperar el porta mostres del microscopi per un cantó i els talls per un altre.

L'aventatge d'utilitzar com a suport els cubres rodons és tant pel control inicial de la qualitat dels talls amb el microscopi fotònic, com pel fet d'ésser el vidre un material inert. En el suposat que els electrons hagin atravesat els talls, no hi haurà problemes d'imatge borrosa doncs el vidre no emet rajos electrons retrodispersats.

C.- Plàstic inert:

Altrament, com el suport dels cubres rodons són difícils de trobar, a més de força cars, normalment hem utilitzat el plàstic inert Myler.

El procediment és exactament igual a l'anterior: s'ha de col·locar sobre un porta cinta adhesiva de doble cara, o una gota d'aigua, perquè el plàstic quedi ben adherit al porta. Després, i amb l'ajuda de l'escalfor de la placa calefactora, els talls són adherits al plàstic inert.

Aquest últim suport té les mateixes avantatges que l'anterior.

Els talls semifins han estat observats amb un microscopi JEOL JSM.840 del Servei de microscòpia electrònica de la universitat de Barcelona. La imatge obtinguda ha estat formada pels electrons retrodispersats.

(IAM. XII, Fig. 4; LAM. L, Fig. 1).

2.3.5. MICROANALISI: SISTEMA EDAX.

El principi fonamental de la microanàlisi de raigs X consisteix en la detecció de raigs X que es generen com a conseqüència de l'interacció de electrons d'alta energia amb els àtoms de la mostra. Aquesta interacció provoca la sortida d'alguns electrons del seu orbital essent cada un d'ells reemplaçats per electrons de l'orbital immediatament superior, el que provoca una diferència d'energia que és emetida en forma de radiació X característica de cada àtom. Al utilitzar un analitzador de raigs X incorporat al microscopi electrònic, permet l'anàlisi i detecció d'elements presents en la mostra observada.

Talls semifins han estat utilitzats per analitzarlos amb un microanalitzador (Si/Li) per dispersió d'energia LINK-SYSTEM (Mod. An. 10.000), incorporat al microscopi de rastreig JEOL JSM.840, del Servei de microscòpia electrònica de la Universitat de Barcelona.

La microanàlisi també ha estat feta sobre talls ultrafins, amb un detector d'energia dispersiva de raigs X (EDAX) incorporat a un microscopi de transmissió Phillips Analytical 420. En totes les proves efectuades el microscopi operava a 120 Kv. La microanàlisi s'ha realitzat en el Servicio de Microscopia electrónica del Instituto de Biología del C.S.I.C. (Madrid) gràcies a l'assistència tècnica de la Sra. M^a Angeles Ollacarizquete.

2.3.6. ESTUDI MORFOMETRIC.

En treballs de tipus morfològics la morfometria és un estudi complementari que pot ajudar a interpretar la forma i estructura general de les cèl.lules estudiades. La dificultat de realitzar suficients mesures significatives provoca que la morfometria estigui poc representada en els treballs histològics.

Els analitzadors d'imatge permeten realitzar, de manera automàtica, mesures de diversos paràmetres cel.lulars cosa que permet l'estudi d'un nombre més elevat de casos. L'anàlisi estadística posterior permet de treure conclusions més exactes respecta a la morfologia general estudiada.

Segons les característiques morfològiques, en l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi es poden discriminar els quatre tipus cel.lulars establerts en l'hepatopàncreas d'altres decàpodes a partir dels estudis fets per Hirsch i Jacobs (1928).

La possibilitat de medir automàticament alguns paràmetres morfomètrics, amb un analitzador d'imatges IBAS ens va animar a comprovar estadísticament si les característiques morfològiques que permeten diferenciar els tipus cel.lulars van associades a algun paràmetre morfomètric.

Per realitzar aquest estudi s'ha utilitzat el processador d'imatges IBAS del Servei de microscòpia electrònica de la Universitat de Barcelona.

2.3.6.1. OBTENCIO DE L'IMATGE.

De totes les seccions semifines de 0,75 µm realitzades en l'estudi de l'hepatopàncreas s'han escollit trenta seccions de diferents animals. D'aquestes seccions se n'ha realitzat microfotografies. En proves preliminars, es va comprovar que les fotografies no eren imatges apropiades per ésser digitalitzades automàticament, ja que requeria un procés llarg i, fins i tot i així, era difícil d'aconseguir individualitzar clarament les cèl.lules degut a la semblant-se de tonalitat dels seus límits. Aquesta problemàtica es va solucionar calcant amb paper vegetal, a partir de les microfotografies, els perfils de les cèl.lules i del nucli. Ensenes a això es van dibuixar perfils amb una cambra clara Leitz incorporada al microscopi. Tant sols es van realitzar calques de seccions cel.lulars on els límits cel.lulars eren suficientment clars i dins d'aquests els que eren tipificats clarament per criteris morfològics i presentaven el nucli en la secció.

Les calques o rèpliques obtingudes van ésser agrupades segons el tipus de cèl.lula i segons l'orientació de la secció. Es van considerar seccions longitudinals les que s'hi podia observar la regió apical i basal de la cèl.lula, i transversals totes les restants. Les calques van ser utilitzades com a imatges de partida per a la seva digitalització mitjançant una cambra de TV d'alta resolució tipus "plumbicon".

S'han mesurat 306 cèl.lules agrupades segons el tipus cel.lular i el tall:

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	44	74	35	15
L	10	68	23	37

Taula VI.- Nombre de cèl.lules mesurades segons el tipus cel.lular i el tall. (T = secció transversal, L = secció longitudinal)

De cada cèl.lula es varen avaluar els següents paràmetres morfològics:

- diàmetre màxim del citoplasma
- diàmetre mínim del citoplasma
- àrea citoplasma
- diàmetre mínim del nucli
- diàmetre mínim del citoplasma
- àrea nucli
- àrea nucli/ àrea citoplasma

Els valors obtinguts varen ser memoritzats per a la seva posterior avaluació estadística.

2.3.6.2. ANALISI ESTADÍSTIC.

Per a cada un dels tipus cel·lulars s'ha calculat la mitjana, la desviació tipus i a partir d'ells el coeficient de variació. (TAULES VII a XIII, pàg. 143 a 149). En els casos on els coeficients de variació eren molt grans i diferents entre ells, i per tant la mitjana poc representativa, s'ha considerat fer, únicament, una anàlisi descriptiva de les dades. En les altres situacions s'ha plantejat un disseny d'anàlisi de la variància de dos factors amb interacció.

Aquest disseny es basa en plantejar el següent model lineal per a les dades:

$$x_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

x_{ijk} = valor de la variable mesurada

α_i = efecta degut al tipus cel·lular $i = 1 \dots 5$

β_j = efecta degut al tipus de tall $j = 1 \dots 2$

$(\alpha\beta)_{ij}$ = interacció entre α_i i β_j

ϵ_{ijk} = error aleatori

La resolució d'aquest model es basa en planteja la següent descomposició de la suma de quadrats:

$$SC_T = SC_C + SC_t + SC_I + SC_E$$

on:

SC_T = suma de quadrats totals

SC_C = suma de quadrats deguda al factor tipus cel·lular

SC_t = suma de quadrats deguda al factor tall

SC_I = suma de quadrats deguda al factor intercanvi

SC_E = suma de quadrats deguda a l'error aleatori

calculant a cada cas l'estadístic F adient.

En els casos en els quals l'anàlisi de la variància ens detectava diferències entre els tipus cel.lulars, s'ha realitzat un test de comparació múltiple seguint el mètode de Schiffé.

Aquets calculs han estat realitzats fent servir el programa 7D del paquet estadístic BMDP que està instal·lat en l'ordinador del centre d'informàtica de la Universitat de Barcelona, sota l'assessorament de la Dra. Ruiz de Villa del Departament de Estadística de la Facultat de Biologia.

LAMINA 0:

FIG. 1.- Mètode convencional: contrastat amb acetat d'urànil i citrat de plom. Regió apical d'una cèl.lula R. Microvillis (Mv); cos dens amb sistema membranós interconnectat (fletxa); mitocondris (M). (6.300x).

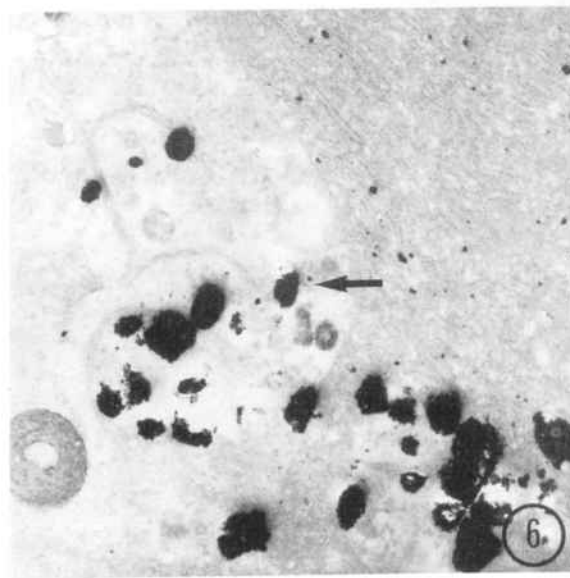
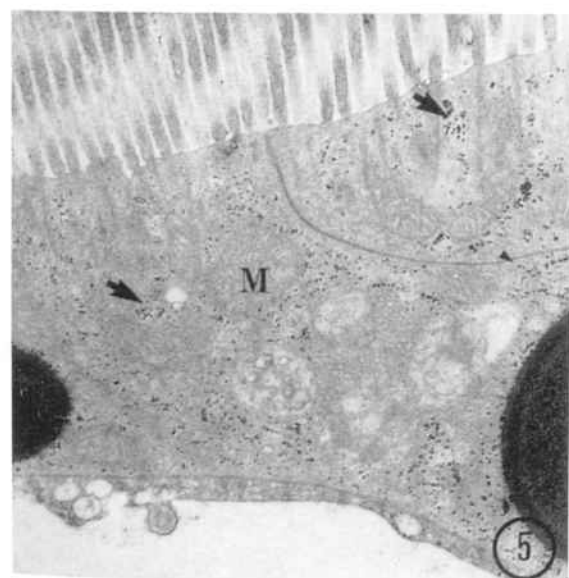
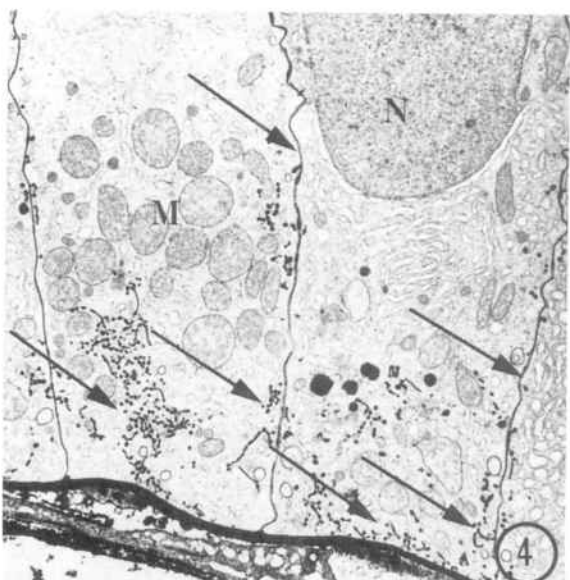
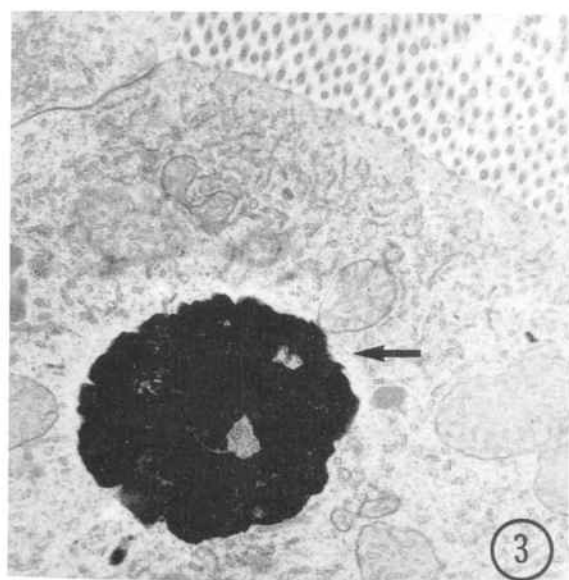
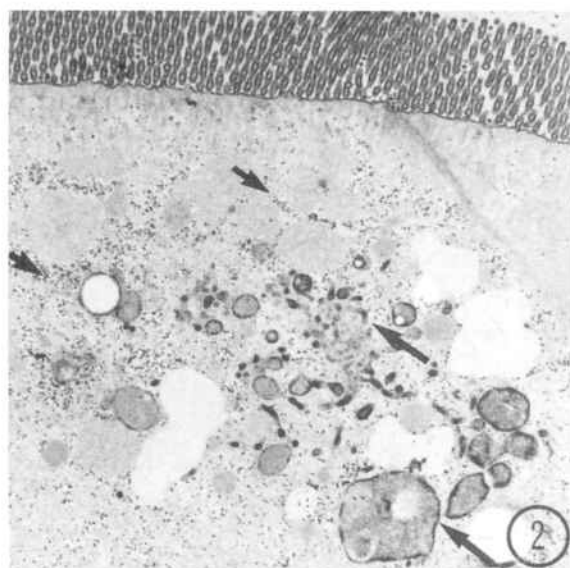
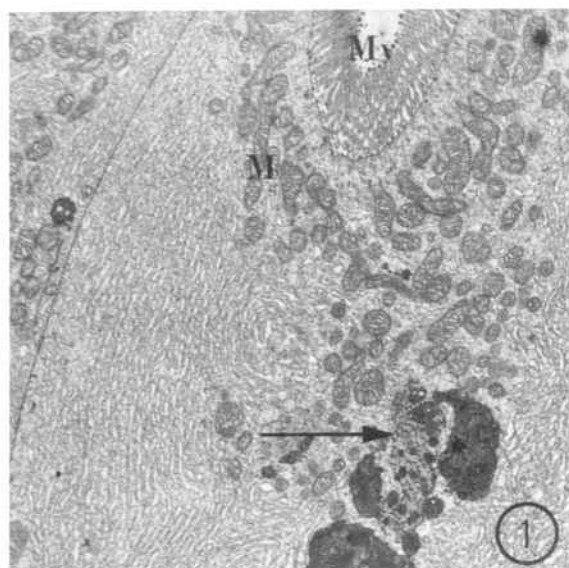
FIG. 2.- Tècnica del P.T.A. (àcid fosfotúngstic). Es pot veure els grànuls de glicogen (fletxa), els microvillis i els cossos densos (fletxa grossa) marcats per aquesta tècnica específica per a les glicoproteïnes i els glúcids. (8.700x).

FIG. 3.- Tècnica del piroantimoniàt. Util per determinar la presència d'ions Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} . Es pot veure com en els cossos densos hi ha positivitat a la tècnica (fletxa). (11.400x).

FIG. 4.- Tècnica de l'àcid tànnic. Tècnica utilitzada per a marcar l'espai intercel.lular (fletxa). Es poden veure les invaginacions de la membrana lateral i basal d'una cèl.lula R. Es veuen també amb més contrats la làmina basal i les miofibrilles de les fibres musculars. Nucli (N), mitocondris (M). (4.200x).

FIG. 5.- Tècnica de Thiéry. Amb aquesta tècnica es posa de manifest el material glucídic de les cèl.lules, es pot veure marcat específicament el glicogen (fletxa) present en les cèl.lules R. (19.500x).

FIG. 6.- Tècnica de la fosfatasa àcida, mètode Gomori. Tècnica per determinar activitat de l'enzim fosfatasa àcida (fletxa), localitzat en els lisosomes de les cèl.lules R. (23.220x).



RESULTATS

RESULTATS.

3. ANATOMIA E HISTOLOGIA DEL TRACTE DIGESTIU: GENERALITATS.

El tracte digestiu en els decàpodes està constituït per tres regions embriològicament diferenciades:

- dos trams d'origen ectodèrmic (**estomodeu** i **proctodeu**). Ambdós presenten una mucosa recoberta per una cutícula semblant a la del exosquelet i que és també reemplaçada a cada muda.
- un tram d'origen endodèrmic (**mesenteron**) que en els decàpodes està format per l'intestí mitjà i la glàndula digestiva.

3.1. ESTOMODEU.

L'**estomodeu** en els decàpodes està format per **esòfag** i **estómac**, ambdós recoberts per una cutícula. En el cas de Palaemonetes zariquieyi la cavitat bucal està situada ventralment, i a partir d'ella s'inicia l'esòfag. Presenta un recorregut vertical fins a la regió dorsal on gira 90°, desembocant a una cavitat situada dorsalment. Després de mantenir l'animal viu quatre hores amb aigua que contenia carbó actiu aquesta zona anterior de l'aparell digestiu presenta un gran contrast, es pot observar un aixemplement de l'esòfag situat a prop de la regió bucal. (LAM. IV, Fig.1). Amb aquesta tècnica també observem la disposició de l'hepatopàncreas i de l'intestí mitjà. (LAM. IV, Fig. 2).

L'**estómac** en els decàpodes consisteix en una cavitat que té

unes funcions i una morfologia que en cap cas no es poden considerar homòlogues a les presents en els vertebrats. Aquest fet ha motivat que se l'anomeni d'altres maneres: **aparell estomodal** (Kubo, 1949); **proventricle** (Dall, 1966), però aquests noms no han reeixit i actualment encara se l'anomena **estómac**.

La morfologia de l'**estómac** en els crustacis ha estat estudiada en molt poques espècies i únicament a nivell de la microscòpia fotònica. Presenta una cutícula, molt especialitzada, amb nombrosos sortints o sedes que en conjunt forma l'anomenat **molinat gàstric**.

L'existència de dues cambres, una anterior: **estómac cardíac** i una posterior: **estómac pilòric** ha estat establerta de manera general en tots els decàpodes, encara que en les espècies que presenten una estructura poc complexa resulta difícil d'establir-les.

De manera general s'ha determinat una funció de tipus triturador a l'**estómac cardíac**. La seva cutícula presenta plaques fortament calcificades, també anomenades "dents", que acaberien de triturar l'aliment ingerit. L'**estómac pilòric** tindria una missió de filtratge de l'aliment. La presència a la seva cutícula de gran quantitat de crestes i sedes que retenen les partícules massa grosses, assegura que sols l'aliment líquid o de menor tamany passi a l'hepatopàncreas on hi té lloc l'absorció dels nutrients. Les partícules massa grosses queden retingudes en l'**estómac** i posteriorment poden ser expulsades. L'experiència realitzada amb carbó actiu (pag. 44) ens ha permès comprovar

l'existència de moviments emètics que permeten l'expulsió per la boca de partícules ingerides previament. Es possible que també hi hagi pas de partícules grosses a l'intestí i que s'eliminïn amb les femtes, doncs després de la ingestió de carbó actiu n'hem observat també a les femtes.

En el cas de Palaemonetes zariquieyi hem distingit dues cambres o cavitats en l'estómac: **cavitat anterior o estómac cardíac** i **cavitat posterior o estómac pilòric**. (LAM. XLIX, Fig. 1 i 3).

La cambra anterior de l'estómac en Palaemonetes zariquieyi es ample i no hem pogut observar la presència de cap dent o protuberància. A la regió dorsal presenta una cavitat amb directa comunicació amb l'esòfag i amb l'estómac cardíac aquest últim envoltat per els petits túbuls que constitueixen l'hepatopàncreas. (LAM. XLIX, Fig. 1 i 2).

La **cavitat dorsal** té una llum molt sinuosa i estreta recoberta per una cutícula prima, de l'ordre de 5 µm, que contrasta amb la que trobem a la **cavitat ventral**. Està constituïda per pocs estrats, només s'hi distingeix l'epicutícula i la capa principal. (LAM. LIV, Fig. 1, 2 i 3). Es tracta de una cutícula poc o gens calcificada doncs utilitzant la microanàlisi de raigs X no hem detectat la presència de calci.

La cutícula es recolza en un epitel·li monoestratificat i cúbic responsable de la secreció del material cuticular. Format per cèl·lules d'unes 10 µm d'alçada amb nuclis centrals molt voluminosos. La part apical de les cèl·lules, normalment amb

contacte amb la cutícula, no presenta cap diferenciació especial. Es localitzen mitocondris, reticle endoplasmàtic i ribosomes situats basalment que confereixen al citoplasma un aspecte força electrodens.

L'epiteli es recolza en una làmina basal, per sota de la qual s'hi troba teixit connectiu i potents feixos de musculatura esquelètica. Aquesta musculatura és la responsable de forts moviments peristàltics que possibilita que l'aliment present en aquesta cavitat passi a la cambra ventral de l'estómac. Per altre banda aquesta musculatura també serà la responsable dels forts moviments emètics que permeten l'expulsió per la boca del material retingut en aquesta cavitat.

En la part posterior d'aquesta cavitat hi ha una zona que no presenta cutícula i en la qual s'hi localitzen mitosis amb relativa freqüència. La cutícula i l'epiteli de l'estomodeu es corba formant una petita evaginació convexa en la qual el gruix de la cutícula decreix fins a desaparèixer localitzant-se cèl.lules epitelials prismàtiques i amb característiques morfològiques absorbents; és a dir polarització de les cèl.lules amb una xapa ben desenvolupada en el seu polus apical. Aquest tub o diverticle pot correspondre al que altres autors han anomenat cecs intestinals.

La cavitat ventral presenta una morfologia comparable a l'estómac pilòric descrit en altres crustacis (Leake, 1975; Storch, 1987).

L'estómac pilòric, com és habitual en els decàpodes presenta

una cavitat relativament estreta recoberta per una cutícula. En el cas de Palaemonetes zariquieyi la presència d'una protuberància o carena a la part ventral i dues situades lateralment, confereixen a la llum de l'estómac una forma de "ve baixa" invertida (V). (LAM. XLIX, Fig. 1, 2, 3 i 4). La cutícula present a la cavitat ventral que delimiten aquestes tres "carenes" està repleta de gran quantitat de petites sedes. (LAM. LI, Fig. 1, 2 i 3). El seu conjunt forma l'aparell filtrador del molinet gàstric que actua com a filtre. Es possible, com han indicat Yonge (1924) i Pike (1947), que les fines sedes de la cutícula també contribueixin a repartir la secreció enzimàtica produïda en la glàndula digestiva. El molinet gàstric permetria una major eficiència en la digestió fent possible un major contacte dels enzims hidrolítics de l'hepatopàncreas amb l'aliment.

La cutícula en aquesta zona del tub digestiu és força gruixuda, 13 μm , i es poden distingir les capes habituals de l'exoesquelet. Les capes de la cutícula que recobreix l'estómac varien segons l'estadi del cicle de muda. Utilitzant la tècnica de microàlisi amb raigs X hem constatat que té la capa principal calcificada. (LAM. L, Fig. 1 i 2).

La cutícula descansa en aquest cas en un epíteli de tipus prismàtic. Els nuclis d'aquestes cèl.lules són grossos i de forma oval, medint per terme mig 13 μm de llarg per 5 μm d'amplada, i ocupen la major part del volum cel.lular. Presenten l'heterocromatina preferentment localitzada a la perifèria del nucli.

El citoplasma de la regió supranuclear presenta una agrupa-

ció poc nombrosa de mitocondris i apareix replé de cisternes, més o menys dilatades, de reticle endoplasmàtic rugós. Per sota del nucli sovint es localitza algun cos residual, que destaca per la seva elevada electrodensitat.

En els talls transversals de l'estómac pilòric s'observa seccionat obliquament l'epiteli situat a la zona de la cresta ventral. (LAM. XLIX, Fig. 2, 3 i 4). Aquest fet sembla indicar que l'estómac té una forma cònica. L'epiteli està constituït per dos tipus cel.lulars sols diferenciables pel seu tamany i per la seva diferent electrodensitat. (LAM. LIII, Fig. 1).

A la paret dorsal de l'estómac pilòric hem localitzat un altre tipus cel.lular. Presenta petits vacuols de 0,5-0,2 μm de diàmetre amb la part central molt electrodensa (0,2-0,1 μm) i apicalment alguns cilis. (LAM. LII, Fig. 1, 2 i 3). Possiblement es tracta d'algun element mecanosensitiu.

L'epiteli descansa sobre una làmina basal poc desenvolupada. Per sota d'ella, com es habitual hi ha diferents elements de teixit connectiu.

En les zones laterals i dorsals de l'estómac pilòric es troben potents feixos de musculatura esquelètica. Aquest feixos s'inserten fortament a les membranes de les cèl.lules epitelials formant desmosomes molt visibles i amb un recorregut molt sinuós.

Les cèl.lules epitelials d'aquesta regió, de citoplasma molt eosinófil, exhibeixen gran quantitat de microfilaments tubulars, amb una disposició majoritàriament paral.lela respecta a l'eix major de la cèl.lula (LAM. LIII, Fig. 1 i 2).

A les zones laterals d'aquestes cèl.lules s'observen alguns mitocondris i microfilaments tubulars tallats transversalment. (LAM. LIII, Fig. 3).

La membrana apical d'aquestes cèl.lules està modificada doncs té unes zones fortament electrodenses que corresponen a les zones d'inserció dels elements microtubulars. Aquest elements microtubulars agrupats de deu en deu s'inserten en una zona especialitzada de la membrana apical, molt electrodensa. D'aquesta zona de la membrana epitelial surten microfilaments que penetren i es fiquen en la cutícula. (LAM. LIII, Fig. 2 i 3). S'observen les zones d'ancoratge d'aquests microfilaments en l'interior de la cutícula. (LAM. LIII, Fig. 3).

Estructures semblants d'inserció muscular a la cutícula ja han estat prèviament descrites. Així, Bouligand (1962) descriu les insercions de musculatura esquelètica en l'exoesquelet dels Cyclops (Crustaci, Copèpode) i anomenà tonofibril·les als elements tubulars de les cèl.lules epitelials. Noirot-Timothee i Noirot (1977) les han localitzat també en el tub digestiu de termites.

La potent musculatura de l'estómac possibilita l'existència de moviments que provoquin una trituració de l'aliment i moviments de tipus peristàltics per desplaçar l'aliment a través del tub digestiu.

3.2. MESETERON

En els decàpodes està constituït per l'intestí mitjà i la glàndula digestiva motiu del present estudi.

L'intestí mitjà presenta un recorregut dorsal i s'inicia en l'estómac pilòric. En talls transversals del cefalotorax, en la zona mitja entre la massa de túbuls que constitueixen l'hepatopàncreas s'observa l'intestí mitjà. (LAM. V, Fig. 1 i 2). Es caracteritza per presentar un epitelí format per cèl.lules prismàtiques de característiques absorbents i per tant amb una xapa ben desenvolupada en el seu polus apical. La làmina basal en la qual es recolza l'epitelí intestinal, està particularment desenvolupada, presenta un recorregut sinuós i és PAS positiva.

L'altre element que forma part del mesenteron és la glàndula digestiva o hepatopàncreas. D'origen endodèrmic, està constituïda per nombrosos túbuls epitelials, ramificats que acaben cecs.

4. HISTOLOGIA DE L'HEPATOPANCREAS

En Palaemonetes zariquieyi, en exemplars adults de talla mitja de 4 cm. d'allargada, medeix normalment 1,5 mm. d'allargada i 1,6 mm. d'amplada màxima.

Es tracta de una glàndula constituïda per túbuls epitelials ramificats, tots ells envoltats d'una fina coberta, que a l'observar-la al microscopi electrònic de transmissió comprovem que és rica en fibres de col.làgena. (LAM. XLVIII, Fig. 1 i 2). Aquesta coberta envolta els túbuls de l'hepatopàncreas delimitant entre els túbuls un espai hemal en el que s'observen vasos sanguinis i hemocits.

En talls seriats del cefalotòrax de Palaemonetes zariquieyi comprovem la situació de la glàndula digestiva:

1. En la regió anterior del cefalotòrax, en la zona on lateralment estan situades les cavitats branquials, veiem l'inici de la cavitat estomacal, i lateralment, entre la musculatura corporal, de quatre a sis petits túbuls hepatopancreàtics, rodejats per la coberta que envolta tot l'òrgan.

2. En la regió mitja, s'observa en situació dorsal les gonades, i ventralment la cavitat estomacal, recoberta de la característica cutícula amb nombroses sedes que constitueixen l'aparell filtrador o molinet gàstric. L'hepatopàncreas ocupa en aquesta regió la major part del cefalotòrax, al voltant de l'estómac (LAM VI, Fig. 2) i més posteriorment a l'intestí mitjà.

(LAM. V, Fig. 1, 2). Observem com els túbuls de situació perifèrica presenten una llum exigua i les cèl.lules epitelials que els constitueixen són poc diferenciades, observant-se amb certa freqüència figures de mitosis. La majoria dels túbuls situats centralment tenen una llum considerable de secció estrellada, observant-se la confluència de diversos túbuls. Les cèl.lules epitelials que constitueixen aquesta regió tubular presenten diferents característiques: cèl.lules amb grosses gotes lipídiques, cèl.lules amb citoplasma basòfil o cèl.lules amb nombrosos i voluminosos vacuols. En aquesta regió podem caracteritzar, doncs, els diferents tipus epitelials que constitueixen la glàndula digestiva i que posteriorment estudiarem detalladament. Entre els túbuls observem cèl.lules hemàtiques i alguns vasos sanguinis. (LAM. VI, Fig. 1; LAM. VIII, Fig. 1, 2, 3).

3. En la regió posterior s'observa en el centre del cefalotòrax l'intestí, i com el nombre de túbuls que constitueixen l'hepatopàncreas va disminuint, al mateix temps que també minva la seva llum. Les cèl.lules epitelials tenen característiques poc diferencials i presenten freqüents mitosis.

Així la glàndula digestiva en Palaemonetes zariquieyi presenta una disposició ventral en el cefalotòrax i una forma piramidal amb dues prolongacions cap a la regió anterior.

L'observació dels tubs hepatopancreàtics al microscopi òptic permet de detectar característiques cel.lulars diferencials de manera que podem agrupar les cèl.lules epitelials seguint la nomenclatura clàssica (Hirsch i Jacobs 1928):

- cèl.lules E: situades a la regió terminal dels túbuls, presenten mitosi.
- cèl.lules R: tenen grosses gotes lipídiques i amb relativa freqüència presenten un cos dens de situació apical. En el polus apical s'observa una xapa ben desenvolupada.
- cèl.lules F: caracteritzades pel seu citoplasma altament basòfil, s'observa, habitualment, vacuols perinuclears i un menor desenvolupament de la xapa.
- cèl.lules B: presenten un citoplasma completament vacuolat.

Per últim hem identificat un cinquè tipus cel.lular de situació basal:

- cèl.lules endocrines: cèl.lules de secció triangular de citoplasma pàlid i amb presència d'alguns grànuls de secreció.

La distribució dels tipus cel.lulars en els túbuls de l'hepatopàncreas no és uniforme, de manera que en un túbul podem distingir-hi tres regions:

-regió distal: regió terminal dels túbuls on és localitzen cèl.lules epitelials en les que s'observen mitosis. Cèl.lules que per les seves característiques morfològiques podem agrupar en les denominades cèl.lules E (embrionàries) per Hirsch i Jacobs (1928). En aquesta regió terminal habitualment les cèl.lules no presenten gotes lipídiques. S'observa com les cèl.lules E es van diferenciant gradualment cap a cèl.lules R o F. La llum del túbul és estreta.

-regió mitjana: regió que podem subdividir en regió mitjana distal on alternen cèl.lules F, i B. En aquest tram destaca

l'absència bastant general de cèl.lules que continguin gotes lipídiques (cèl.lules R). Regió mitjana proximal en la qual observem una majoria de cèl.lules amb grosses gotes lipídiques (cèl.lules R, absorbents madures), si bé també s'observen cèl.lules F (fibril.lars) poc nombroses i cèl.lules B (vacuolades).

-regió proximal: regió en la qual trobem una majoria de cèl.lules del tipus R (absorbents), 85 %. Les cèl.lules B (vacuolades) constitueixen un 15 % i les cèl.lules F (fibril.lars) un 1 %.

5. ULTRAESTRUCTURA DE L'HEPATOPANCREAS.

La resolució de la microscòpia electrònica permet de verificar que els túbuls de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi estan formats per cèl.lules epitelials prismàtiques que identifiquem com a cèl.lules E (embrionaries), R (absorbents), F (fibril.lars), i B (vacuolades). Hem pogut observar també cèl.lules basals i de naturalesa endocrina.

Les cèl.lules epitelials es recolzen en una làmina basal. Exteriorment a ella es troben fibres musculars amb una disposició periòdica. (LAM. VIII, Fig. 1, 2). Entre els túbuls de l'hepatopàncreas es localitzen diferents tipus cel.lulars hemàtics així com vasos sanguinis. (LAM. XLVI, Fig.1).

5.1. ELEMENTS EXTERIORS ALS TUBULS EPITELIALS DE L'HEPATOPANCREAS

5.1.1. FIBRES MUSCULARS.

Les fibres musculars, es localitzen externament a la làmina basal i presenten una disposició, principalment, circular al túbul.

En observacions realitzades amb el microscopi electrònic de rastreig podem constatar la disposició periòdica dels feixos musculars en disposició circular, així mateix s'observa musculatura menys desenvolupada, no tant potent, disposada paral·lelament al túbul. (LAM. VIII, Fig.2). S'observa una periodicitat en

la disposició d'aquestes cèl.lules musculars, que varia segons el tram del túbul glandular. Així en la part distal es troben cada 13-14 μm , mentres que a la part més proximal estan més espaiades, cada 30 μm , coincidint amb un major diàmetre de la llum del túbul. (LAM. VIII, Fig. 1).

Les característiques ultraestructurals que presenten aquestes cèl.lules musculars són essencialment diferents respecte a la musculatura estriada esquelètica present en la massa corporal i a la present en altres trams del tub digestiu (estómac, per exemple).

Els miofilaments no estan uniformament distribuïts, estan preferentment localitzats en la regió citoplasmàtica en contacte amb la làmina basal de les cèl.lules epitelials.

Sovint s'observen, en una mateixa cèl.lula, miofilaments amb una disposició ortogonal. Els miofilaments orientats perifèricament, circularment al túbul, són majoritaris, observant-se en posició ortogonal i menys nombrosos miofilaments normalment situats al costat de la làmina basal de l'epiteli. (LAM. XI, Fig. 1; LAM. XXIX, Fig. 1).

En seccions transversals, els miofilaments de miosina de 0,0282 μm , presenten una disposició cònica i periòdica. (LAM. XI, Fig. 2, 3), observant-se també la presència del sistema T a la perifèria de la cèl.lula.

El nucli d'aspecte ovalat, de 8,7 μm per 4,8 μm presenta masses d'heterocromatina distribuïdes perifèricament. El contorn del nucli sovint és lleugerament lobulat i en ocasions molt

properes a l'envolcall nuclear, quasi bé en contacte, hi trobem mitocondris petits i esfèrics. El condrioma està doncs poc desenvolupat, format per petits mitocondris esfèrics de 0,8 μm (LAM. XI, Fig. 1 i 3).

Emplaçats força perifèricament, a una banda de la fibra muscular, es localitzen vesícules de reticle sarcoplasmàtic, mitjanament desenvolupat i nombrosos citoribosomes.

5.1.2. VASOS SANGUINIS

Entre els túbuls de l'hepatopàncreas es localitzen vasos sanguinis i diferents tipus cel.lulars de naturalesa hemàtica. Els vasos sanguinis presenten un diàmetre variable de 10 μm a 20 μm .

Constituïts per una fina paret en la qual distingim diverses capes:

L'íntima, en contacte amb la llum del vas sanguini, és acel.lular, es tracta d'una capa fibrosa semblant a una làmina basal, d'uns 0,17 μm de gruix i d'un recorregut sinuós. Jonhson, 1980, indica que tots els vasos inclús el més petit dels capilars posseeixen en el cranc Callinectes sapidus una capa íntima que és semblant morfològicament i en propietats tintorials a la làmina basal de l'epicardi.

A sota de l'íntima s'observa l'endoteli. La llum del capilar està probablement envoltat, al menys per dues cèl.lules endotelials, que tenen un complex d'interdigitacions de la membrana

plasmàtica. (LAM. XLVI, Fig. 1; LAM. XLVII, FIG. 3). Les cèl·lules endotelials són estretes, tenen el nucli rodó i irregular i usualment homogeni, i el nucleol conspicu o absent.

El citoplasma és finament granular observant-se reticle endoplasmàtic, petits mitocondris, i nombrosos elements microtubulars. Al voltant de l'endoteli externament s'observa, com és habitual una fina capa: la làmina basal. (LAM. XLVII, Fig. 3).

Voltant l'endoteli de tots els vasos, hi ha una capa fina de col·làgena, que si el vas està relaxat és ondulada.

A l'exterior dels vasos sanguinis de l'hepatopàncreas s'observa, amb força freqüència, elements cel·lulars agrupats i adherits al vas, recordant els pericits dels sinusoids hepàtics dels vertebrats. (LAM. XLVI, Fig. 1).

5.1.3. ELEMENTS CEL·LULARS ENTRE ELS TUBULS DE L'HEPATOPANCREAS.

Entre els túbuls de l'hepatopàncreas es localitzen vasos sanguinis, ja descrits, i sovint relacionats amb ells diferents tipus cel·lulars alguns d'ells possiblement de naturalesa hemàtica. Segons les característiques morfològiques podem agrupar els següents tipus:

5.1.3.1. CEL·LULES AMB INCLUSIONS.

Cèl·lules caracteritzades per presentar en el seu citoplasma nombroses inclusions o grànuls, de tamany i composició variable de l'ordre de 0,2 a 2,6 μm i de forma molt irregular. Habitualment en seccions semifines de l'hepatopàncreas només s'observen regions citoplasmàtiques en els que hi distingim gran quantitat de grànuls, alguns d'ells metacromàtics.

El nucli situat en la zona central de la cèl·lula és ovoide i presenta un gros nucleol amb el component granular i fibril·lar segregats, normalment l'element granular està situat perifèricament al fibril·lar.

Quant a les característiques dels grànuls citoplasmàtics podem distingir dos tipus d'inclusions:

- gotes de naturalesa lipídica de petit tamany 0,1 a 0,3 μm , en talls semifins tenyits amb blau de toluidina confereixen al citoplasma de les cèl·lules un color verdós degut a la metacromàsia que presenten els lípids.

- grànuls de tamany molt variable de 0,2 μm a 2,6 μm . De secció un xic polièdrica presenten en el seu interior dos elements morfològicament característics i diferents: la zona perifèrica de 0,05 μm d'electrodensitat mitja, i en la zona central un element electrodens amb forma ròmbica i de aspecte paracrístali de 0,07 μm a 0,4 μm . Tots els grànuls presenten els dos elements, encara que el nombre d'elements ròmbics varia, de manera que els grànuls més petits presenten un o dos elements ròmbics, mentre que en els grànuls més grossos poden observar-se'n fins a quaranta. (LAM. XLVI, Fig. 1; LAM. XLVII, Fig. 1).

Normalment estan situats en la proximitat dels túbuls sota de la làmina basal i en contacte amb ella o a prop del vasos sanguinis. Cèl.lules iguals estan associades amb l'intestí mitjà formant un cordò per sota de la musculatura.

5.1.3.2. CEL.LULES AGRUPADES: FAGOCITS

En les proximitats dels túbuls i de les cèl.lules granuloses i de manera bastant constant en l'exterior dels vasos sanguinis es localitzen normalment de dues a quatre cèl.lules agrupades formant rosetes.

El citoplasma amb un contorn força sinuós presenta nombrosos grànuls esfèrics i electrodensos, de petit tamany: 0,48 μm a 0,08 μm de diàmetre mig. (LAM. XLVI, Fig 1).

El nucli, situat en el centre de la cèl.lula, té una forma ovoide i una mica irregular, presentant sovint un aspecte

lobulat.

En la proximitat del nucli hi ha sovint vacuols de naturalesa heterofàgica amb restes de membrana en el seu interior que presenten disposició mielínica. El tamany de aquests vacuols es variable per terme mitja de 4 μm de diàmetre. (LAM. XLVII, Fig. 1).

La membrana citoplasmàtica té un recorregut bastant sinuós de manera que semblen cèl.lules amb característics fagocítiques. Ja hem indicat que una de les característiques peculiars d'aquestes cèl.lules és junt amb el contorn irregular del seu citoplasma la seva agrupació. Normalment estan agrupades, en nombre reduït: dues o tres; i al voltant dels vasos sanguinis principalment.

Externament a elles i rodejant l'agrupació hi ha una capa no contínua que presenta insercions en el citoplasma de les cèl.lules. (LAM. XLVI, Fig. 1; LAM. XLVII, Fig. 1). Aquesta capa, d'aspecte fibrós, volta completament l'agrupació de cèl.lules. Es tracta de material extracel.lular que possiblement actui com una làmina basal. Aquest material extracel.lular és sintetitzat per les cèl.lules fagocítiques, observant-se sovint grànuls citoplasmàtics excretant el seu contingut.

5.1.3.3. CEL.LULES GRANULOSES

Amb molt poca freqüència hem observat entre els túbuls cèl.lules que presenten una morfologia que recorda als hemocits granuloses. (LAM. XLVII, Fig. 2).

Es tracta de cèl.lules esfèriques de 15 μm de diàmetre i que

presenten en el citoplasma pocs grànuls esfèrics, electrodensos i de 0,2 a 0,4 μm de diàmetre.

5.2. EPITELI DELS TUBULS DE L'HEPATOPANCREAS.

5.2.1. LAMINA BASAL.

Les cèl.lules epitelials que constitueixen els túbuls de l'hepatopàncreas descansen sobre una làmina basal força més desenvolupada del que és habitual en els epitelis, és de l'ordre dels 0,3 - 0,4 μm de gruix. Està estructurada en estrats de diferent electrodensitat. Normalment està constituïda per sis franges electrodenses amb un gruix de 23 nm alternants amb zones clares als electrons de 33 nm. Aquesta làmina basal pot adoptar un recorregut més o menys ondulat segons la contracció de les fibres musculars. (LAM. XLVIII, Fig. 1 i 2).

5.2.2. CONTACTES INTERCEL.LULARS.

A la regió apical de les cèl.lules epitelials que constitueixen els túbuls de l'hepatopàncreas, com és habitual en les cèl.lules epitelials, es localitzen zones especialitzades de contacte. Tenen una profunditat total de 2 μm i hi distingim les següents característiques: les membranes de les dues cèl.lules adjacents estan separades per un espai intercel.lular de 300 Å d'amplada. En la regió hialoplasmàtica de aquesta zona de contacte s'observa una capa de material electrodens. (LAM. X, Fig. 4). Es tracte doncs de una típica unió de tipus adherents.

Per sota d'aquesta zona d'unió adherents hi ha un estreti-

ment de l'espai intercel·lular, al mateix temps s'observa la presència de material electrodens que omple l'espai intercel·lular. (LAM. X, Fig. 3 i 4). En alguna ocasió hem observat, a una distància de la llum d'uns 0,5 μm a 0,95 μm , com el material que oblitera l'espai intercel·lular presenta una distribució alternant en zones de diferent electrodensitat, la qual cosa li confereix l'aspecte típic de les unions septades. Els septes els podem observar ocasionalment, i força bè, amb la tècnica habitual de contrast (LAM. X, Fig. 4 i 5).

La utilització de la tècnica del nitrat de lantà, conegut marcador de l'espai intercel·lular, permet de visualitzar clarament aquestes zones d'unió. La solució col·loidal del nitrat de lantà utilitzat queda retinguda en els espais entre septes, essent fàcils de distingir. Amb aquesta tècnica podem constatar que els septes queden separats per zones periòdiques de 12 nm. (LAM. X, Fig. 1, 2, 4).

La configuració particular de l'epiteli, ens permet distingir sobretot en talls transversals zones d'unió tricel·lulars. Normalment en les zones de contacte tricel·lular hi ha una dilatació de l'espai intercel·lular de forma triangular. Aquestes zones de contacte tricel·lular presenten diferent morfologia segons on estan ubicades. Si la zona de contacte tricel·lular està en la regió de la unió de tipus septat llis, amb la tècnica del nitrat de lantà podem visualitzar el recorregut sinuós del material intercel·lular dels septes, característic de l'unió septat llis. (LAM. X, Fig. 1 i 2). Si correspon a una zona més

allunyada de la llum del túbul s'observa que no contenen material extracel.lular o en ocasions com el material intercel.lular presenta una configuració homogènia amb una electrodensitat mitja (LAM. XXVI, Fig. 2 i 3).

En determinats casos i particularment entre cèl.lules de tipus absorbents (cèl.lules R) hem observat dilatacions en l'espai intercel.lular. (LAM. XXVII, Fig. 1, 2 i 3). Les seves particularitats i característiques seran estudiades posteriorment (apartat 5.2.4.5.).

Les membranes laterals en la seva regió basal també presenten regions especialitzades en contacte. En talls contrastats amb les tècniques habituals s'observa, amb relativa freqüència, unions de tipus septat. (LAM. XXXIII, Fig. 2 i 3). La impregnació amb nitrat de lantà posa de manifest, clàrament, aquesta unió (LAM. XXXII, Fig. 1).

5.2.3. CEL·LULES E (EMBRIONARIES).

Les cèl·lules denominades per **Hirsch i Jacobs** (1928) cèl·lules E o embrionàries es localitzen, preferencialment a la part més distal dels túbuls de la glàndula digestiva. En el cas de *Palaemonetes zariquieyi* ocupen aproximadament uns 800 µm de la regió terminal dels túbuls glandulars.

Les característiques morfològiques de les cèl·lules E, observades al microscòpi òptic són semblants a la resta de les cèl·lules epitelials de l'hepatopàncreas: cèl·lules de forma prismàtica amb una xapa ben desenvolupada a la part apical. Presenten un citoplasma sense cap característica remarcable, no observant-s'hi gotes lipídiques. El tret principal que permet de diferenciar-les de les altres cèl·lules és el seu nucli voluminós. El nucli, situat basalment, és voluminós i de forma lleugerament oval amb un diàmetre mig de 9 per 18 µm. Presenta abundant heterocromatina, constituint masses distribuïdes per tot el nucleoplasma, presentant també un voluminós nucleol. (Lam. XII, Fig. 1, 2 i 3).

Les cèl·lules E presenten sovint divisions mitòtiques, tenint lloc, doncs, en la regió terminal del túbul, la renovació i proliferació de les cèl·lules epitelials dels túbuls hepatopancreàtics. Per aquest motiu se les va denominar cèl·lules embrionàries. (**Hirsch i Jacobs**, 1928).

Cal assenyalar, però, que la proliferació no és exclusiva de la regió distal dels túbuls. L'estudi realitzat ens ha permès de

localitzar mitosis en regions més proximals. Així hem observat mitosis entre cèl.lules diferenciades, cèl.lules B (vacuolades) i cèl.lules R (absorbents).

Les cèl.lules en divisió presenten les següents característiques ultraestructurals: apicalment es localitzen microvillis de 0,9 a 1 μm , en els quals hi distingim externament la típica matriu extracel.lular: glicocalix observant-se'n una major densitat a la part més apical dels microvillis. En el citoplasma apical es troben algunes vesícules extremadament electrodenses de 0,100 a 0,200 μm de diàmetre i mitocondris distribuïts formant una petita franja apical. (LAM. XIII, Fig. 1).

El citoplasma presenta vesícules curtes de reticle endoplasmàtic rugós i nombrosos poliribosomes (LAM. XIII, Fig. 2, LAM. XIV, Fig. 3), ambdós trets característics de cèl.lules poc diferenciades (Stroband i Debets, 1978). Desplaçats lateralment s'observen cossos densos de 2,6 μm de diàmetre màxim, que recorden cossos de naturalesa lisosòmica. (LAM. XIII, Fig. 1).

Els dictiosomes que constitueixen el complex de Golgi consten de quatre o cinc petits sàculs aplanats (0,024 μm de diàmetre) amb un contingut dens als electrons. En les seves proximitats hi ha petits grànuls de 0,0539 μm de diàmetre, presenten una electrodensitat elevada a la part central, envoltada per una zona de poca electrodensitat, semblants als localitzats a la part apical. (LAM. XIV, Fig. 3).

El condrioma està constituït per escassos i petits mitocon-



dris 0,3 a 0,8 μm , localitzats a la regió apical de la cèl.lula i en les proximitats del complex de Golgi.

Les cèl.lules, en el moment que presenten la divisió mitòtica, normalment no es recolzen en la làmina basal. El pla de divisió cel.lular és paral·lel a l'eix major de la cèl.lula, de manera que les dues cèl.lules filles mantenen el contacte amb la llum del túbul.

Entre les cèl.lules en fase de divisió, cèl.lules clarament E, trobem cèl.lules amb característiques nuclears de cèl.lules E (volum nucli, heterocromatina abundant), però que tenen característiques ultraestructurals d'algun orgànel citoplasmàtic que ens indiquen un inici de diferenciació cap a altres tipus cel.lulars: cèl.lules R (absorbents) o cèl.lules F (fibril·lars).

En concret el complex de Golgi és l'orgànel en el qual primer detectem una diferenciació. Així s'observa un inici de dilatació de les vesícules Golgianes que ens indiquen una diferenciació cap a cèl.lules F (cèl.lules fibril·lars) (LAM. XIV, Fig 4). Altres cèl.lules mantenen els dictiosomes petits (LAM. XIV, Fig. 2) i presenten en el citoplasma grànuls de glicogen, ambdues característiques indiquen una diferenciació cap a cèl.lules R (cèl.lules absorbents). Aquestes cèl.lules presenten, també, en ocasions, a la regió apical, petites gotes lipídiques, el volum de les quals augmenta progressivament a mesura que ens desplaçem cap a la part proximal del túbul.

En la regió basal de les cèl.lules E es localitza un sistema tubular o reticular format a partir d'invaginacions de la

membrana basal i lateral de la cèl.lula. Es tracta d'un sistema membranós molt ramificat i amb electrodensitat mitjana, que recorda al que trobem en les cèl.lules R. En les cèl.lules E, el sistema túbulo-laminar presenta una distribució regular, que podem associar a la morfologia pròpia del reticle endoplasmàtic llis.

5.2.4. CEL·LULES R (ABSORBENTS).

5.2.4.1. CARACTERÍSTIQUES GENERALS.

A l'observar els túbuls epitelials de la glàndula digestiva al microscopi òptic, en talls realitzats amb material incluit amb plàstic o amb parafina, destaca del conjunt de cèl·lules epitelials que formen part dels túbuls de l'hepatopàncreas, les cèl·lules denominades per **Hirsch i Jacobs** (1928) cèl·lules R (reabsorvent cells).

Es el tipus cel·lular més majoritari, localitzant-se en tots els trams del túbul epitelial, majoritàriament en la zona mitja proximal del túbul on constitueix el 80 % de les cèl·lules. (LAM. V, Fig. 1 i 2).

Es tracta de cèl·lules epitelials prismàtiques d'unes 65 µm d'alçada com a màxim i de 19 µm d'amplada. Respecte a l'alçada de la cèl·lula cal indicar que la mesura és variable, inclús en la mateixa cèl·lula, doncs la llum del túbul presenta una forma estrellada degut precisament a la diferent alçada de les cèl·lules epitelials que el constitueixen i són concretament aquestes cèl·lules les que presenten més variacions. El seu citoplasma poc basòfil presenta grossos vacuols de naturalesa lipídica, la qual cosa permet que siguin fàcilment diferenciables al microscopi òptic, gràcies a la seva refringència i a les seves propietats tintorials. (LAM. VI, Fig. 1, 2; LAM. VII, Fig. 1, 2 i 3).

Són cèl.lules altament polaritzades, de manera que podem diferenciar-ne tres regions amb característiques diferents:

5.2.4.2. REGIO APICAL.

La part apical presenta una xapa ben desenvolupada, formada per característics microvillis, que en aquest tipus cel.lular són esvelts de 1,2 μm d'alt per unes 52 nm de gruix. El conjunt de característiques d'aquests microvillis són sensiblement diferents als que es troben en els altres tipus cel.lulars (LAM. XVI, Fig. 2). Estan distribuïts de manera homogènia en la superfície apical de la cèl.lula, deixant un espai internmicroviliari mig de 400 Å. L'aspecte dels microvillis de les cèl.lules R (absorbents) contrasta amb els dels altres tipus cel.lulars no només per ser els més alts, i per la seva distribució uniforme en tota la superfície apical de la cèl.lula, sinó pel fet de presentar la membrana que delimita cada microvilli un aspecte lleugerament sinuós, la qual cosa motiva que els microvillis presentin un aspecte "de rosari". (LAM. XV, Fig 1 i 2; LAM. XVI, Fig.1).

La membrana citoplasmàtica externament està recoberta per un material fibrós comparable al glicocalze present en les cèl.lules intestinals dels mamífers. El glicocalze com és força habitual, presenta un aspecte fibril·lar, està format per filaments de glicoproteïnes positives a la tècnica del PTA (àcid fosfotúngstic) (LAM. XVI, Fig. 3; LAM. XX, Fig. 1) que volten tota la superfície apical de la cèl.lula. Els filaments s'interconnecten

entre els diferents microvillis. A la part més apical dels microvillis la capa de glicoproteïnes externes són més abundants, resultant com a conseqüència una regió que amb la tècnica del contrastat habitual és força més electrodensa (LAM. XVI, Fig. 1 i 2; LAM. DXX, Fig. 1). Aquesta regió denominada "capitulum" per Krenenz i Chapman (1975), queda marcada positivament amb la tècnica del PTA (àcid fosfotúngstic). (LAM. XX, Fig. 1).

Com és habitual els microvillis presenten en el seu interior estructures fibril·lars que constitueixen el seu citoesquelet. Formats per microfilaments d'actina de 11 Å de gruix, disposats formant un eix paral·lel en tota la seva longitud del microvilli (LAM. XVI, Fig. 1 i 2). En l'extrem dels microvillis els filaments d'actina queden incluíts en un casquet, mal definit de material amorf. Existeixen microfilaments que creuen i uneixen els filaments d'actina adjacents, constituïts principalment per la proteïna vil·lina. Altres filaments formats per fimbrina actuen de pont entre els filaments d'actina i la membrana cel·lular.

Els filaments d'actina penetren uns 0,9 µm a l'interior a la zona apical del citoplasma (LAM. XV, Fig. 1 i 2; LAM. XVI, Fig. 1 i 2; LAM. DXX, Fig. 1 i 2). Aquesta zona del citoplasma constituïda per elements del citoesquelet forma la zona denominada xarxa terminal. Normalment està caracteritzada per l'absència d'orgànuls cel·lulars, trobant en ocasions grànuls de β glicogen que presenten reacció positiva a la tècnica de la metamina argènica (tècnica de Thiéry). (LAM. XX, Fig. 2).

Tanmateix aquesta zona terminal no sempre presenta la morfologia característica, trobant alguna variació en la presència en aquesta zona de vesícules petites d'electrodensitat variable amb un diàmetre de 0,112 μm a 0,0561 μm . Creiem que es tracta de vesícules involucrades en el transport del glucocalze. (LAM. XVIII, Fig. 4). En algun cas es veuen petites vesícules de reticle endoplasmàtic en la regió terminal de les cèl.lules R (absorbents). (LAM. XVIII, Fig. 1).

Les cèl.lules R envellides presenten trencament de la cèl.lula en la regió apical i el lliurament dels orgànuls cel.lulars i dels lípids presents a les cèl.lules a la llum del túbul. (LAM. LXX, Fig. 2). Aquest fet explica la presència en l'interior del túbul de gotes lipídiques de tamany i textura igual a les presents en l'interior d'aquestes cèl.lules.

Sobre això és important de resaltar que en l'observació al microscopi fotònic que hem tingut ocasió de realitzar de les femtes de l'animal, s'observen nombroses gotes de naturalesa lipídica de tamany i aspecte igual a les presents en les cèl.lules R (absorbents).

5.2.4.3. CONDRIOMA.

Per sota d'aquesta zona terminal és localitzen nombrosos mitocondris. Aquests mitocondris normalment estan distribuïts formant una franja i ordenats de tal manera que el seu eix major està orientat paral·lelament a la llum del túbul (LAM. XV, Fig 1;

LAM. XVI, Fig. 1). Es tracta de mitocondris que medeixen de 0,6 μm a 2,6 μm , de diàmetre, que poden presentar formes irregulars. Podem distingir dues poblacions mitocondrials presents en les cèl.lules R: mitocondris amb matriu poc electrodensa i nombroses crestes una mica tubulars en el seu interior (LAM. XVIII Fig. 1 i 4; LAM. DXX, Fig. 1) o bé mitocondris amb matriu densa als electrons i crestes menys nombroses i més llargues. (LAM. XV Fig. 1 i 2, LAM. XVI, Fig. 1; LAM. XXI, Fig. 1 i 2).

Per sota d'aquesta franja de mitocondris de la regió apical es poden localitzar agrupacions mitocondrials situades en la regió central o lateral, a prop de les membranes laterals, disposades amb el seu eix major paral·lel al eix major de la cèl.lula. (LAM. XV, Fig. 1; LAM. XXVIII, Fig. 3).

El nombre de mitocondris d'aquestes cèl.lules és variable. En ocasions el condrioma ocupa gran part del volúm cel.lular. Els mitocondris presenten una matriu poc densa als electrons i tenen nombroses crestes curtes i tubulars. L'augment del condrioma coincideix amb un desenvolupament del complex de Golgi format per molts dictiosomes considerablament corbats i amb grànuls densos en la seva proximitat. (LAM. XXIII, Fig. 2).

En la regió basal de les cèl.lules R també es localitza un important nombre de mitocondris, situats entre les invaginacions laminars i el reticle endoplasmàtic llis. (LAM. XXI, Fig. 2).

5.2.4.4. COSSOS DENSOS.

Per sota d'aquesta regió apical i en les seva proximitat es troben amb freqüència vacuols, d'origen probablement lisosòmic. Presenten diferents característiques de manera que podem agrupar-los segons la seva morfologia:

- **cossos d'electrodensitat elevada.** De tamany variable, medeixen de 0,3 μm a 1,7 μm de diàmetre. Presenten un contingut, en conjunt, d'elevada electrodensitat observant-se zones o regions en el seu interior totalment electrodenses. (LAM. XV, Fig. 1 i 2; LAM. XVIII, Fig. 1, 2, 4). Tenen una forma una mica esfèrica però el seu contorn és irregular. (LAM. XV Fig. 1 i 2, LAM. DXX, Fig. 1 i 2).

Es disposen agrupats amb un nombre variable de cinc a sis. Freqüentment presenten una zona tubulo-vesicular en el centre de l'agrupació, de manera que s'observa una xarxa tubular de connexió entre aquest cossos densos. Es tracta d'una estructura d'aspecte tubular, normalment molt electrodensa que té 63 nm de diàmetre i que presenta una estructura bastant regular. (LAM. XV, Fig. 2, LAM. XVIII, Fig. 4; LAM. DXX, Fig. 1; LAM. XXIII, Fig. 2).

La membrana i la perifèria d'aquests cossos densos queden marcats amb la tècnica del PTA (àcid fosfotúngstic) positivament. (LAM. XX, Fig. 1).

El seu interior és heterogeni. Es localitzen restes de membrana amb disposició mielínica, junt amb regions d'electro-

densitat elevada. (LAM. XVIII, Fig. 4). Aquestes zones d'elevada electrodensitat poden presentar un aspecte homogeni o finament granular. (LAM. XVIII, Fig. 4).

Aquestes estructures electrodenses, freqüents en les cèl.lules R (absorbents), presenten una distribució normalment reduïda a la part apical de la cèl.lula però en alguna ocasió (ho hem observat en l'estadi D₂, període de posmuda del cicle de muda) es troben cossos electrodensos semblants de 0,4 a 0,7 µm escampats per tot el citoplasma inclús al basal. (LAM. XXVII, Fig. 4). En aquest cas no estan interconnectats, coexistint entre mitocondris densos i petits, i invaginacions de la membrana pròpies de la regió basal de les cèl.lules R. La anàlisi microanalítica de aquests cossos no ha revelat la presència de cap element inorgànic, sols detectant-se osmi.

A l'utilitzar la tècnica del piroantimonià per detectar la presència de ions Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ o Na⁺, aquests cossos densos queden també altament contrastats. La detecció d'aquest ions amb la tècnica del microanàlisi de ratjos X realitzada en talls semifins utilitzant un detector incorporat en un microscopi de rastreig, ha donat resultats negatius. No poden determinar la seva presència amb aquest mètode.

S'ha realitzat la microanàlisi amb ratjos X en talls ultrafins en mostres que provenien de tres animals diferents. Sols s'ha detectat en un d'ells la presència de zinc. Es però aventurat qualsevol conclusió al ser les reixetes on estaven els

talls analitzats de coure i el pic característic del coure i el zinc coincideixen.

- vacuols grossos d'aspecte clar i arrodonit amb un contingut heterogeni, amb molta freqüència s'observen restes de membrana constituint formacions d'aspecte mielínic. (LAM. XVII, Fig. 1). Aquests vacuols de 2,8 μm a 11 μm presenten activitat fosfatàsica àcida. (LAM. XVII, Fig. 2).

5.2.4.5. DILATAIONS DE L'ESPAI INTERCEL·LULAR.

En determinats casos es poden observar dilatacions de l'espai intercel·lular lateral, de manera que es formen petits canals intercel·lulars. Aquests canals es poden observar buits i amb una mica algo estrellada, presentant un diàmetre de 0,2 μm (LAM. XXVI Fig. 1). En altres ocasions aquests espais intercel·lulars adopten un màxim desenvolupament, la seva secció no és tant estrellada presentant una amplada de 0,4 a 0,8 μm , i una allargada de 2,7 μm . En el seu interior s'observen petites partícules d'electrodensitat variable, i aspecte esfèric o bacil·lar, medint de 0,084 a 0,12 μm . (LAM. XXVII, Fig. 2, 4).

Aquestes dilatacions intercel·lulars es localitzen preferencialment a la regió basal de les cèl·lules R, coincidint amb un bon desenvolupament de les invaginacions de la membrana basal i lateral d'aquestes cèl·lules. Aquesta particular disposició de la membrana lateral i basal possibilita que en les regions properes

a les membranes laterals i als canals intercel·lulars s'observin formacions més o menys esfèriques amb un contingut igual al present a les dilatacions de l'espai intercel·lular. Aquestes formacions corresponen al mateix tipus de estructures i en determinats casos es pot observar la seva continuïtat amb la membrana lateral de les cèl·lules. (LAM. XXVII, Fig. 4).

Com ja hem indicat la particular configuració de l'epiteli ens permet d'observar zones de contacte tricel·lular. Les zones de contacte tricel·lular, normalment tenen una secció triangular i les seves cares medeixen $0,3 \mu\text{m}$, presentant un contingut normalment clar als electrons i uniforme. (LAM. XXVI, Fig. 1, 2, 3).

Coincidint amb les dilatacions de l'espai intercel·lular, en les regions de contacte tricel·lular s'observen també dilatacions de l'espai intercel·lular al mateix temps que es visualitzen la presència en el seu interior del mateix tipus d'inclusions vesiculars. Les regions de contacte tricel·lular presenten un diàmetre mig de $1,05 \mu\text{m}$. Per la qual cosa podem considerar en aquests casos que en la regió de contacte tricel·lular s'observen canals intercel·lulars. (LAM. XXVII, Fig. 1 i 2).

Partícules semblants a les de l'espai intercel·lulars es poden localitzar tant en els canals o dilatacions intercel·lulars com en la regió basal entre la membrana basal i la làmina basal. (LAM. XXVII, Fig. 3).

Quant a les regions laterals de les cèl·lules hem d'indicar que ocasionalment s'observen zones d'interrupció de les membranes

laterals. Aquestes interrupcions de les membranes són irregulars respecte al seu tamany de 1,6 μm a 0,08 μm observant-se, doncs, una continuïtat entre les dues cèl.lules veïnes. Aquestes discontinuïtats difícils de visualitzar normalment s'observen sobre tot amb la tècnica del nitrat de lantà. (LAM. XXVIII, Fig. 1). Creiem que és un fet bastant minoritari i possiblement motivat pel recorregut normalment bastant sinuós de la membrana lateral. (LAM. XXVIII, Fig. 2). En cap cas són comparables als ponts intercel.lulars descrits entre les cèl.lules de la línia germinal.

5.2.4.6. INCLUSIONS PARAPLASMÀTIQUES.

Si els trets descrits fins al moment caracteritzen aquest tipus cel.lular la presència, de forma bastant constant, de grosses gotes esfèriques de naturalesa lipídica i de grànuls de β glicogen és la característica principal d'aquestes cèl.lules. Les gotes lipídiques són normalment esfèriques i presenten un contorn regular i amb un tamany variable: de 4 μm a 16 μm les més grosses. (LAM. V, Fig. 1, 2; LAM. VI, Fig. 1; LAM. VII, Fig. 1, 2, 3). El nombre de gotes lipídiques per cèl.lula també és variable, normalment n'hi ha una o dues de gotes lipídiques, però aquesta quantitat pot augmentar sobre tot quan es tracta de lípids de tamany reduït. Normalment es localitzen a la regió superior al nucli, ocasionalment es poden localitzar també a la part basal de la cèl.lula. (LAM. XXI, Fig. 2).

En la proximitat dels lípids es localitzen diferents orgànuls citoplasmàtics :

- sàculs de reticle endoplasmàtic disposats concèntricament a la gota lipídica o amb una disposició radial. (LAM. XXI, Fig. 2; LAM. XXII, Fig. 3). En el seu interior es pot observar un contingut d'aspecte granulós de 90 a 180 Å que resulta ser positiu a la tècnica del Thiéry. (LAM. XXII, Fig. 1, 2).

- mitocondris amb matriu electrodensa i que encerclen el lípid. (LAM. XXI, Fig. 1; LAM. XXII, Fig. 3).

- vacuols de naturalesa lisosòmica. (LAM. XVIII, Fig. 3), localitzant activitat fosfatàsica àcida en la perifèria de les inclusions lipídiques. (LAM. XXII, Fig. 4).

El hialoplasma d'aquestes cèl·lules presenta també gran quantitat de grànuls de 334 Å. Es tracta de β glicogen, substància de reserva glucídica, per tant resulta marcat amb les tècniques de Thyéri (metamina argèntica) i del P.T.A. (àcid fosfotúngstic). (LAM. XX, Fig. 1, 2). Normalment estan escampats per tot el citoplasma, tant a la part apical com a la part basal, i amb freqüència als voltans de les inclusions lipídiques. (LAM. XXI, Fig. 1; LAM. XXII, Fig. 3). La quantitat de β glicogen és variable com podem observar en les microfotografies. (LAM. DXX, Fig. 1; LAM. XX, Fig. 1 i 2)

5.2.4.7. NUCLI I REGIO PERINUCLEAR.

El núcli de forma oval, presenta la heterocromatina repartida a la perifèria amb un nucleol prominent.

En les Taules X, XI, XII, XIII estan els valors de la mitjana dels paràmetres diàmetre màxim i mínim del nucli, així com l'àrea i la relació àrea nucli/ àrea citoplasma.

En front dels porus nuclears presenten uns acúmuls electrodensos de 70 a 80 nm. Després de realitzar la tècnica de Bernhard aquests acúmuls queden marcats tractant-se doncs de material ribonucleoproteic.

5.2.4.8. RETICLE ENDOPLASMATIC.

El reticle endoplasmàtic rugós està ben desenvolupat en aquestes cèl.lules, amb les vesícules disposades preferencialment al voltant del nucli. Les seves vesícules habitualment són curtes i tenen una matriu clara als electrons. Com ja hem indicat vesícules de reticle endoplasmàtic poden encerclar les grosses inclusions lipídiques presents en aquest tipus cel.lular.

En algunes cèl.lules es troben dilatacions, possiblement de reticle endoplasmàtic. De forma irregular, medeixen de 0,4 a 0,6 µm repartides de manera irregular pel citoplasma, sovint pròxims del complex de Golgi. (LAM. XXIV, Fig. 1). El citoplasma està ple d'aquestes vesícules observant-se el condrioma molt reduït. S'atverteix una relació de proximitat entre les cisternes

dilatades del reticle endoplasmàtic dilatades i grànuls de β glicogen. (LAM. XX, Fig. 1).

El reticle endoplasmàtic llis present en les cèl.lules R, està habitualment disposat en la regió basal de la cèl.lula, entre les invaginacions de la membrana basal. En els casos de cèl.lules R amb poc desenvolupament de la estructura laminar basal, presenten el reticle endoplasmàtic llis basal molt desenvolupat observant-se amb relativa facilitat zones de comunicació amb la membrana basal. (LAM. XXX, Fig. 2).

5.2.4.9. COMPLEX DE GOLGI.

En la regió perinuclear es localitza el complex de Golgi, en distingim dos tipus diferents de morfologia:

- Complex de Golgi constituït per nombrosos dictiosomes, formats per sis o set cisternes que presenten en conjunt una forma corbada i sinuosa, donant al conjunt un aspecte de mitja lluna. (LAM. XXIII, Fig. 1, 2, 3; LAM. XXIV, Fig. 1).

El fet d'ésser sinuosos determina que hi hagi excepcions respecte a la disposició dels sàculs. Els sàculs de la cara CIS o cara de formació del complex de Golgi estan majoritàriament a la part concava situats internament. Presenten poca electrodensitat i s'hi poden observar interconnexions entre diversos sàculs, (LAM. XXIV, Fig. 1). Presenten un diàmetre de 19,4 nm. En les seves rodalies s'observen algunes vesícules de transició de 38,9 nm que surgeixen del reticle endoplasmàtic rugós.

En el centre de la cavitat concava s'observa una gran vesícula amb un contingut altament granular i d'electrodensitat mitjana. (LAM. XXIV, Fig. 1).

La cara de maduració o cara TRANS està situada a la zona concava del dictiosoma. Els sàculs presenten un contingut força electrodens i mesuren 39 nm de diàmetre. Els seus extrems presenten dilatacions de 0,2 a 0,4 μm , també amb un contingut electrodens, però s'hi pot observar petites zones més electrodenses en el seu interior de 34 nm. Els sàculs d'aquesta cara presenten fenestracions de manera que podem observar zones amb un aspecte de xarxa que connecta vàries vesícules de secreció.

En la proximitat d'aquesta cara sovint s'hi observen grànuls d'elevada densitat als electrons, que serien, possiblement els precursors dels cossos densos als electrons situats a la part apical. (LAM. XXIII, Fig. 3; LAM. XXIV, Fig. 1)

- dictiosomes que constitueixen el complex de Golgi de petit tamany, presenten de 5 a 6 sàculs. Estan també situats a la regió perinuclear, però se n'observa una abundància major a la proximitat de la part basal de la cèl.lula.

El conjunt del dictiosome no és tan corbat, doncs presenten una morfologia més rectilínia. Normalment els sàculs de la cara de formació, cara CIS, estan situats a la part concava dels dictiosomes i presenten els sàculs dilatats tenint un aspecte de vacuols esfèrics amb un diàmetre mig de 0,5 μm . En la seva proximitat s'observen petites vesícules de transició de 43 nm. Tenen un contingut clar als electrons, presentant en el seu

interior partícules d'electrodensitat mitjana que medeixen 36 nm a 76 nm. Possiblement es tracta de partícules de naturalesa lipoproteica. (LAM. XXV, Fig. 1, 2).

La cara de maduració o cara TRANS presenta els sàculs amb electrodensitat elevada. En la seva proximitat s'observen vacuols multivesiculars, densos als electrons de 0,3 μ m de diàmetre. Les vesícules internes més electrodenses medeixen 43 nm. (LAM. XXV, Fig. 1 i 2; LAM. XXIV, Fig. 1).

En les cèl.lules que els complexs de Golgi presenten aquesta morfologia s'hi observen també vacuols amb un contingut vesicular, sobre tot a la part basal de les cèl.lules i en la zones perifèriques, que com s'indica posteriorment correspondrien a partícules de naturalesa lipoproteica. (LAM. XXV, Fig. 3 i 4)

5.2.4.10. REGIO BASAL.

Aquesta zona de la cèl.lula és la que pot presentar més variacions morfològiques. Observem un sistema membranós d'aspecte tubulo-laminar en aquesta regió basal. Normalment la membrana basal i lateral presenta freqüents invaginacions constituïdes per membranes paral.leles i que no presenten ribosomes associats.

Les observacions realitzades utilitzant la tècnica habitual de fixació i contrastat assenyalaven cap a l'idea de l'existència de continuïtat entre les invaginacions membranoses i l'espai intercel.lular. La continuïtat del complex membranós amb l'espai intercel.lular queda posada de manifest després d'utilitzar

tècniques que marquen l'espai intercel.lular (àcid tànnic i nitrat de lantà). Observem com el nitrat de lantà o l'àcid tànnic queden retinguts en el sistema tubular o laminar basal. L'aplicació d'aquestes tècniques ha permès d'interpretar i reconèixer aquesta continuïtat. En les seves proximitats normalment hi ha agrupacions mitocondrials.

El seu grau de desenvolupament i aspecte varien. Així podem reconèixer segons les seves característiques morfològiques del sistema membranós present a la regió basal de les cèl.lules R són:

- La membrana basal presenta invaginacions poc profundes, reconeixent-ne, en determinades ocasions, la continuïtat de la membrana basal i el sistema membranós present a la regió basal d'aquestes cèl.lules. (LAM. XXI, Fig. 2). Aquestes invaginacions tenen una disposició basal i un recorregut corbat o sinuós, de manera que podem visualitzar recorreguts de la membrana de 0,9 μm a 1,6 μm , normalment medeixen unes 0,9 μm , sense que hi hagi un canvi bruscat del seu recorregut. Delimiten un espai intercel.lular de 25 nm semblant al trobat entre dues cèl.lules veïnes, presenten algunes dilatacions de 60 nm.

La particular configuració d'aquestes invaginacions i en concret el seu recorregut sinuós ens permet de contemplar zones que corresponen a l'espai intermembranós; de secció una mica polièdrica, presenten un contingut uniforme força electrodens. Es pot resaltar, en determinades ocasions, la continuïtat present entre aquestes estructures de secció una mica polièdrica i les

invaginacions membranoses. (LAM. XXX, Fig. 4). Aquest fet es reconeix preferentment a l'emprar les tècniques del nitrat de lantà i de l'àcid tànnic com a marcadors de l'espai intercel·lular. (LAM. XXXII, Fig. 1).

En la seva proximitat es distingeixen vesícules de reticle endoplasmàtic llis, partícules de β glicogen i mitocondris, que poden presentar una matriu densa als electrons i tenen normalment petit tamany (0,6 - 0,9 μ m).

En aquesta regió basal i coincidint amb la presència d'aquestes invaginacions poc profundes i de recorregut lleugerament sinuós es localitzen amb certa freqüència complexos de Golgi i en l'interior dels seus sàculs s'hi observen partícules de 35 a 57 nm que podem considerar de naturalesa lipoproteica. (LAM. XXV, Fig. 1, 2).

Cal indicar, per últim, que la profunditat i el grau de desenvolupament d'aquestes invaginacions presents tant a la membrana lateral com a la basal de les cèl·lules R és variable.

En alguna ocasió les invaginacions de les membranes s'observen encerclant zones vacuolades del citoplasma. L'interior dels vacuols és clar als electrons i normalment poden presentar un material granulós en el seu interior. (LAM XXXIII, Fig. 3).

En els animals que presenten entre les cèl·lules epitelials de l'hepatopàncreas canals intercel·lulars amb contingut vesiculós i electrodens veiem la regió basal plena de "vacuols" amb un contingut semblant al dels canals intercel·lulars: vesícules electrodenses de 42 nm a 84 nm. Creiem però, que en realitat es

tracta de dilatacions de l'espai intercel.lular, de manera que donat el recorregut sinuós de les invaginacions membranoses en aquesta regió podem veure, com ja hem indicat l'espai intercel.lular tallat tangencialment.

En aquestes ocasions s'observa com el contingut de l'espai intercel.lular es lliurat a l'exterior, entre la membrana basal i la làmina basal. (LAM. XXVII, Fig. 3 i 4).

- Determinades cèl.lules R presenten invaginacions de la membrana lateral i basal una mica més dilatades i molt més sinuoses. Presenten una configuració laminar regular de manera que es pot observar en les proximitats de la membrana lateral i o basal de les cèl.lules R (absorbents) una estructura membranosa de disposició reticular pentagonal bastant regular. (LAM. XXX, Fig. 3; LAM. XXXI, Fig. 1). L'espai entre les dues membranes és de 10 o 20 nm com la present entre les cèl.lules veïnes, però aquest espai està normalment augmentat fins a 60 nm amb un contingut d'electrodensitat mitjana. Cada 90 nm presenten un canvi de sentit al recorregut paral.lel de les membranes de manera que l'estructura tridimensional és paracristal.lina. Així doncs, en secció s'observa una estructura pentagonal característica. (LAM. XXXI, Fig. 1). Normalment delimiten una regió citoplasmàtica de 0,157 μm de diàmetre. En el centre de l'espai citoplasmàtic delimitat pel sistema tubular, es veu un altre túbul no electrodens, també amb un diàmetre de 60 nm, que sembla correspondre a vesícules de reticle endoplasmàtic llis. (LAM. XXXI, Fig. 1).

- En ocasions el sistema membranós present a la part basal recorda la morfologia típica del reticle endoplasmàtic llis. Les seves cisternes presenten una distribució regular semblant a la morfologia anteriorment descrita, però presenten a l'interior un aspecte clar als electrons. S'observen zones de continuïtat entre aquest sistema membranós i la membrana basal. (LAM. XXX, Fig. 2).

5.2.5. CEL·LULES F (FIBRIL·LARS).

5.2.5.1. CARACTERISTIQUES GENERALS

Les cèl·lules F (fibril·lars) descrites per Hirsch i Jacobs (1928) en la glàndula digestiva de Astacus fluviatilis presenten com a principal característica un citoplasma altament basòfil i sovint un aspecte fibril·lar, fet que va motivar la seva denominació " Fibrillar cells" (cèl·lules F).

En els túbuls de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi es distingeixen bé al microscopi òptic cèl·lules amb les mateixes característiques: gran basofília i a vegades aspecte fibril·lar del citoplasma, per la qual cosa podem agrupar-les sota la denominació de cèl·lules F. La gran basofília d'aquestes cèl·lules és deguda al gran desenvolupament del reticle endoplasmàtic rugós, les vesícules del mateix poden estar dilatades cosa que provoca que el citoplasma tingui en conjunt un aspecte fibril·lar.

En el cas de Palaemonetes zariquieyi les cèl·lules F (fibril·lars) no tenen gotes lipídiques. En el seu citoplasma observem zones clares, de situació perinuclear semblants a vacuols, provocades per la hiperdilatació de les cisternes del complex de Golgi (LAM. VI, Fig. 1).

Les cèl·lules F tenen una forma prismàtica i en els talls s'observa la base de la cèl·lula més ampla que la regió apical.

5.2.5.2. REGIO APICAL.

La regió apical és doncs més estreta, presentant la típica xapa de les cèl.lules epitelials de l'hepatopàncreas, els microvillis medeixen 0,88 μm d'alçada i 0,128 μm d'amplada, normalment presenten una disposició no tant uniforme com en les cèl.lules R. (LAM. XXXV, Fig. 1). La membrana dels microvillis de les cèl.lules F (fibril.lars) destaca entre les cèl.lules R (absorbents) veïnes per la seva major electrodensitat. Els microvillis presenten en el seu interior microfilaments que penetren en el citoplasma a manera d'arrels. Són molt profundes de 1,8 μm . (LAM. XXXVI, Fig. 1). En aquest tipus cel.lular observem una disminució de la superfície apical motivada per ser més estreta com per la menor alçada de la xapa. (LAM. VI, Fig. 1).

A la regió apical es poden localitzar alguns grànuls de 0,8 a 2,4 μm de diàmetre, de naturalesa secretora. El seu aspecte és variable observant-se grànuls clars als electrons i d'altres amb un contingut dens als electrons. (LAM. XXXV, Fig. 1; LAM. XXXVI, Fig. 1). La presència de granuls de secreció a la regió apical de les cèl.lules fibril.lars (cèl.lula F) l'hem observada majoritàriament en les cèl.lules joves situades a la regió mitjana dels túbuls, prop de la zona distal dels túbuls.

En la regió supranuclear és localitza un gros cos residual de 6 μm a 8 μm d'allargada i 2 μm a 4 μm de diàmetre mitjà. Presenta una forma irregular amb contorns una mica arrodonits i

elevada electrodensitat, al seu contingut heterògeni, observant-se en el seu interior restes de membrana amb disposició concèntrica. (LAM. XXXVI, Fig. 1).

En les cèl.lules F joves el cos residual és també gros de 2 μm per terme mitjà, però està format per diversos elements densos que presenten una xarxa de connexió típica com l'observada en els cossos densos de les cèl.lules R (absorbent). (LAM. XXXV, Fig. 1). En ocasions hi manca el cos dens supranuclear.

5.2.5.3. CONDRIOMA.

En general la població mitocondrial és nombrosa i està distribuïda per tot el volum citoplasmàtic, observant-se una major densitat mitocondrial a la regions laterals, apical i basal de la cèl.lula. En les proximitats dels dictiosomes s'observa, habitualment, mitocondris voluminosos. (LAM. XXXV, Fig. 1; LAM. XXXVI, Fig. 2).

El tamany i morfologia de la població mitocondrial en aquestes cèl.lules és variable per la qual cosa distribuïm els mitocondris en dos grups:

- mitocondris petits de 0,9 μm a 1 μm de diàmetre per 5 μm a 7 μm d'allargada, amb crestes ben desenvolupades i matriu d'electrodensitat mitjana, de morfologia allargada poden presentar una secció irregular no esfèrica. (LAM. XXXVI, Fig. 2).

- mitocondris de major diàmetre de 2 μm a 4 μm , presenten crestes tubulars i més curtes i la matriu mitocondrial és poc

electrodensa. Aquests mitocondris poden adoptar una forma corbada o de copa i habitualment estan agrupats en disposició concèntrica (LAM. XXXVII, Fig. 2). Aquesta morfologia permet de veure mitocondris en secció que tenen un aspecte anular (de DONUT) de manera que en el centre del mitocondri s'observen reduïdes regions citoplasmàtiques de 0,6 μm de diàmetre, que contenen habitualment vesícules de reticle endoplasmàtic rugós. (LAM. XXXVII, Fig. 2 i 3).

5.2.5.4. RETICLE ENDOPLASMATIC.

El reticle endoplasmàtic rugós està considerablement desenvolupat en aquest model cel.lular, cosa que motiva la gran basofilia d'aquestes cèl.lules.

Les seves vesícules distribuïdes per tot el citoplasma són de tamany variable, segons la fase del cicle cel.lular. En cèl.lules F juvenívoles el reticle endoplasmàtic té les vesícules curtes i no dilatades, amb un diàmetre de 50 nm. Entre el sistema vesicular del reticle endoplasmàtic rugós, de les cèl.lules F joves destaquen nombrosos poliribosomes. (LAM. XXXV, Fig. 1). En cèl.lules més diferenciades les vesícules són llargues i adopten una disposició concèntrica, sovint estan dilatats, de manera que el seu lumen presenta un diàmetre de 0,4 μm de mitjana, observant-se un contingut amorf en el seu interior. Aquesta dilatació de les vesícules del reticle endoplasmàtic és la principal responsable de l'aspecte fibril.lar del citoplasma en observa-

cions al microscopi òptic. Es per aquest motiu que Hirsch i Jacobs (1928) les varen anomenar "Fibrillar Cell".

Hem observat en aquest tipus cel.lular vesícules de reticle endoplasmàtic rugós que presenten estructures semblants a les làmines anellades (LAM. XXXV, Fig. 1, 2, 3) descrites en models cel.lulars que tenen una elevada taxa de síntesi proteica (per exemple cèl.lules germinals). De sis a catorze vesícules de recorregut paral.lel presenten una regió central d'unes 3 μm on hi observem una pèrdua de ribosomes, i al mateix temps un estretament de la llum de les vesícules d'un diàmetre mitjà de 0,115 μm . S'observa cada 0,212 μm una densificació en la part luminal de les vesícules de 0,28 μm d'amplada o diàmetre de forma semblant a la dels porus nuclears. En les mateixes zones un material electrodens oblitera la llum dels sàculs. Aquestes estructures recorden els porus nuclears.

5.2.5.5. COMPLEX DE GOLGI

El complex de Golgi està molt desenvolupat en les cèl.lules fibril.lars (cèl.lules F) de Palaemonetes zariquieyi. Constituit per nombrosos dictiosomés distribuïts principalment en la regió perinuclear presenten una morfologia molt característica.

En els dictiosomes podem distingir la cara de formació (cara CIS) on es reconeixen petites vesícules de transició de 30 a 50 nm, que surten de les cisternes del reticle endoplasmàtic. Habitualment els sàculs d'aquesta regió presenten una dilatació

progressiva amb el procés de diferenciació cel.lular, de manera que en les cèl.lules F diferenciades estan hiperdilatsats, presentant un aspecte vacuolar. Sovint es reconeix una fragmentació dels sàculs d'aquesta cara. El contingut dels sàculs és poc electrodens i presenta en algunes ocasions un aspecte granular.- (LAM. XXXVI Fig. 1, 2, 3).

Els sàculs de la cara TRANS o cara de maduració presenten un contingut electrodens on s'observen els extrems de les cisternes dilatades formant-se vesícules de secreció de 0,28 μm a 0,5 μm de diàmetre, que posteriorment es fusionen per formar els grànuls de secreció. (LAM. XXXVI Fig. 1, 2).

En les proximitats dels dictiosomes s'observen grànuls de secreció de diferent electrodensitat, per tant es dona un procés de condensació i maduració dels grànuls de secreció. (LAM. XXXVI, Fig. 3).

5.2.5.6. NUCLI I REGIO PERINUCLEAR.

Com és habitual en totes les cèl.lules prismàtiques o cilíndriques, el nucli de les cèl.lules F està situat a la regió basal. És força voluminós d'uns 14 μm de diàmetre per 8 μm , té forma ovalada i presenta poca heterocromatina la qual es disposa preferencialment a la perifèria.

S'observen generalment voluminosos nucleols en nombre de dos o tres per nucli, amb les parts granulars i fibrosa ben segregades i per tant fàcilment visibles.

L'envolcall nuclear presenta nombrosos porus nuclears, observant-se sovint, com passa a les cèl.lules R (reabsorbents), material electrodens en front dels porus nuclears. Ja hem indicat que es tracta de material ribonucleoprotèic, com posa de manifest la tècnica de Bernard. (LAM. XXXIV, Fig. 2).

En la regió basal de les cèl.lules F, per sota del nucli, es localitzen els orgànuls descrits i característics d'aquestes cèl.lules: reticle endoplasmàtic rugós que arriba fins a la membrana basal, mitocondris, dictiosomes i poc reticle endoplasmàtic llis. Les vesícules del reticle endoplasmàtic llis estan en comunicació directa amb la membrana basal. De vegades hem observat invaginacions de la membrana lateral de les cèl.lules. (LAM. XXXVII, Fig. 1).

5.2.6. CEL·LULES B (VACUOLADES).

5.2.6.1. CARACTERISTIQUES GENERALS.

Les cèl·lules B són fàcils de distingir en la microscòpia òptica convencional per presentar notables diferències morfològiques i de volum respecte a les altres cèl·lules epitelials de l'hepatopàncreas. Tenen una alçada mitjana de 36 μm , encara que pot variar de 72 μm a 16 μm . L'amplada varia de la regió apical a la regió basal (de 36 μm a 10 μm); presenten, en conjunt, una forma que recorda un matrau de coll ample. Són cèl·lules d'aspecte globular que destaquen entre les altres especialment per tenir el seu citoplasma altament vacuolat i per la seva forma. (LAM. VII, Fig. 1, 2, 3).

5.2.6.2. REGIO APICAL

A la regió apical els microvillis que en formen la xapa, són més petits i més amples que en la resta de tipus cel·lulars epitelials que constitueixen els túbuls de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi. (LAM. XVI, Fig. 2; LAM. XXXVIII, Fig. 1). Medeixen 0,6 μm d'alçada i de 0,08 a 0,1 μm d'amplada i presenten una distribució irregular. L'espai intermicroviliari és variable de l'ordre de 0,09 μm a 0,2 μm . En l'interior dels microvillis s'hi observa, també filaments d'actina que els hi confereixen rigidesa mecànica i probablement possibiliten

l'existència de moviments microvillars. Aquests filaments d'actina, com passa als altres tipus cèl.lulars penetren a la regió apical de la cèl.lula, a una fondària mitjana aproximada de 1 μm , però presenten una distribució un tant irregular. (LAM. XL, Fig. 1).

La membrana plasmàtica forma, entre els microvillis, nombroses invaginacions apicals que penetren a la regió submicrovilliar constituint canals pinocítics. En la regió apical s'hi observa, al costat de les arrels dels microvillis i dels canals pinocítics, nombroses vesícules de petit tamany de 0,9 μm a 0,096 μm , que es formen possiblement per un procés d'estrangulament dels canals pinocítics. (LAM. XXXIX, Fig. 3; LAM. XLIII, Fig. 1). El conjunt de vesícules i canals apicals constitueixen el "complex apical" (Lozzi, 1971) i és P.A.S. positiu.

Basant-se en característiques morfològiques en el conjunt de cèl.lules B, podem diferenciar cèl.lules que anomenarem primàries i d'altres cèl.lules més diferenciades.

En les cèl.lules B joves la regió apical està completament plena de vesícules de petita grandària. Entre elles, en les reduïdes àrees citoplasmàtiques presents entre els vacuols, s'hi observa algun mitocondri. Els microvillis i les vesícules de petit tamany presenten un revestiment fibrilar que resulta P.T.A. (àcid fosfotúngstic) positiu, per la qual cosa es tracta d'un revestiment glucoproteic.

Els vacuols augmenten de volum quan més a prop són del nucli, probablement com a resultat de la convergència dels petits

vacuols presents a la regió més apical i per la unió amb d'altres vacuols que provenen del complex de Golgi; de funció lisosòmica. Cal remarcar que aquests vacuols més grossos, el tamany dels quals oscil·la entre 2 μm a 4 μm , mantenen a la membrana interna el revestiment lleugerament fibril·lar que manté la seva positivitat a la tècnica del P.T.A. (àcid fosfotúngstic). Quan la cèl·lula es va envellint, els microvillis i les vesícules més apicals no presenten el revestiment glucoproteic, resultant la membrana externa microviliària i les vesícules pinocítiques apicals negativa a l'àcid fosfotúngstic, sols mantenint-se en algunes zones i ocasionalment alguna positivitat a la tècnica del P.T.A. (àcid fosfotúngstic). (LAM. XL, Fig. 2, 3).

5.2.6.2. CONDRIOMA

El condrioma present en les cèl·lules B joves està constituït per mitocondris de matriu electrodensa de 1,7 μm d'allargada i uns 0,4 μm de diàmetre i disposats de forma majoritària en paral·lel a l'eix major de la cèl·lula. El seu nombre és, però molt escàs i habitualment es localitzen entre els vacuols de tamany mitjà. Els mitocondris, de matriu electrodensa i orientació irregular, presenten preferencialment una disposició paral·lela a l'eix major de les cèl·lules. (LAM. XXXIX, Fig. 1, 2). En les cèl·lules B més diferenciades el nombre de mitocondris disminueix sensiblement essent molt difícil de localitzar cap mitocondri entre els grossos vacuols que ocupen tot el cito-

plasma, restant tant sols algun mitocondri a la regió perinuclear.

5.2.6.3. REGIO SUPRANUCLEAR

En les regions citoplasmàtiques més internes, a la regió supranuclear, s'hi observen vacuols una mica més grossos, amb un contingut amorf i electrodens. En conseqüència s'observa tant un augment de tamany dels vacuols de la regió apical cap a la regió perinuclear com un augment del material que s'hi conté, essent d'aspecte fibril·lar i amb una electrodensitat major als vacuols situats a la regió citoplasmàtica supranuclear.

L'augment de volum dels vacuols és progressiu de manera que les cèl·lules B més velles les podem distingir per un volum total major, l'augment de l'electrodensitat del citoplasma, i la disminució del nombre de vacuols junt amb un augment del seu volum, com ja hem indicat per coalescència dels mateixos, encara que ens ha estat difícil d'observar-ho.

En l'interior s'hi pot observar material granulós electrodens que sovint forma petites zones més electrodenses. La regió supranuclear està totalment ocupada per aquests grossos vacuols, destacant l'absència de mitocondris i d'invaginacions laminars.

5.2.6.4. NUCLI I REGIO PERINUCLEAR.

El nucli emplaçat a la regió basal és petit, de 4 μm a 6 μm de diàmetre mitjà, amb forma lleugerament lobulada i aspecte bastant picnòtic. L'heterocomatina està sempre situada perifèricament. (LAM. XXXVIII, Fig. 1; LAM. XLI, Fig. 1, 3).

En les cèl.lules B primàries hem observat a la membrana externa que constitueix l'envolcall nuclear, freqüents invaginacions observant-se a la part externa ribosomes.

Rodejant el nucli hi ha una estreta franja de citoplasma on s'hi observa sàculs de reticle endoplasmàtic, amb una disposició concèntrica. Les vesícules del reticle endoplasmàtic estan dilatades cap a la perifèria, presentant un aspecte vacuolat. En aquesta regió perinuclear també s'hi observa mitocondris amb la matriu electrodensa i amb poques crestes. (LAM. XLII, FIG. 1).

El complex de Golgi present està situat en la regió perinuclear. Està constituït per dictiosomes extensos amb les cisternes apilades de manera rectilínia i en un nombre de cisternes que normalment varia de sis a deu. Els sàculs estan lleugerament dilatats i fragmentats. En la regió perifèrica dels complexos de Golgi s'observa vacuols grossos amb un contingut amorf, granulós, d'electrodensitat variable, normalment el material està condensat a la regió central del vacuol. (LAM. XLII, Fig. 1).

5.2.6.6. REGIO BASAL

Les cèl.lules B són difícils de veure's recolzades a la làmina basal, possiblement per la seva morfologia voluminosa i per presentar, realment molt poca regió de contacte amb la làmina basal.

En les fases primàries en les cèl.lules B podem distingir algunes invaginacions de la membrana lateral de les cèl.lules, localitzant-se tant a la regió basal com a la regió apical de la cèl.lula. (LAM. XLI, Fig. 1, 2).

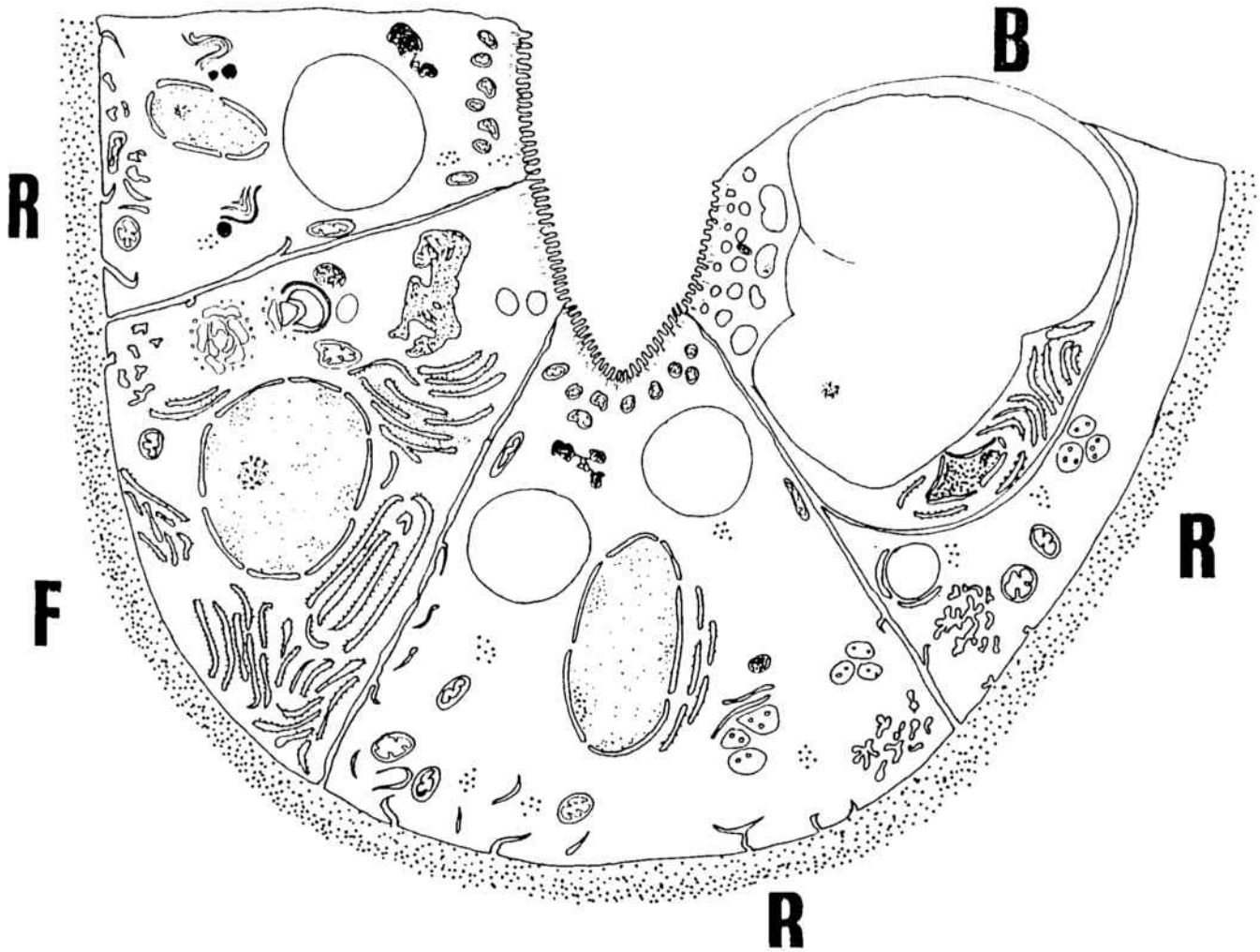


Figura VII.- Esquema dels túbuls de l'hepatopàncreas on es destaquen les característiques principals de les cèl.lules R (absorbents), F (fibril.lars) i B (vacuolades).

5.2.7. CEL·LULES ENDOCRINES.

5.2.7.1. CARACTERISTIQUES GENERALS

Entre les cèl·lules epitelials, particularment en la regió distal dels túbuls, es troben disseminades - en nombre més aviat escàs - un tipus cel·lular que per les seves característiques morfològiques podem relacionar amb cèl·lules de tipus endocrí.

Situades en la part basal de l'epiteli que constitueix els túbuls de l'hepatopàncreas, no presenten cap cara que estigui en contacte directe amb la llum del túbul, estan situades basalment entre les restants cèl·lules epitelials.

Al microscopi òptic es distingeixen fàcilment per tenir una secció característica de forma més o menys triangular (11 μm d'alçada i 9,8 μm d'amplada), i per tenir una franja citoplasmàtica, que rodeja el nucli de la cèl·lula, molt pàlida, amb poca afinitat pels colorants. (LAM. XII, Fig. 3).

Observades amb el microscopi electrònic de transmissió el citoplasma d'aquestes cèl·lules destaca entre les cèl·lules epitelials veïnes per la seva baixa electrodensitat i per la seva pobresa d'òrgànuls. (LAM. XLIV, Fig. 1 i 2; LAM. XLV, Fig. 1).

5.2.7.2. NUCLI

El nucli situat en la regió central de la cèl·lula, presenta sovint un aspecte lobulat. (LAM. XLIV, Fig. 1 i 2; LAM. XLV, Fig.

1). Habitualment és gros (8 μm de diàmetre) respecte al volum total de la cèl.lula, de manera que la relació nucli/citoplasma s'incrementa notablement. L'heterocromatina presenta una distribució perifèrica i habitualment el núcleol és central i bastant prominent.

5.2.7.3. CITOPLASMA

El citoplasma constitueix una franja estreta, que com ja hem indicat presenta molt poca densitat d'òrgans la qual cosa motiva una escassa electrodensitat.

El condrioma està format per alguns mitocondris de petit diàmetre: 1 μm per terme mitjà, amb la matriu clara als electrons i amb poques crestes. Els mitocondris d'aquestes cèl.lules són extremadament làbils doncs amb freqüència s'observen graus d'alteració en les crestes i dilatacions de l'espai intermembrana.

Les vesícules del reticle endoplasmàtic rugós es troben disseminades per tot el citoplasma i en ocasions poden presentar algunes dilatacions.

Destaca en el citoplasma la presència de nombrosos grànuls de glicogen de 26,9 nm.

Una de les principals característiques d'aquest tipus de cèl.lules és la presència de diversos tipus de grànuls distribuïts de forma irregular pel citoplasma. El seu nombre és variable, i els podem diferenciar pel seu tamany i per la seva

electrodensitat:

- grànuls de mitjana electrodensitat amb un diàmetre que oscil·la de 0,8 μm els més grossos i 0,0587 μm els més petits.

- petits grànuls amb una elevada electrodensitat que presenten un aspecte baciliforme. El seu tamany varia de 0,17 μm a 0,8 μm de diàmetre, i una allargada de 0,74 μm . (LAM. XLV, Fig.3).

- vacuols de naturalesa possiblement autolítica de 0,3 μm , presenten en el seu interior restes de membrana agrupades i formant figures mielíniques. (LAM. XLV, Fig.2).

Cal indicar, però que en totes les cèl·lules estudiades sempre hem identificat els grànuls electrodensos esfèrics o baciliformes, encara que el seu nombre no és massa elevat. Pel contrari la presència dels altres tipus de grànuls, de mitjana electrodensitat no són tant constants i moltes vegades no són presents.

El complex de Golgi, situat en la regió perifèrica al nucli, està constituït per cinc sàculs amb una densitat escassa als electrons. A la cara de maduració s'observen petites vesícules de 0,59 μm possiblement precursors dels grànuls electrodensos de neurosecreció, doncs s'observa coalescència de petites vesícules (LAM. XLV, Fig. 3).

La membrana làteral no presenta invaginacions i contrasta amb les membranes laterals de les cèl·lules veïnes que al correspondre a la zona basal de la cèl·lula epitelial presenta a les membranes lateral i basal abundants invaginacions. (LAM. XLIV, Fig. 1).

5.3. ANALISI ESTADÍSTICA DE LES VARIABLES MORFOMÈTRIQUES. RESULTATS I DISCUSIO

L'anàlisi estadística s'ha realitzat en tots els paràmetres morfològics mesurats. La mitjana, desviació tipus i coeficient de variació es poden veure en les Taules VII a taula XIII. L'anàlisi de la variància s'ha fet per cada variable morfològica mesurada, mantenint individualitzats tant els tipus cel·lulars com els talls.

Per a les variables que presenten coeficient de variació baix s'han resumit els resultats de l'anàlisi de la variància dels dos factors amb interacció a les taules de comparació múltiples (Taula XIV a XVII).

5.3.1. DIAMETRE MAXIM CITOPLASMA.

L'anàlisi estadística de les dades corresponents a aquesta variable, ens permet d'afirmar que existeixen diferències significatives entre els diversos tipus cel·lulars ($P = 0,0092$) i entre els talls.

L'anàlisi de la variància realitzada, considerant les dues orientacions (talls transversals i talls longitudinals) dona un valor de $P = 0,0001$. L'existència de diferències significatives de la variable diàmetre màxim del citoplasma, segons la secció considerada, està justificada per la forma prismàtica que tenen tots els tipus cel·lulars estudiats.

La posterior anàlisi realitzada per tal d'establir entre quins dels tipus cel.lulars presenten diferències significatives respecte al seu diàmetre màxim, ens permet d'afirmar que hi ha diferències entre les cèl.lules E (embrionàries o proliferatives) i les cèl.lules R (absorbents) i B (vacuolades). Les cèl.lules R presenten també diferències significatives respecte al diàmetre màxim citoplasmàtic de les cèl.lules B (vacuolades). Les cèl.lules F (fibril·lars) són l'únic tipus cel.lular que no presenta diferències significatives d'entre els altres tipus. Vegeu la taula de comparació múltiple d'aquesta variable. (Taula XIV).

5.3.2. DIÀMETRE MÍNIM DEL CITOPLASMA.

L'anàlisi de la variància de la variable diàmetre mínim del citoplasma ens mostra diferències significatives entre els tipus cel.lulars ($P = 0,0000$) i no entre el tipus de secció (tall transversal, tall longitudinal) ($P = 0,1143$).

La falta de diferències significatives d'aquesta variable entre les diferents seccions (tall transversals i longitudinals) està motivada pel fet que al mesurar el diàmetre mínim de la cèl.lula sigui quin sigui el tipus de secció (transversal i longitudinal) estem mesurant un paràmetre idèntic: l'amplada de la cèl.lula.

L'anàlisi realitzada permet de veure diferències significatives d'aquest paràmetre entre les cèl.lules B (vacuolades) i la resta dels tipus cel.lulars (cèl.lules E, R i F), mentre entre

les cèl.lules E (embrionàries) i les cèl.lules F (fibril.lars) no hi ha diferències significatives. (vegeu Taula XV).

Aquestes dades permeten d'afirmar que les cèl.lules B presenten una amplada considerablement més gran i significativament diferents.

5.3.3. DIAMETRE MAXIM NUCLI

Al realitzar l'anàlisi estadística de la variable diàmetre màxim del nucli s'observen diferències significatives entre tipus cel.lulars ($P = 0,0312$) i no entre talls ($P = 0,7581$).

Les cèl.lules que presenten diferències significatives són les cèl.lules E (embrionàries) i les cèl.lules B (vacuolades). (Taula XVI).

El fet que en el diàmetre màxim del nucli no observem diferències entre els tipus de secció es pot interpretar en doble sentit: o no tenen una forma esfèrica, la qual cosa en les seccions estudiades no s'observa o bé el test aplicat no detecta diferències amb el numero de dades de que disposem.

5.3.4. DIAMETRE MINIM DEL NUCLI.

L'anàlisi estadística d'aquesta variable permet de determinar diferències entre els tipus cel.lulars ($P = 0,0308$) i no entre els talls ($P = 0,9621$).

Les diferències són significatives entre les cèl.lules E

(cèl.lules embrionàries) i les cèl.lules B (cèl.lules vacuolades). (Taula XVII).

5.3.5. AREA CITOPLASMA, AREA NUCLI , AREA NUCLI / AREA CITOPLASMA.

Els paràmetres no linials analitzats, àrea citoplasma, àrea nucli i el coeficient àrea nucli/àrea citoplasma donen, tots ells, coeficients de variació elevats. Per tant el resultat de l'anàlisi de la variancia no seria determinant cosa per la qual no l'hem efectuat.

En les taules IX, XII, XIII es poden veure les dades d'aquests paràmetres obtingudes.

La variabilitat d'aquests paràmetres ve motivada pel fet de treballar amb seccions de cèl.lules i a l'ésser resultat de convingar dues variables. Aquest problema podria solucionar-se mesurant un nombre més elevat de casos o bé realitzan un estudi no de superfícies, sinó de volum cel.lular, calculat amb mètodes estereològics.

DIAMETRE MAXIM CITOPLASMA

Mitjana

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	29,586	28,776	31,175	40,588
L	33,346	49,137	39,082	37,574

Desviació tipus

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	12,734	10,643	12,092	14,595
L	16,081	13,205	13,680	13,343

Coeficient de variació

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	43 %	37 %	38 %	35 %
L	42 %	35 %	43 %	33 %

Taula VII.- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació per la variable diàmetre màxim citoplasma.

DIAMETRE MINIM CITOPLASMA

Mitjana

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	14,190	13,900	16,940	23,389
L	15,578	17,569	17,973	22,929

Desviació tipus

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	4,270	5,909	6,525	7,525
L	6,537	6,097	7,814	7,573

Coefficient de variació

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	30 %	42 %	38 %	32 %
L	41 %	35 %	43 %	33 %

Taula VIII.- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació de la variable diàmetre mínim del citoplasma.

AREA CITOPLASMA

Mitjana

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	189,425	213,305	261,393	419,872
L	257,035	463,128	353,289	438,326

Desviació tipus

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	170,525	204,031	211,825	205,917
L	201,282	220,239	226,196	253,419

Coefficient de variació

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	90 %	95 %	81 %	49 %
L	78 %	47 %	64 %	57 %

Taula IX .- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació per la variable area citoplasma.

DIAMETRE MAXIM NUCLI

Mitjana

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	12,592	11,096	10,560	11,041
L	12,750	12,115	11,469	9,584

Desviació tipus

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	3,926	3,011	3,379	3,688
L	6,265	3,533	3,416	3,896

Coefficient de variació

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	31 %	27 %	32 %	33 %
L	49 %	29 %	30 %	40 %

Taula X.- Valors de mitjana, desviació tipus i coeficient de variació per la variable diàmetre màxim del nucli.

DIAMETRE MINIM NUCLI

Mitjana

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	7,466	6,041	6,482	6,696
L	7,963	6,506	6,277	6,007

Desviació típus

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	2,399	2,155	2,439	3,193
L	4,190	2,431	2,264	2,819

Coefficient de variació

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	32 %	35 %	37 %	47 %
L	52 %	37 %	36 %	47 %

Taula XI.- Mitjana, desviació tipus, coeficients de variació de la variable diàmetre mínim del nucli.

AREA NUCLI

Mitjana

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	66,878	50,295	51,782	54,528
L	52,599	61,411	54,9379	45,907

Desviació tipus

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	33,405	29,085	30,728	39,797
L	51,178	33,640	34,244	40,264

Coefficient de variació

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	50 %	58 %	59 %	73 %
L	97 %	55 %	62 %	88 %

Taula XII.- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació de la variable **area del nucli**.

AREA NUCLI/ AREA CITOPLASMA

Mitjana

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	0,497	0,413	0,289	0,173
L	0,444	0,170	0,173	0,213

Desviació tipus

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	0,344	0,336	0,286	0,142
L	0,323	0,162	0,130	0,264

Coefficient de variació

	Cèl.lula E	Cèl.lula R	Cèl.lula F	Cèl.lula B
T	69 %	81 %	99 %	82 %
L	72 %	95 %	75 %	123 %

Taula XIII.- Mitjana, desviació tipus i coeficient de variació de la variable àrea nucli / àrea citoplasma.

DIAMETRE MAXIM CITOPLASMA

	E	R	F
R	Si		
F	No	No	
B	Si	Si	No

Taula XIV .- Taula de comparació múltiple de la variable diàmetre màxim del citoplasma. (Si = diferències significatives entre els tipus cel.lulars, No = no s'han detectat diferències significatives)

DIAMETRE MINIM CITOPLASMA

	E	R	F
R	No		
F	No	No	
B	Si	Si	Si

Taula XV .- Taula de comparació múltiple de la variable diàmetre mínim del citoplasma. (Si = diferències significatives entre els tipus cel.lulars, No = no s'han detectat diferències significatives)



DIAMETRE MAXIM NUCLI

	E	R	F
R	No		
F	No	No	
B	Si	No	No

Taula XVI .- Taula de comparació múltiple de la variable diàmetre màxim del nucli. (Si = diferències significatives entre els tipus cel.lulars, No = no s'han detectat diferències significatives).

DIAMETRE MINIM DEL NUCLI

	E	R	F
R	No		
F	No	No	
B	Si	No	No

Taula XVII.- Taula de comparació múltiple de la variable diàmetre mínim del nucli. (Si = diferències significatives entre els tipus cel.lulars, No = no s'han detectat diferències significatives).

Conclusions

- L'anàlisi estadística de les dades morfomètriques estudiades sols és significativa en els paràmetres linials (diàmetre màxim i mínim). En les variables de superfície (àrea citoplasma, àrea nucli) es dona una major variabilitat, resultant en tots els casos una desviació tipus elevada i un coeficient de variació també elevat.
- Les cèl.lules B (vacuolades) presenten una amplada significativament diferent en tots els tipus cel.lulars.

*DISCUSSION
I
CONCLUSIONS*

6. DISCUSSIO I CONCLUSIONS

6.1. CARACTERISTIQUES GENERALS DE L'HEPATOPANCREAS.

6.1.1. HEMOCITS.

La glàndula digestiva en Palaemonetes zariquieyi està recoberta per una membrana de col.làgena que permet delimitar entre els túbuls un espai hemal, on s'hi distribueixen vasos hemàtics i diverssos tipus cel.lulars, presumiblement hemocits.

La tipificació dels hemocits en els decàpodes ha estat duta a terme en pocs estudis i la majoria d'ells utilitzen els hemocits circulants extrets del cor.

Mix i Sparks (1980) classifica els hemocits circulants del cranc Cancer magister segons la presència o absència de grànuls citoplasmàtics i la seves característiques tintorials. Així distingeix: hialonòcits, granulòcits intermediaris i granulòcits eosinòfils. Els autors francesos classifiquen els hemocits en: cèl.lules hialines, cèl.lules semigranuloses, cèl.lules granuloses. Les característiques morfològiques dels grups de les dues classificacions són quasi bé idèntiques, el grup poc clar és el de les semigranuloses i granulòcits intermediaris que equival a un calaix de sastre on s'inclouen diferents cèl.lules de difícil tipificació i que molts autors consideren passos intermitjos per a la diferenciació cap a cèl.lules granuloses.

En l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi sols hem

observat hemòcits del tipus granulós. Localitzats la majoria en les proximitats dels vasos sanguinis, el seu nombre és escàs. (LAM. XLVII, Fig.2).

Entre els túbuls de l'hepatopàncreas en la proximitat de la làmina basal o dels vasos hemolinfàtics es localitzen amb força més freqüència cèl.lules amb nombroses inclusions d'aspecte cristal.lí. (LAM. XLVI, Fig. 1).

Johnson (1980) descriu un tipus cel.lular associat amb el teixit connectiu que conté inclusions de material de reserva, algunes d'aspecte cristal.lí en el seu interior, no indicant-ne la funcionalitat. Altres estudis (Ghiretti-Magaldi 1973) han indicat la presència en l'hepatopàncreas de cèl.lules, que anomena cianocits, implicades en la síntesi d'hemocianina. L'hemocianina té una estructura cristal.lina semblant als grànuls observats en les cèl.lules amb inclusions de l'hepatopàncreas, fet que pot suggerir la presència i síntesi, en aquestes cèl.lules, d'hemocianina. Cal realitzar proves immunocitoquímiques per identificar la proteïna que constitueix els grànuls.

Ratcliffe (1985) en una revisió del sistema immunològic en els artròpods, agrupa les cèl.lules hemàtiques segons la seva funció. Anomena "cèl.lules nutritives" a cèl.lules que tenen com a característica tenir substàncies lipídiques, glucídiques o proteiques en el citoplasma. Aquest grup de cèl.lules amb inclusions presents en l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi podriem doncs incloure-les dins d'aquest grup de "cèl.lules nutritives".

En el cas de Palaemonetes zariquieyi s'observa en aquestes cèl.lules, la presència de petites inclusions lipídiques, entre els grànuls de naturalesa proteica. La proximitat i relació que tenen aquestes cèl.lules amb l'epiteli de l'hepatopàncreas i amb l'intestí mitjà, on s'observa que formen un cordó al seu voltant, suggereix, també, la possibilitat que es tracti de cèl.lules amb inclusions de reserva proteica i lipídica amb una funció de transport.

Un fet habitual en els vasos sanguinis localitzats entre els túbuls de l'hepatopàncreas és la presència de cèl.lules agrupades i amb característiques fagocítiques. **Johnson** (1980) indica la presència d'agregats cel.lulars de característiques fagocítiques tant sols en les arterioles hepàtiques o hepatopancreàtiques, assenyalant la possibilitat que derivin d'hemòcits circulants. **Quénot** (1905) va realitzar un estudi exhaustiu de 42 espècies de decàpodes i en tots hi localitzà agregats cel.lulars amb funció fagocítica al voltant de les arterioles de l'hepatopàncreas. **Quénot** apunta que la funció dels fagòcits fixos en les arterioles hepatopancreàtiques és la de filtrar l'hemolinfa que passa de la arteriola hepàtica al sinus de l'hepatopàncreas, abans de sortir a la cavitat hemocèlica general.

La funció fagocítica d'aquestes cèl.lules ha estat posada de manifest en estudis en els quals s'ha injectat tinta xinesa en el cor, detectant-ne un acumulació de la mateixa en els agregats cel.lulars ubicats al voltant dels vasos i que anomenen nefrofagocits (**Gibert** 1971). **Johnson** (1980) demostra aquesta capacitat

fagocítica a l'infectar experimentalment crancs i observar bacteris en l'interior de les cèl.lules agrupades al voltant dels vasos hepatopancreàtics.

Ratchliffe (1985) assenyala que el sistema immunitari en els invertebrats està constituït per cèl.lules sanguínies circulants i per varietat de cèl.lules fixes que poden estar agrupades formant òrgans.

Cal recordar que una de les àrees del cos on poden entrar agents patògens és a través del sistema digestiu. Les cèl.lules fixes fagocítiques presents al voltant dels vasos sanguinis, entre els túbuls de l'hepatopàncreas, intervindrien en el sistema immuno-defensiu.

L'existència d'una coberta o vaina que envolta tot el conjunt de túbuls hepatopancreàtics i que ha de ser atravesada per l'hemolinfa fa que és multipliquin els contactes entre els fagocits fixes i l'hemolinfa. La coberta connectiva de fibres de col.làgena actuarà com a barrera de comunicació entre el sinus hepatopancreàtic i la cavitat hemocèlica general. Això possibilita un major intercanvi entre els túbuls de l'hepatopàncreas i l'hemolinfa fent possible l'intercanvi de nutrients i/o productes metabòlics de desfeta.

Conclusions

- La glàndula digestiva està en Palaemonetes zariquieyi

constituïda per nombrosos túbuls epitelials i rodejada tota ella per una coberta rica en fibres de col.làgena.

- La coberta que envolta tot l'òrgan digestiu delimita el sinus hepatopancreàtic on trobem els diversos components hemolinfàtics.

- Entre els túbuls hepatopancreàtics s'hi troben cèl.lules fagocítiques fixes, cèl.lules amb inclusions, granulòcits i vasos hemàtics.

- Els vasos hemolinfàtics presents entre els túbuls de l'hepatopàncreas presenten, sempre cèl.lules fagocítiques agrupades. Aquestes cèl.lules intervenen en el sistema immuno-defensiu.

6.1.2. FIBRES MUSCULARS

La presència de fibres musculars en els túbuls de l'hepatopàncreas, amb una disposició preferencialment circular, possibilita moviments peristàltics dels túbuls, permetent una circulació en el seu interior tant de nutrients com de productes de secreció. Per altre banda, el fet que a la part distal dels túbuls, on coincideixen un diàmetre menor de la llum del túbul i una major distància respecte a la zona de connexió amb l'intestí mitjà, la distribució d'aquestes cèl.lules tingui una periodicitat major fa que es garanteixi un buidat dels túbuls.

Les característiques ultraestructurals que presenten aquestes cèl.lules musculars ens inclinen a qualificar-les de musculatura llisa, doncs presenten característiques ultraes-

structurals diferents a la musculatura estriada existent en les zones del tub digestiu anterior: habitualment no hem observat la típica banda Z, però en ocasions s'observa una banda semblant (LAM. XLVI, Fig. 1).

Algunes de les característiques presents en la musculatura de l'hepatopàncreas, la diferencien d'altres tipus, així trobem poc desenvolupament de l'aparell mitocondrial i que junt amb la manca de glicogen en el seu citoplasma ens indiquen possiblement una contracció lenta. (Bouligand, 1962)

El fet de no presentar la típica disposició microfibril·lar, és a dir amb les miofibril·les homogèniament distribuïdes pel sarcoplasme i la particular distribució dels orgànuls, recorda força el tipus de musculatura llisa macissa descrita, principalment, en Nemàtodes.

Fisiològicament, quant al tipus de contracció, recorda la de la musculatura cardíaca de la classificació de Bözler.

En l'hepatopàncreas d'altres decàpodes s'han descrit diverses varietats de fibres musculars. Loizzi (1971) en Orconectes virilis i Procambarus clarkii, descriu cèl·lules musculars estriades amb una disposició circular i també la presència de miofilaments amb disposició paral·lela al túbul, com els trobats en Palaemonetes zariquieyi. En aquest cas, però descriu la presència de la característica banda Z, encara que cal dir que la musculatura present a la iconografia del seu treball és semblant a la localitzada per nosaltres.

Stanier i col. (1968) descriu en l'exterior dels túbuls de

l'hepatopàncreas de Carcinus maenas cèl.lules mioepiteliales. Les característiques diferencials de les fibres musculars de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi respecte a la musculatura estriada corporal, en suggereix realment un origen diferent, però creiem que aquest fet s'hauria de comprovar amb treballs embriològics.

Conclusions

- Les cèl.lules epitelials es recolzen en una làmina basal ben desenvolupada que presenta franges paral.leles de diferent electrodensitat. Per sota de la làmina basal es troben les fibres musculars.

- La presència de fibres musculars en una orientació circular possibilita moviments peristàltics que recorren tot el tubul de l'hepatopàncreas.

- L'efectivitat d'aquest moviments ve possibilitada tant per llur diferent freqüència de distribució a lo llarg del tubul com per la presència de feixos de miofilaments amb diferent orientació dins d'una mateixa cèl.lula muscular.

- La menor longitud dels sarcómers, l'absència de glicogen i la reducció del condrioma, constitueixen característiques morfològiques que difereixen notablement de les que presenten la musculatura esquelètica del tram anterior del tub digestiu, indicant possiblement, una contracció més lenta.

6.2. CAPA EPITELIAL.

6.2.1. CONTACTES INTERCEL·LULARS.

Les unions septades, un tipus especial de contacte, es localitza de forma general en les cèl·lules epitelials dels invertebrats. La ultraestructura de les unions septades revela diferències morfològiques i de distribució en els òrgans de cada grup taxonòmic que han permès de diferenciar tres tipus d'unió septada: tipus Hydra , unió septada en làmina plegada i unió septada de tipus llis (Noirot - Timothée i Noirot, 1980). Un quart tipus d'unió de tipus escaleriforme es localitza de forma més restringida a nivell d'epitelis de transport d'alguns insectes (Fain Maurel i Cassier, 1972).

En els crustacis s'ha identificat dos tipus d'unió septades:

- unió septada en làmina plegada. Distingible després de la impregnació amb nitrat de lantà i en talls tangencials s'observen els septes en contrast negatiu i com adoptant una disposició de làmines plegades amb una periodicitat de 20 a 22 nm. (Noirot-Timothée i Noirot, 1980; Noirot-Timothée i Noirot, 1982).

- unió septada llisa en els quals després de la impregnació amb lantà són fàcilment distingibles els septes però en secció tangencial no presenta cap disposició plegada.

Les cèl·lules epitelials, que constitueixen l'hepatopàncreas presenten, com és habitual en tots els epitelis, especialitza-

cions en la membrana lateral que formen diferents zones d'unió cel·lular amb la doble missió d'adhesió i d'impermeabilitat.

A la regió apical en contacte amb la llum del túbul, presenten una unió de tipus adherents, seguida d'una regió en la qual observem, amb les tècniques habituals, com l'espai intercel·lular està obliterat per un material electrodens. L'observació acurada permet d'observar, en ocasions, utilitzant el contrastat habitual, petites zones electrodenses que constitueixen septes. La tècnica de la impregnació amb nitrat de lantà que hem aplicat en l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi permet d'identificar septes en aquesta unió. L'observació d'un tall tangencial de la regió de contacte (LAM. X, Fig. 1 i 2) permet de diferenciar clarament que es tracta d'una unió de tipus septat llis. Aquesta tècnica però posa de manifest una regió apicalment superior en la qual el nitrat de lantà no ha penetrat, per la qual cosa podem suposar l'existència d'una regió de característiques impermeables. Aquest tipus d'unió en la qual els septes sols es poden detectar clarament amb la impregnació de traçadors de l'espai intercel·lular com el lantà, ha estat descrita en altres epitelis de diferents organismes i anomenada per Noirot-Timotheé i Noirot (1980) unió septada de tipus llis. Habitualment aquest tipus d'unió ha estat descrita a la regió apical de les cèl·lules, en òrgans d'origen endodèrmic (Lane, 1981).

L'epiteli de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi presenta, en la regió apical, una unió de tipus adherents seguida d'una unió de tipus septat llis. La impregnació diferencial amb

el nitrat de lantà de la unió septada llisa observada ha estat indicada prèviament. Noiroirot-Timothée i Noiroirot (1980) indiquen que la penetració del nitrat de lantà rarament es produeix en tota la unió i generalment és restrictiva a la zona d'unió que és més accessible (regió costat hemolinfa). La impermeabilitat al nitrat de lantà de la unió septada llisa en l'hepatopàncreas Palaemone-tes zariqueiyi pot estar motivada pel propi mecanisme de penetració del nitrat de lantà, que és poc conegut, o motivada per ésser la unió septada una unió de tipus impermeable. Creiem que la tècnica de criofractura evidenciaria si la distribució de septes en la unió pot justificar una diferent permeabilitat de la unió al nitrat de lantà.

Pocs han estat els estudis realitzats respecte a les unions intercel.lulars presents en l'epiteli de la glàndula digestiva en els decàpodes. Gilula (1972) descriu en l'hepatopàncreas del cranc una especialització de les membranes laterals iguals: zonula adherents seguida d'unió septada llisa. McVicar i Shivers (1985) presenta una il.lustrativa imatge panoràmica dels contactes hepatopàncreatics del cranc Orconectes propinquus. Obtinguda amb la tècnica de criofractura s'observa una regió lateral situada immediatament a sota del nivell dels microvillis que els autors no analitzen i que presenta les característiques d'unió adherents, a la qual segueix una unió septada de tipus llis.

Respecte a les funcions atribuïdes a les unions septades llises han estat variades relacionant-les amb l'adhesió mecànica,

la impermeabilitat, el manteniment de la polaritat de les membranes evitant el moviment de partícules intermembrana i per últim amb fenòmens de comunicació intercel.lular. Aquesta última funció és discutida ja que en algunes ocasions, coincideixen les unions septades i les unions de tipus gap que clarament tenen una funció comunicativa.

Graf (1978) discrepa respecte a la funcionalitat de tipus mecànica, atribuïda a les unions septades de tipus llis, en funció de la variabilitat que presenta aquesta unió. Graf detecta variacions en una mateixa cèl.lula quant al nombre de septes. Atribueix aquesta variabilitat a les diferències que presenten les cèl.lules contigües en relació al seu estat fisiològic, ja que totes les cèl.lules estan sotmeses a la mateixa tensió mecànica. Graf i Noiroi-Thimothée coincideixen a atribuir una certa funció de barrera a les unions de tipus llis, evitant al pas de determinats components cap a l'interior de l'epiteli. Malgrat que la configuració particulada i no compacta dels septes i espais interseptes detectades amb les tècniques de criofractura justificant una certa permeabilitat a substàncies traçadores com el nitrat de lantà. Ja hem discutit que l'impermeabilitat detectada en l'unio septada llisa (LAM. X, Fig. 1 i 2) pot ser atribuïda a una impermeabilitat de la unió septada llisa. Evitaria doncs el pas directe de substàncies de la llum del túbul a l'espai intercel.lular.

Les membranes laterals de la regió basal presenten, també, zones especialitzades de contacte. En talls contrastats amb la

tècnica habitual hem observat zones d'unió de tipus septat (LAM. X, Fig. 4). La impregnació amb nitrat de lantà posa de manifest més clarament la naturalesa d'unió septada.

Gilula (1972), McVicar i Shivers (1985) i Berdan i Gilula (1988) assenyalen la presència d'unions de tipus gap en les membranes laterals, situades en regions inferiors a les unions apicals en cèl.lules epitelials hepatopancreàtiques. Aquests autors, però indiquen l'absència d'unions de tipus septat en les regions basals. Ja hem indicat com ha estat atribuïda, a les unions septades, varies funcions, no tant sols una missió important en l'adhesió cel.lular, sinó que podrien permetre el pas de petites mol.lècules, es a dir que permetrien comunicació directe entre les cèl.lules. Es, doncs, possible que l'acoplament entre les cèl.lules, realitzat en el cranc per les unions gap sigui mediatitzat en Palaemonetes zariquieyi per les unions septades de situació basal.

La tècnica de l'àcid tànnic, conegut marcador intercel.lular ha permès, també, de visualitzar figures concèntriques i laminars a la regió basal.

El mecanisme d'actuació de l'àcid tànnic és poc conegut, Simionescu i col. (1976) demostrant que l'àcid tànnic actua com un agent mordent per a les tincions amb metalls pesants i no com un fixador o com un agent contrastant.

Utilitzant l'àcid tànnic junt amb glutaraldehid i abans de la postfixació amb osmi, hem pogut observar la presència d'estructures lamelars localitzades en la regió basal de la

oèl.lula. Aquestes estructures han estat localitzades en diferents espècies i diferents tipus cel.lulars quan s'utilitza la tècnica de l'àcid tànnic: oèl.lules musculars i intestinals en copèpodes (J.Garcia Valero, 1986), oèl.lules musculars humanes (Wakayama i col., 1981), oèl.lules epitelials del conducte aferent d'insectes (Lai-Fook, 1984) i de crustacis (J.Garcia Valero, 1987).

Alguns treballs (Kaline i Pearse, 1977) mostren com l'àcid tànnic interactua amb els fosfolípids, concretament amb la colina formant un complex que posteriorment reacciona amb el tetròxid d'osmi donant un precipitat electrodens.

Els cossos laminars visualitzats amb la tècnica de l'àcid tànnic són, possiblement, precursors de membrana: fosfolípids o complexos lipoproteics, amb restes de fosfatidilcolina. La presència de precursors de membrana en l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi n'indicaria un recarvi membranós. Cal recordar les variacions de la regió basal de la oèl.lula absorbents (oèl.lules R). Hem observat com les nombroses invaginacions laminars de la membrana presenten notables variacions, per la qual cosa quedaria justificada la presència de precursors de membrana en la regió basal.

Conclusions

- Les unions intercel.lulars presents en la regió apical de les oèl.lules epitelials: unió adherens i unió septada de tipus

llis tenen una missió d'adhesió i d'impermeabilitat, mantenint aïllat l'espai intercel·lular de la llum dels túbuls.

- L'aplicació de la tècnica de l'àcid tànnic ens ha permès observar precursors de membrana en la regió basal de les cèl·lules epitelials que presenten un recambi membranós important.

6.2.2. TIPUS CEL·LULARS EPITELIALS.

6.2.2.1. CEL·LULES E.

El present estudi ha permès de localitzar en la regió distal dels túbuls de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi cèl·lules que mantenen la seva capacitat proliferativa.

En els estudis realitzats anteriorment en hepatopàncreas de decàpodes s'han localitzat, en la regió distal dels túbuls, figures de mitosi, anomenant-se, les cèl·lules que les presenten, cèl·lules E (embrionic cells) per la seva capacitat proliferativa.

La caracterització a nivell ultraestructurals de les cèl·lules E (proliferatives) hepatopancreàtiques de decàpodes ha estat realitzada en poques ocasions. **Baffoni** (1965) assenyala en el seu treball característiques ultraestructurals de les cèl·lules E comparables a les trobades en el nostre estudi en Palaemonetes zariquieyi. **Sesma i col.** (1982) han realitzat l'únic treball, fins ara, on presenten imatges de mitosi a nivell ultraestructural.

La funcionalitat de les cèl·lules proliferatives està en discussió i sembla ser una característica variable depenent de la espècies i del tram del tub digestiu. En peixos com la carpa les cèl·lules proliferatives són funcionals. **Rambout i col.** (1984), mostren la presència de quilomicrons formats durant l'absorció de lípids en cèl·lules proliferatives de carpa. En el colon dels

rosegadors i home passa el mateix, cal indicar, però que la proliferació es dona entre les cèl.lules madures, al mig de les criptes (Lipkin, 1973).

En la majoria dels vertebrats, però les cèl.lules epitelials del tub digestiu es divideixen en una regió definida, proliferativa i migren cap a altres regions on perden la seva capacitat proliferativa i esdevenen funcionals (Leblond, 1972; Jinguuji i Ishikawa, 1986).

En l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi les cèl.lules E (embrionaries), que són les que mantenen la seva capacitat proliferativa, estan localitzades majoritàriament en la regió distal dels túbuls, observant-se a partir d'aquesta regió una diferènciació cap als altres tipus cel.lulars.

L'estudi exhaustiu realitzat en un elevat nombre de túbuls hepatopancreàtic ha permès de localitzar mitosis entre cèl.lules diferenciades, en la regió no distal. L'ur freqüència és poc elevada, però significa l'existència de zones de regeneració suplementaries. Les cèl.lules veïnes a les mitosis, però, són cèl.lules diferenciades, cèl.lules absorbents (cèl.lules R) i cèl.lules vacuolades (cèl.lules B).

Les cèl.lules proliferatives (cèl.lules E) de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi, situades en la regió distal dels túbuls, presenten característiques de cèl.lules poc diferenciades: tenen els microvillis curts; pocs orgànuls i molts ribosomes lliures. Aquestes característiques son comparables a les cèl.lules proliferatives de l'intestí prim de mamífers (Cheng

i Leblond, 1974), on les cèl.lules proliferatives no són funcionals per a l'absorció.

La diferenciació progressiva de les cèl.lules E (embrionaries) cap a cèl.lules R (absorbents) o F (fibril.lars) ha estat observada per Loizzi (1971) en Orconectes viridilis. Localitza en la regió distal cèl.lules precursors de cèl.lules R (absorbents) o F (fibril.lars), així com cèl.lules R joves observant en les mateixes una gran quantitat de glicogen i poques i petites gotes lipídiques. La progressiva diferenciació cap a cèl.lules R o F ha estat confirmada en el present estudi, observant-se a nivell de la microscòpia òptica dilatacions del complex de Golgi (diferenciació cap a cèl.lules fibril.lars, F) o presència de petites gotes lipídiques en la regió apical (diferenciació cap a cèl.lules absorbents, R).

En estudis de proliferació cel.lular, realitzats en cultius in vitro, les mitosis presenten una orientació a l'atzar. En canvi quan aquests estudis estan confinats a un teixit diferenciat és probable que les divisions cel.lulars estiguin orientades de tal manera que mantinguin la integritat estructural del teixit (Potten, 1981). Aquest fet ha estat comprovat particularment en glàndules constituïdes per cèl.lules epitelials polaritzades. En estudis de pàncreas (Pictet i col., 1972; Lutcke i col., 1987) i tiroïdes (Zeligs i Wollman, 1979) s'ha indicat que la citoquinesi es produeix sempre de manera que dona com a resultat el de dues cèl.lules filles de posició luminal.

Recentment Ferguson (1988) a l'estudiar un nombre elevat de

mitosis (112) en la glàndula mamària humana, observa dos tipus d'orientacions mitotiques. Una de les orientacions majoritària, similar a les descrites en pàncreas i (Pictet i col., 1972; Lutzke i col., 1987) i tiroïdes (Zeligs i Wollman, 1979), donant com a resultat dos cèl.lules filles amb contacte amb la llum. La segona orientació dóna lloc a una cèl.lula en contacte luminal i una altra de situació basal. La cèl.lula originada basal no és manté doncs la glàndula presenta sols una capa epitelial. N'indica dues explicacions possibles: o bé es diferencia cap a la capa mioepitelial ó bé desapareixen per apoptosis.

Les observacions realitzades en l'hepatopàncreas ens assenyalen, també una citoquinesi amb l'eix perpendicular a la llum del túbul. Creiem, però que caldria una anàlisi exhaustiva de la citoquinesi per a descartar la possibilitat d'un altra orientació mitòtica.

Conclusions

- La regió distal dels túbuls de l'hepatopàncreas està constituïda per cèl.lules proliferatives (cèl.lules E), que presenten freqüents mitosis.
- La proliferació cel.lular es dóna en cèl.lules epitelials polaritzades i amb posició luminal. La citocinesis té lloc en sentit paral.lel a l'eix major de les cèl.lules.
- Les cèl.lules E presenten una diferenciació paulatina cap a cèl.lules funcionals cèl.lules R o cèl.lules F.

- La localització de mitosis en regions dels túbuls més proximals entre cèl.lules diferènciades i funcionals significar que la proliferació cel.lular en l'hepatopàncreas no és exclusiva de la regió distal.

6.2.2.2. CEL·LULES R (ABSORBENTS):

6.2.2.2.1. SUPERFÍCIE APICAL.

Les cèl·lules epitelials de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi, que anomenem cèl·lules R seguint la nomenclatura establerta per Hirsch i Jacobs (1928), presenten una alta polaritat. En la part apical de la cèl·lula una xapa ben desenvolupada, constituïda per característics microvillis, contribueix a augmentar la superfície d'absorció. L'aspecte dels microvillis de les cèl·lules R destaquen per ser els més alts (1,2 µm) dels que hi ha en els altres tipus cèl·lulars de l'hepatopàncreas, i a més per la seva distribució uniforme en tota la superfície apical de la cèl·lula. La membrana microviliària és una mica sinuosa, presentant en conjunt els microvillis un aspecte arrossariat. Això pot contribuir a un augment suplementari de la superfície d'absorció (Durfort, 1975). Així el conjunt de la superfície apical de les cèl·lules R és sensiblement major respecte als altres tipus cel·lulars de l'hepatopàncreas.

La presència de material amorf lleugerament filamentós i P.T.A. positiu a l'exterior de la membrana microviliària indica l'existència del característic revestiment glicoproteic anomenat glicocalze per Bennet (1969). El glicocalze o glicocàlix és present en la majoria de les cèl·lules de funció principalment absorbent. La implicació real del glicocàlix en l'absorció intestinal no ha estat ben establerta, suggerint-se una varietat

de papers. Sembla que el glicocàlix actuaria regulant l'accés de les substàncies de la llum intestinal a la membrana microviliar gràcies als seus ponts i a les seves propietats filtradores (Yamamoto, 1982).

En enteròcits de vertebrats s'ha demostrat, emprant estudis autoradiogràfics, que la síntesi de glicoproteïnes per constituir el glicocalze és contínua (Ginsel i col., 1980). Petites vesícules d'origen Golgià transporten material glicoproteic cap a la superfície apical cel.lular on són lliurats per exocitosi, constituint el glicocalze (Ginsel i col. 1979). En el cas de les cèl.lules R (absorbents) també hem observat petites vesícules a la part apical de la cèl.lula amb un revestiment intern glicoproteic i hem pogut observar, en alguna ocasió, el lliurament del material contingut per exocitosi. (LAM. XVI, FIG. 1).

Utilitzant diferents condicions experimentals (Ginsel i col. 1980; Blok i col. 1980, 1981) demostren l'existència d'un mecanisme regulador en el transport de les glicoproteïnes cap al revestiment apical de les cèl.lules. En aquest procés regulador, en els enteròcits de vertebrats, intervenen cossos densos, presents en la regió supranuclear de naturalesa lisosòmica per la qual cosa podem parlar d'un procés de crinofàgia.

La detecció de glicoproteïnes en els cossos densos de les cèl.lules R de l'hepatopàncreas amb la tècnica del P.T.A. (àcid fosfotúngstic) (LAM. XX, Fig. 1) pot indicar l'existència d'un procés semblant de crinofàgia, detectant-se amb aquesta tècnica les glicoproteïnes presents en aquests cossos densos encara no

degradats. Blok i col. (1981) detecten també la presència de glicoproteïnes en els cossos densos de cèl.lules intestinals humanes en cultiu. En els seus estudis en demostren un augment quan administren drogues que inhibeixen el catabolisme lisosòmic.

En l'interior dels microvillis s'observa filaments d'actina que els hi confereixen rigidesa mecànica. Com és habitual aquests filaments s'insereixen al citoplasma apical de la cèl.lula formant arrels microviliars. En les cèl.lules R la regió terminal, de manera semblant a altres cèl.lules que presenten microvillis, està caracteritzada per la presència de microfilaments de miosina (Moosker i col., 1975 i 1978) que en conjunt possibiliten l'existència de moviments microviliars, a més de servir d'esquelet i reforç de les zones d'unió presents en les membranes laterals. Els filaments presents en l'interior dels microvillis actuarien com a suport mecànic i possibiliten l'existència de moviments microviliars.

6.2.2.2.2. CONDRIOMA

El condrioma de les cèl.lules R (absorbents) està constituït per mitocondris amb una matriu d'electrodensitat variable: clara o densa als electrons. La diferent electrodensitat present en determinats cassos de la matriu dels mitocondris pot correspondre a períodes de dejuni obligats en els processos de muda. En teleostis mantinguts durant llargues temporades sense aliment s'ha observat una densificació de la matriu mitocondrial que

Hackenbrock i Caplan (1969) associen a una acumulació de Ca^{++} i a una disminució de la fosforilització oxidativa . Per tant la diferent electrodensitat de la matriu mitocondrial ens podria indicar períodes de dejuni. Cal objectar, però que en ocasions en cèl.lules veïnes s'observa mitocondris amb electrodensitat diferent. Tanmateix creiem que és difícil i aventurat treure conclusions generals de l'estat metabòlic i fisiològic de l'animala partir de característiques ultraestructurals. Cal quantificar abans aquestes diferències ultraestructurals.

Per altre banda hem observat en les cèl.lules R joves una menor densitat electrònica en la matriu mitocondrial, així un altre motiu de les diferències morfològiques dels mitocondris podria ser degut al procés de diferenciació o envelliment cel.lular.

El condrioma en aquestes cèl.lules presenta una distribució predominant a la regió apical. Disposats formant una franja per sota de la xarxa terminal, distribuïnt-se majoritàriament amb l'eix major paral·lel a la llum del túbul. Aquesta localització es habitual en cèl.lules absorbents, com les intestinals dels vertebrats (Toner, 1968). En el cas, però, de les cèl.lules R, la presència de la franja mitocondrial és molt constant indicant una necessitat energètica en el decurs de l'absorció de nutrients, o pel moviment microviliari.

La població mitocondrial en les cèl.lules R (absorbents) es localitza preferencialment en les regions laterals de la cèl.lula, a les proximitats de les membranes laterals i en la regió

basal entre les invaginacions laminars. Observem doncs una distribució preferent del condrioma en les regions on hi pot haver intercanvi amb l'exterior, tant a la regió apical com a la regió basal i lateral de la cèl.lula.

Per últim recordar que al voltant de les grosses inclusions lipídiques és localitzen també mitocondris. La proximitat dels mitocondris possibilitaria una ràpida metabolització dels lípids per oxidació o cetogènesis, ambdós processos intramitocondrials.

6.2.2.2.3. LISOSOMES.

Per sota de la franja de mitocondris apicals, s'observa habitualment la presència de cossos densos. Aquests cossos densos presenten una regió tubular central que constitueix una xarxa de connexió entre diversos cossos densos.

Es possible d'observar les zones d'interconnexió de manera bastant constant. Calen proves dinàmiques, autoradiogràfiques per discernir la seqüència de formació d'aquests cossos densos i conèixer si la xarxa tubular de connexió és un pas previ a la coalescència dels mateixos.

El complex de Golgi intervindria en el procés de formació dels cossos densos. En determinades cèl.lules està molt desenvolupat constituït per nombrosos dictiosomes, amb forma corba. S'observa en la proximitat dels dictiosomes, vesícules denses formades a partir dels sàculs dels dictiosomes. Aquests grànuls semblen precursors dels cossos densos. (LAM. XXIII, Fig. 1, 2, 3).

Cossos electrodensos semblants han estat descrits en cèl.lules intestinals de teleostis (Noaillac i Gas, 1976) i han sigut relacionats amb lisosomes. Com ja hem indicat en enteròcits humans a on també es poden trobar cossos densos semblants s'ha demostrat la seva intervenció en fenòmens de crinofagia (Hauri i col., 1977; Ginsel i col., 1980).

Sembla clara la seva naturalesa lisosòmica pel fet d'observar en l'interior dels cossos densos restes de membrana i material força amorf i heterogeni. Hem observat l'existència en ocasions d'una doble membrana la qual cosa pot indicar fenòmens d'autofagia. (LAM. XVIII, Fig. 1 i 2). Serien doncs cossos residuals, originats tant per fenòmens de crinofagia com d'autofagia. Aquest darrer fet suggereix un elevat turnover dels orgànuls presents en la cèl.lula. No podem, però descartar la possibilitat que en el cas de les cèl.lules R (absorbents) també hi hagin fenòmens de digestió de nutrients interocel.lular, en els quals intervindrien aquests cossos densos.

La xarxa tubular que comunica diversos cossos densos presents en les cèl.lules R, sols han estat descrits en determinades condicions experimentals.

Administrant coltxicina intraperitonealment, Ellinger i Pavelka (1984) observen com s'indueix a la acumulació d'orgànuls tubulovesiculars i cisternals en cèl.lules absorbents de l'intestí de rata. La formació d'aquests orgànuls tubulo-vesiculars coincideix amb la reducció de microtúbuls i amb canvis massius en l'organització de la cèl.lula, incluint-hi alteracions en

l'aparell de Golgi i de la membrana plasmàtica. Les vesícules i túbuls contenen una matriu electrodensa i homogènia i estan situats en la regió apical de la cèl.lula sota la xarxa terminal i a la part basal aprop de la membrana basolateral. Proves enzimàtiques: TPPasa, IDPasa, AcPasa, TMPasa indiquen un caràcter lisosomal de l'orgànula. La alteració provocada per la coltxicina en el transport intracel.lular del material sintetitzat del glicocalze suggereix una funció de crinofagia del aparell lisosomal.

La presència de cossos electrodensos en cèl.lules absorbents (cèl.lules R) d'hepatopàncreas d'altres Decàpodes és variable. **Loizzi**, 1971; i **Stanier i col.**, 1968; en els seus treballs en hepatopàncreas de Gallinectes sapidus i Oroconectes viridilis no descriuen cossos electrodensos en les cèl.lules absorbents (cèl.lules R).

En altres Decàpodes si que han estat descrits cossos electrodensos, però en cap cas no presenten la regió tubulovesicular de connexió detectada en el nostre estudi. **Al-Mohanna i Nott** (1985) en localitzen en l'hepatopàncreas de Penaeus semisulcatus. Distingeixen, al fer microanàlisi amb raigs X, en aquests cossos electrodensos, una diferent composició metàl·lica utilitzant microanàlisi de raigs X. Detecten metalls en forma de sulfats de coure i de zenc; i altres que contenen metalls en forma de fosfats de calci i de zenc, aquests últims presenten forma d'esferocristalls i els localitzen només en els estadis de premuda, en la regió mitjana dels túbuls.

El contingut en zenc creuen que està relacionat amb una funció desintoxicadora d'aquesta glàndula, i que s'acumula en els animals que habiten en aigües que contenen aquest contaminant, doncs encara que el zenc és un element essencial utilitzat en sistemes enzimàtics, la quantitat detectada en aquests grànuls no pot ser justificada per la seva funció metabòlica.

La presència de coure en estructures lisosomals ha estat també detectada en altres decàpodes. Ogura, 1959, tipifica les cèl.lules de l'hepatopàncreas de Procambarus clarkii segons el seu contingut metàl·lic en : cèl.lules de Coure (Cu) i cèl.lules de Ferro (Fe), que correspon respectivament a les cèl.lules R (absorbent) i cèl.lules F (fibril·lars) de Hirsch i Jacobs (1928).

Lyon i Simkiss (1984) localitzen, també coure, calci i zenc, en cossos densos apicals. L'acumulació del coure en aquest òrgan ha estat explicada amb una funció de reserva per a la seva utilització en la síntesi d'hemocianina. L'augment de la quantitat de sang immediatament després de la muda motivaria la necessitat d'una reserva de coure; element constituent de l'hemocianina. De tota manera les concentracions de coure trobades per Lyon i Simkiss (1984) son elevades, indicant, possiblement, també, una acumulació suplementària degut a la presència d'aquest element en l'aigua. Existiria una correlació entre la funció digestiva i la funció d'acumulació de metalls en la glàndula digestiva.

En l'estudi realitzat, hem intentat de localitzar ions

inorgànics en els cossos densos. La tècnica de fixació amb piroantimoniàt potàsic ha estat assenyalada per la seva utilitat per precipitar els ions de Mg^{++} , Ca^{++} , i Na^+ (Klein i col., 1972). Aquest mètode ha permès de detectar precipitats de piroantimoniàt en els cossos densos (LAM. 0, Fig. 3).

La microanàlisi de raigs X acoblat utilitzant semifins i ultrafins de l'òrgan no ha pogut detectar cap ion inorgànic en els cossos electrodensos presents en la regió apical de les cèl.lules R (absorbents).

La impossibilitat de detectar ions inorgànics en el nostre estudi pot estar motivada per la solució fixadora utilitzada. Lyon i Simkiss (1984) indiquen que sols detecten coure en les cèl.lules de l'hepatopàncreas quan utilitzen anhídric sulfídric en el fixador.

No descartem però la possibilitat que els cossos densos intervinguin també com a orgànuls acumuladors de ions amb una funció o de reserva o bé d'excreció, detoxificadora. Cal recordar que en els primers estudis de l'òrgan digestiu dels decàpodes n'havia estat indicada una funció desintoxicadora. (Frenzel, 1884; Guieysse, 1907). La exfoliació visualitzada en aquest tipus cel.lular contribuiria a l'eliminació, per les femtes, de substàncies tòxiques, ions inorgànics principalment, acumulats en els cossos densos d'aquestes cèl.lules. Per altra banda en condicions experimentals, al mantenir els animal en aigua que conté cadmi s'ha detectat una acumulació d'aquest element tant en les brànquies com en la glàndula digestiva (Skwarzec i col. 1984,

Chassard-Bouchaud, 1980, 1981, 1982). Chassard-Bouchaud (1981) localitza l'acumulació de cadmi en els lisosomes de les cèl.lules R (absorbents) de l'hepatopàncreas d'un decàpoda, natàntia. En un estudi posterior (Chassard-Bouchaud, 1982) realitzà la mateixa experiència amb un cranc i detectà acumulació de cadmi en els esferocristalls de calci presents en aquest cas en l'hepatopàncreas.

La presència de ions inorgànics en la glàndula digestiva ha estat indicada no només en els decàpodes, sinó en altres grups que presenten òrgans comparables en el tub digestiu (mol.luscs). Així Durfort (1981); Durfort i Vallmitjana (1981) observen una acumulació de calci degut a processos metabòlics, i Bouqueagneau i Martoja 1982 detecten cadmi i zenc en la glàndula digestiva de gasteròpodes quan aquests elements estan en el medi.

Clàssicament s'ha involucrat la glàndula digestiva en processos d'acumulació de ions inorgànics, un dels més característics i importants és la presència d'esferocristalls de calci, relacionats amb processos de reserva i muda. En Palaemonetes zariquieyi no hem localitzat esferocristalls càlcics.

Tanmateix en altres decàpodes la presència d'esferocristalls és variable. La seva absència l'han relacionada inicialment amb la presència de gastròlits en el molinet gàstric on s'acumularia el calci de reserva, segons l'estadi del període de muda.

En aquest mateix tipus cel.lular, es localitza una altra estructura d'aspecte clarament lisosòmic: vacuoles de aspecte clar als electrons i que en el seu interior s'hi observa un

contingut heterogeni amb restes de membrana. El fet que hàgim detectat activitat fosfatàsica àcida en l'interior d'aquests vacuols n'indica clarament la naturalesa lisosòmica. Es tracte de lisosomes clars, relacionats amb fenòmens d'autofàgia. Presenten en algun cas doble membrana (LAM. XVIII, Fig. 1 i 2), fet que assenyala clarament l'origen autofàgic de aquests orgànuls (Glaumann i col., 1981).

6.2.2.2.4. REGIO PERINUCLEAR.

En la regió perinuclear s'observen vesícules de reticle endoplasmàtic rugós i poliribosomes. Ambdós estan bastant desenvolupats i com es notori, implicats en la síntesi proteica.

El complex de Golgi presenta una disposició perinuclear, observant-s'hi un major nombre de dictiosomes en la regió supranuclear.

Hem observat que el complex de Golgi presenta una diferent morfologia:

- Presenta nombrosos dictiosomes en forma de copa quan està formant els precursors del cossos densos (LAM. XXIII, Fig. 1, 2, 3), observant-se en la seva proximitat grànuls d'electrodensitat variable i elements microtubulars implicats en el transport dels productes empaquetats en el complex de Golgi. (LAM. XXIV, Fig. 1).

- Els dictiosomes són més petits, presenten en conjunt un aixafament cosa per la qual no presenten la morfologia cupulifor-

me. Al mateix temps, s'observa una dilatació d'algunes cisternes observant-se en el seu interior partícules lipoproteiques. (LAM. XXV, Fig. 1, 2)

El complex de Golgi en les cèl.lules R (absorbents) intervinen per tant en dos processos diferents: la producció de cossos densos i la formació de lipoproteïnes després de l'absorció lipídica. (LAM. XXV, Fig. 1, 2). Observant-se una variació morfològica del mateix.

6.2.2.2.5. ABSORCIO LIPIDICA.

Guieysse (1907) va ésser un dels primers estudiosos en indicar la presència d'absorció de nutrients en els túbuls de l'hepatopàncreas dels crustacis. El curt recorregut de l'intestí en els decàpodes determinaria que l'absorció principal de nutrients tingui lloc en els túbuls de l'hepatopàncreas, sense que això signifiqui que no hi ha absorció de nutrients en l'intestí. En Palaemonetes zariquieyi a nivell del intestí, hem trobat també formacions de pinocitosi.

L'absorció de substàncies lipídiques i el seus mecanismes han estat estudiats preferencialment en els vertebrats.

Recordem els mecanismes de l'absorció lipídica en els vertebrats (Figura VIII, pag. 195):

La hidròlisi luminal dels lípids, en la qual actuen enzims com la lipasa pancreàtica, produeix monoacilglicerols i àcids grassos que poden travessar la membrana de les cèl.lules intesti-

nals. En l'interior de la cèl.lula els àcids grassos captats poden ser utilitzats com a font energètica, oxidats immediatament pels mitocondris, o esterificats per constituir de nou triacilglicerols.

Els triacilglicerols resintetitzats seran empaquetats amb proteïnes constituint lipoproteïnes (quilomicrons) per al seu transport posterior a l'espai extracel.lular i via plasmàtica traslladats a altres teixits per a la seva utilització com a font energètica, o bé constituïran inclusions lipídiques, mantenint-se en reserva.

Els quilomicrons, és un terme emprat per Gabe (1920) per descriure partícules lipídiques observades després de la ingesta de lípids en el plasma, es formen en les cèl.lulas intestinals durant l'absorció de lípids. Són partícules riques en triacilglicerols tenint també un component proteic que facilita, un cop han estat transferits als capilars, el seu transport en el plasma. Es caracteritzen per la seva composició i pel seu tamany entre 750 Å a 6000 Å, essent per terme mitjà de 1200 Å. El seu tamany però no es constant, sembla dependre del nivell d'absorció de lípids i la resíntesi de triacilglicerols i en últim terme, sembla ser característic de l'espècie.

Durant l'absorció de lípids i la formació dels quilomicrons, en vertebrats, s'ha demostrat que els triacilglicerols resintetitzats són visibles primerament en el reticle endoplasmàtic, on hi té lloc la seva síntesi (Schiller i col., 1970; Robins i col., 1971), per passar posteriorment al complex de Golgi. Per últim

vesícules procedents del Golgi són expulsades cap a l'espai intercel·lular per un procés d'exocitosi, amb la fusió de membranes de les vesícules golgianes amb les membranes basolaterals de la cèl·lula, expulsant-se les lipoproteïnes cap a l'espai intercel·lular. (Palay i Karlin, 1959; Cardell i col., 1967; Sabesin i Frase, 1977).

En els decàpodes l'absorció de lípids seria semblant i tindria lloc en l'hepatopàncreas. Loizzi i Peterson (1971) determinen histoquímicament la presència d'activitat lipasa en el polus apical de les cèl·lules R (absorbents) i en la llum dels túbuls de l'hepatopàncreas de Gallinectes sapidus (Decapoda). La presència de lipasa en el polus apical de les cèl·lules R i en la llum indiquen l'existència d'una hidròlisi luminal de les substàncies lipídiques prèvia a llur absorció.

En els vertebrats és clara la intervenció d'emulgents, com la bilis, que actuen augmentant la solubilitat de les micel·les lipídiques per facilitar la seva absorció. En els decàpodes s'ha constatat la manca de pigments biliars, però ha estat demostrada la presència de substàncies emulgents en l'hepatopàncreas. Lester i col. (1975) demostren que una substància produïda i secretada per l'hepatopàncreas de Carcinus (el N-N dodecanolisarcosil-taurin) augmenta la solubilitat del colesterol alhora que incrementa l'absorció d'esterols.

Tots aquests fets, junt amb la absència, en la regió submicrovilliar de les cèl·lules R (absorbents) de vesícules de pinocitosi i de substàncies o partícules osmiofiles, indiquen

l'existència d'hidrolisi intraluminal dels greixos. L'absorció dels productes d'aquesta hidròlisi seria semblant a la descrita en els enteròcits dels vertebrats (Takahashi i Mizunuma, 1984).

Per altra banda en l'interior de les cèl.lules absorbents, després de l'absorció lipídica, habitualment s'observa la presència de partícules lipoproteiques i inclusions lipídiques, com s'esdeve en enteròcits de peixos i de rata (Noaillac-Depeyre i Gas, 1976; Cardell i col., 1967).

Les cèl.lules R de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquiei presenten dos tipus d'inclusions de naturalesa lipídica, com succeix en els enteròcits de vertebrats. Segons el seu tamany, les podem agrupar en: inclusions lipídiques (més de 1 μm) i partícules lipídiques (de 200 Å). Les partícules lipídiques observades en l'hepatopàncreas correspondrien a lipoproteïnes.

La tècnica O.T.O. (Seligman i col., 1966) ha estat utilitzada per posar de manifest la naturalesa lipídica d'alguns components cel.lulars, en particular augmenta el contrast de les lipoproteïnes formades en el procés d'absorció de lípids en els enteròcits, essent una tècnica força utilitzada en peixos.

L'aplicació d'aquesta tècnica en l'hepatopàncreas ha posat de manifest la composició lipídica de les partícules localitzades en el complex de Golgi i en vesícules, i sistema tubular basal de les cèl.lules R (absorbents). (LAM. XXV, Fig. 4).

Ja hem indicat com en ocasions el complex de Golgi està format per dictiosomes petits, en els que s'observa una dilatació de les cisternes, contamplant-s'hi en llur interior partícules

lipoproteiques. (LAM. XXV, Fig. 1, 2).

Les partícules lipídiques en les cèl.lules epitelials de l'hepatopàncreas constituïrien una forma d'àcids grassos, possiblement d'origen alimentari. Poden tenir, doncs, un paper semblant i comparable als quilomicrons presents en les cèl.lules intestinals dels mamífers, encara que pel seu tamany serien classificades com a lipoproteïnes de baixa densitat VLDL, descrites en els mamífers (Baglio i Farber, 1965; Trotter, 1967). Cal recordar que les lipoproteïnes en estudis realitzats en vertebrats es classifiquen atenent al seu tamany i composició, essent el seu origen també variable. (TAULA XVIII).

Per analogia amb les presents en els mamífers podem considerar que aquestes partícules lipídiques estarien constituïdes per triacilglicerols associats a proteïnes i a fosfolípids.

L'absència de partícules de tamany igual als quilomicrons durant l'absorció lipídica en vertebrats ha estat observada també en enteròcits de carpa, on després d'ingerir lípids s'observa la formació, en els enteròcits, de partícules lipoproteiques del tamany assignat a les VLDL (Stroband i col., 1978, Gas i Noail-lac-Depeyre, 1976). S'observa l'absència de partícules de tamany gros com els quilomicrons, per tant les partícules lipídiques formades durant la ingestió de lípids i presents en tots els grups zoològics que presenten activitat lipasa, poden tenir diferent tamany.

Cal objectar, però, que ha estat demostrada la intervenció de cèl.lules absorbents, enteròcits de vertebrats, en la síntesi

de VLDL (very low density lipoprotein) que es poden distingir en estudis amb microscòpia electrònica pel seu tamany de 280 a 700 Å. Les VLDL tenen un origen endogen, es sintetitzen a partir de lípids endògens en cèl.lules absorbents, només en situació de dejuni, (Sire i Vernier, 1979). Establerta en diferents grups zoològics (Green i Glickman, 1981) s'observa, com en el cas dels quilomicrons, una intervenció del reticle endoplasmàtic i un empaquetament en el complex de Golgi (Novikoff, 1982).

Aquest fet fa que sigui necessari un estudi autoradiogràfic per determinar, en darrer terme, si les partícules lipoproteiques observades i de tamany semblant a les VLDL en l'hepatopàncreas provenen de la ingesta, es a dir són comparables als quilomicrons, o provenen de la degradació de les inclusions lipídiques.

En els mamífers està establert que els lípids de la ingesta incorporats en els quilomicrons abandonen la cèl.lula per exocitosi (Cardell i col, 1967; Friedman i Cardell, 1977). En les cèl.lules R de Palaemonetes zariquieyi hem observat un mecanisme semblant. Observem així el pas d'aquestes partícules lipídiques a l'espai intercel.lular que en determinades ocasions hem observat que està dilatat, formant canals intercel.lulars. En l'interior dels canals intercel.lulars es localitzen partícules lipoproteiques (LAM. XXXVII, Fig. 1, 2, 3). En la Figura IX (pag. 196) veiem esquematitzat l'absorció de lípids en les cèl.lules R (absorbents) de l'hepatopàncreas.

Les dilatacions de l'espai intercel.lular estan localitzades entre les dues membranes de cèl.lules veïnes i en les zones de

contacte tricel.lular. S'observa també una continuïtat i una relació entre els canals intercel.lulars i el sistema d'invaginacions de la membrana lateral i basal.

La presència dels canals intercel.lulars coincideix amb un desenvolupament del sistema tubular basal, observant-se també en el seu interior la presència de partícules lipoproteiques.

En el sistema membranós basal també es localitzen lipoproteïnes, ubicant-se en l'interior de les estructures laminars. Aquest sistema membranós, format a partir d'invaginacions de les membranes laterals i basals, intervindrien en l'excreció de lipoproteïnes. Les lipoproteïnes escretades passarien a l'hemo-linfa per al seu transport a d'altres teixits i utilitzats com a font d'energia.

Cal indicar que la diferent electrodensitat de les partícules observades en el complex de Golgi i les observades en l'espai intercel.lular pot correspondre a una diferent composició lipídica. A més ha estat indicat que l'existència de gran quantitat d'àcids grassos en la composició de les lipoproteïnes pot donar lloc, durant llur processament (fixació, inclusió) a la formació de cossos d'aspecte lamellar.

La presència de partícules lipoproteiques en les cèl.lules R (absorbents) de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi no es constant en tots els animals. Hem observat variacions en el contingut de partícules lipoproteiques tant, en l'interior del reticle endoplasmàtic com en el complex de Golgi i l'espai intercel.lular. Aquest fet pot ser degut a l'absència momentània

d'absorció o que ha passat força temps des de la darrera ingesta.

Respecte a la determinació de lipoproteïnes en l'hemolinfa dels decàpodes s'han realitzat pocs estudis, i segons Chapman (1980) s'han utilitzat mètodes inadequats per a la seva caracterització. Tres tipus de lipoproteïnes han estat detectades en l'hemolinfa de Paratelphaba hydrodomus i en Cancer magister (decàpodes) (Adiyodi, 1968). S'ha pogut determinar la presència de lipoproteïnes específiques en decàpodes femelles, relacionats amb l'oogènesis (Kerr, 1969 i Ceccaldi, 1969). En Gallinectes sapidus s'ha demostrat la presència de lipoproteïnes idèntiques a les lipoproteïnes de alta densitat de l'oòcit (Kerr, 1969).

Arcier i Tourmamille (1974) determinen en Palaemon adspersus la presència a l'hemolinfa de dues fraccions de lipoglicoproteïnes, pròpies de la vitel·logènesis; també presents en l'ovari. D'aquest treball destaca el fet de no trobar aquestes fraccions lipoproteïques en l'hepatopàncreas, per la qual cosa, encara que no descarten la possibilitat que aquest òrgan intervingui en la síntesi d'alguns precursors, sembla clar que no n'és el lloc de síntesi.

Les lipoproteïnes de l'hemolinfa semblen ser d'alta densitat (HDL) i tindrien un paper dual: transport de pigments (especialment carotinoides), lípids i proteïnes cap als oòcits, durant la vitel·logènesis, i el transport de lípids (presumiblement diacilglicerols i triacilglicerols) com a font energètica en els ambdós sexes.

LIPOPROTEINA	ORIGEN	TAMANY Å	FUNCIO PRINCIPAL
quilomicrons	intestí	800-5000	transport TG dieta
VLDL	fetge	280-800	transport TG endògens
LDL	plasma	200	transport ester colesterol
HDL	intestí fetge	50-150	substracte de LCAT

TAULA XVIII.- Origen tamany i funció principal de les lipoproteïnes del plasma. Estret de Glickman i Sabesin (1982).

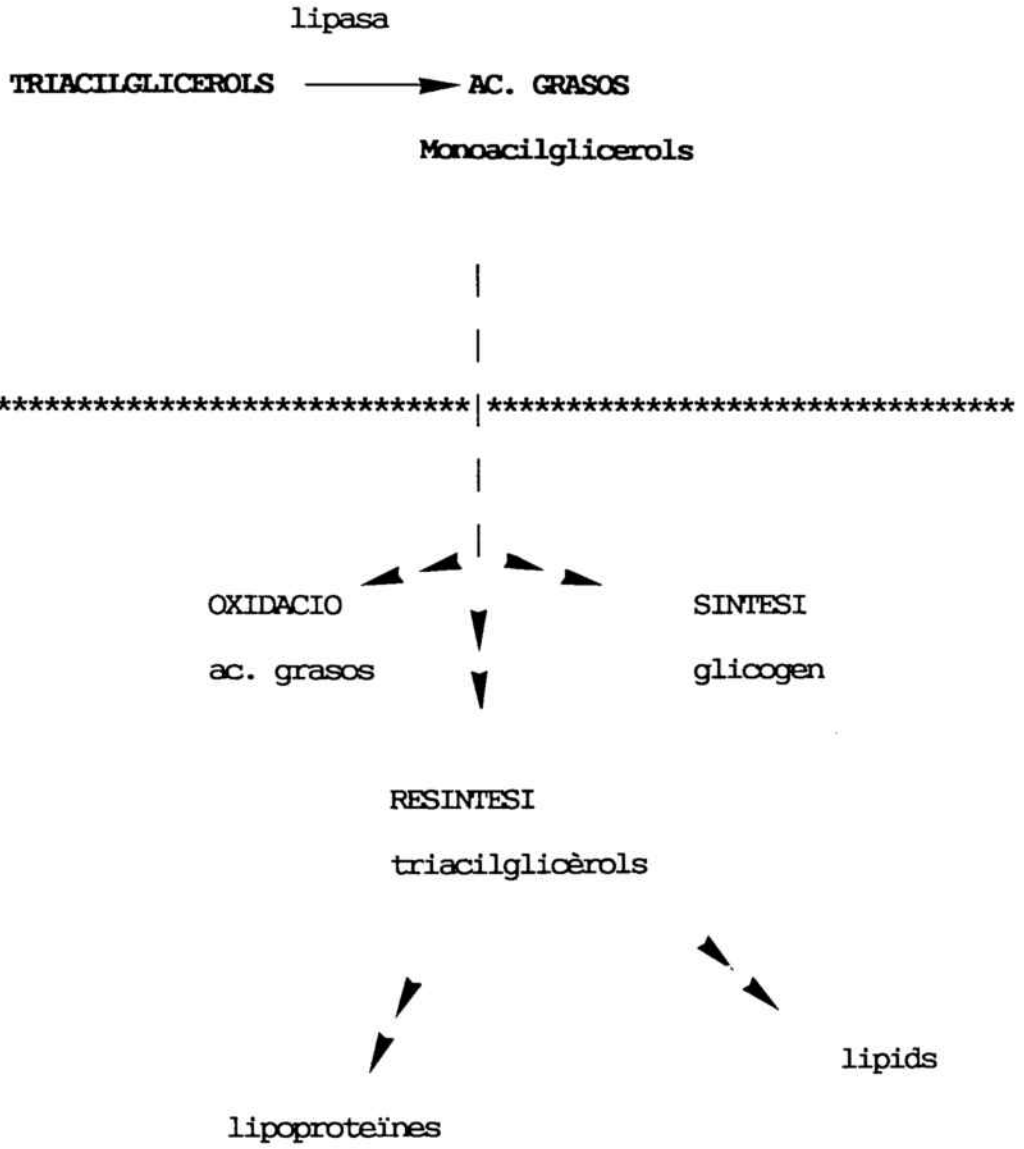


FIGURA VIII.- Esquema de l'absorció de lípids en enteròcits de vertebrats.

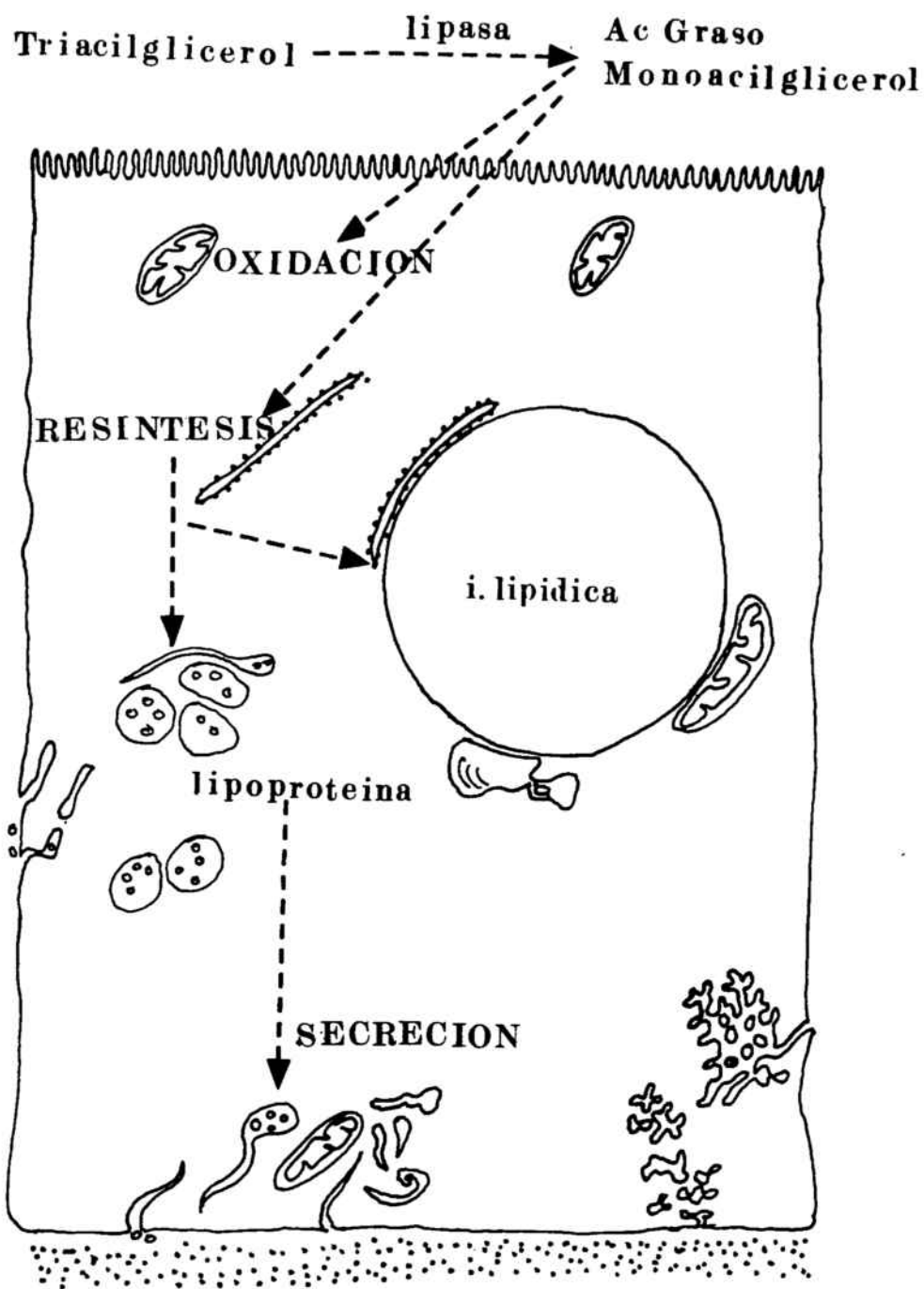


Figura IX.- Esquema del procés d'absorció lipídica en les cèl.lules R de l'hepatopàncreas.

6.2.2.2.6. INCLUSIONS PARAPLASMÀTIQUES.

La presència de grosses inclusions lipídiques és un fet comú en aquest tipus cel.lular. Igualment és un fet habitual, també, en els enteròcits i en els hepatòcits dels vertebrats. S'han postulat algunes teories respecte al lloc de la seva síntesi. **Cardell i col.** (1967) assenyalen un possible origen per coalescència de partícules lipídiques en el complex de Golgi. Altres autors creuen que els sistemes enzimàtics per la seva síntesi estan localitzats en l'hialoplasma, en el citosol o a la cara externa de la membrana del reticle endoplasmàtic. (**Bergot i Hedron**, 1970). Es tractaria d'una forma temporal d'emmagatzament lipídic dels àcids grassos absorbits.

La formació de les inclusions lipídiques vindria afavorida per la penetració, en la cèl.lula de gran quantitat de lípids. El procés de formació de lipoproteïnes és un procés saturable i limitat, provocant que els triacilglicèrols resintetitzats a partir dels àcids grassos i el monoacilglicèrols absorbits siguin canalitzats cap a d'altres vies alternatives, com pot ser la formació d'inclusions lipídiques amb una missió, en principi, de reserva. Per tant en aquestes cèl.lules hi hauria un mecanisme de regulació de contingut lipoproteic en l'hemolinfa.

El tamany de les inclusions lipídiques, hem vist que és variable de 1 μm a 15 μm . **Loizzi** (1971) assenyala un increment de les inclusions lipídiques a mesura que la cèl.lules R (absorbents) van envellir, i observa, també, una disminució progressiva

del contingut de glicogen en aquesta cèl.lula. En Palaemonetes zariquieyi hem detectat l'augment del tamany de les gotes lipídiques al llarg del túbul, coincidint amb un augment de tamany en les cèl.lules de situació més proximal essent aquestes més velles. Aquesta relació entre el contingut de glicogen i de lípids Loizzi (1971) l'atribueix a l'existència de lipogliconeogenesis. Creiem, però, que el contingut de glicogen i de lípids, poden mantenir un altre tipus d'interdependència, sense que n'indiqui una lipogliconeogènesis. La síntesi de glicogen seria a partir de monoacilglicèrols absorbits per la cèl.lula, o formats en la degradació de les inclusions lipídiques. La menor quantitat de glicogen detectat en les cèl.lules velles seria motivat per la absència de processos de degradació de les inclusions lipídiques i de processos d'absorció de lípids. Alguns autors han assenyalat la importància del glicogen per a la síntesi de quitina (component majoritari de la cutícula) relacionant aquest component amb el procés de muda.

Hem observat que les inclusions lipídiques de les cèl.lules R de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi estan relacionades amb grànuls de glicogen i amb diferents orgànuls cel.lulars: mitocondris, lisosomes, reticle endoplasmàtic (vegeu Figura X, pag. 200). Alguns autors han indicat que la proximitat de diferents orgànuls i les inclusions lipídiques suggereixen diverses situacions quant a la síntesi o degradació dels mateixos.

L'associació present entre les inclusions lipídiques i el

reticle endoplasmàtic en significaria una situació de síntesi, doncs es creu que es en aquest compartiment on es localitzen els enzims necessaris per a la síntesi de triacilglicèrols. L'existència de material electrodens en el seu interior i positiu a la tècnica de la metamina argèntica (Tècnica de Thièry) sembla recolzar aquesta hipotesi.

Els triacilglicèrols que formen les inclusions lipídiques serien utilitzats, prèvia hidròlisi, com a font energètica per a la cèl.lula o bé per sintetitzar lipoproteïnes per al seu transport a altres teixits. S'ha descrit activitat lipàsica d'origen lisosomal en fetge de rata (Guder i col., 1969) i en fetge humà (Nimus,, 1981). Per tant la presència de lisosomes en la proximitat de les inclusions lipídiques, i l'activitat fosfatasa àcida, localitzada en les inclusions lipídiques (Lam. XXII, Fig. 4) n'indicarien una situació d'hidròlisi.

Els àcids grassos, producte d'aquesta hidròlisi seran utilitzats com afont de energia. El procés d'oxidació i cetogènesi són vies intramitocondrials, i el monoacilglicèrol seria utilitzat per a sintetitzar glicogen, el que justificaria la presència de cúmuls de glicogen en les proximitats de les inclusions lipídiques.

La proximitat entre les inclusions lipídiques i els mitocondris ha estat suggerida que permet una ràpida metabolització dels àcids grassos per oxidació i cetogènesis, ambdós processos intramitocondrials (Scow i col., 1983).

Vilaró (1985), observa una relació entre les dades bioquími-

ques i dades ultraestructurals obtingudes en fetge de rata gestant i en dejuni. Detecta un augment dels cossos cetònics i localitza, a nivell estructural, una associació entre les inclusions lipídiques i els mitocondris. Tenint en compte que la cetogenesis és un procés intramitocondrial (Scow i col., 1983), es pot relacionar clarament la proximitat de mitocondris amb una major eficàcia en el conjunt del procés.

En els enteròcits i hepatòcits dels vertebrats també s'hi formen inclusions lipídiques amb una missió, primordialment, de reserva. Cal indicar, però, que en aquestes cèl.lules de vertebrats les inclusions lipídiques no arriben mai a ésser tant abundants ni tant voluminoses. En el cas que ens ocupa, les inclusions lipídiques arriben a ésser tant voluminoses que provocarien l'envelliment de la cèl.lula i comportarien la degeneració i exfoliació cel.lular.

La degeneració observada en les cèl.lules R comporta el trencament de la cèl.lula i el lliurament del contingut cel.lular, lípids inclosos, a la llum del túbul. Les inclusions lipídiques lliurades per aquest mecanisme, les hem pogudes observar, en les femtes de l'animal.

Els decàpodes posseeixen poca quantitat de teixit adipós i la presència d'exoesquelet o cutícula impossibilita un engreix de l'animal. És possible que les cèl.lules R (absorbents) actuessin com una forma de reserva lipídica, semblant al teixit adipós amb l'aventatge que quan el cúmul lipídic és elevat i motiva la degeneració cel.lular, l'expulsió és fàcil, a través de les

fentes. Aquesta exfoliació possibilita també l'eliminació dels cossos densos apicals i per tant el seu contingut és també eliminat. Afegirem doncs una funció en l'excreció en aquest tipus cel.lular.

Una altra substància de reserva present en l'hialoplasma de les cèl.lules R és el glicogen.

En estudis bioquímics realitzats en homogenitzats de tota la glàndula digestiva, s'han indicat variacions quant al contingut de glicogen i de lípids totals presents en l'hepatopàncreas. Aquestes variacions han estat interpretades de diferent forma. Passano (1960) les relaciona amb el cicle de muda, hi observa un augment de les reserves orgàniques en els estadis de postmuda-intermuda fins al estadi D₃ de premuda on se n'inicia una disminució fins al moment de l'eodisi.

Altres autors relacionen les variacions amb les èpoques de l'any amb més o menys aliment i més o menys activitat.

En l'estudi ultraestructural realitzat, s'observen variacions del contingut de glicogen i de lípids a nivell cel.lular, però donada la característica de l'estudi realitzat creiem agosarat indicar variacions globals a nivell de la glàndula.

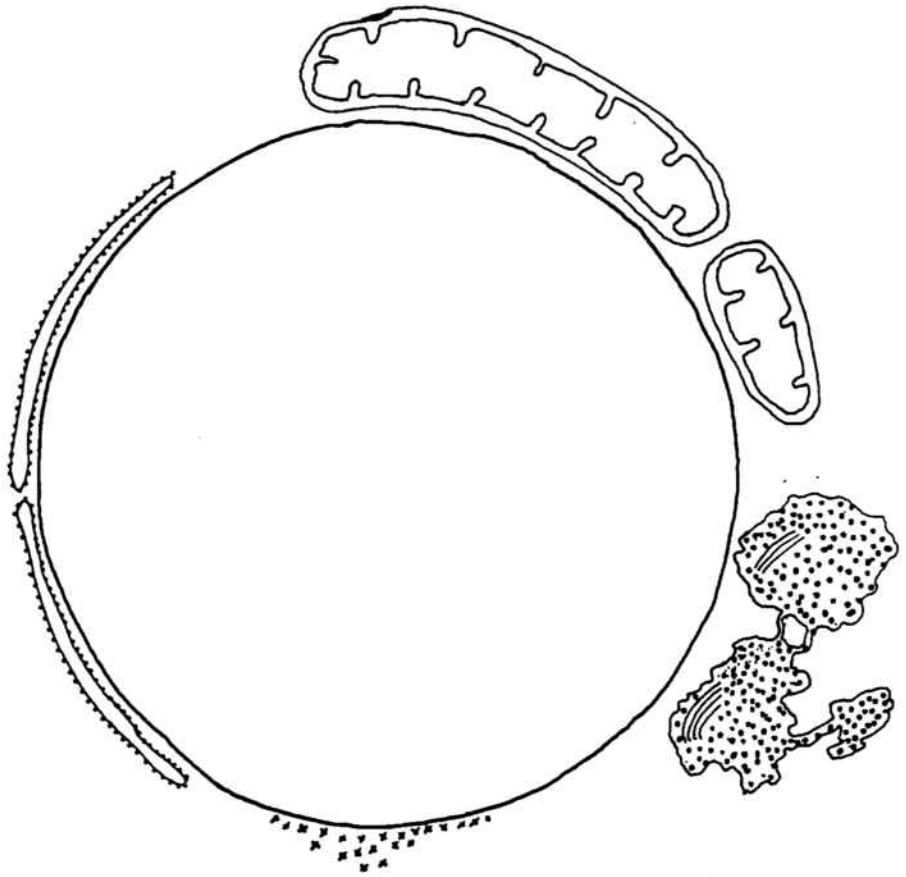


Figura X.- Esquema de gota lípidica i orgànuls relacionats en les cèl.lules R (absorbents) de l'hepatopàncreas.

6.2.2.2.7. REGIO BASAL

Les cèl.lules R (absorbents) presenten, en la regió basal de la cèl.lula, un sistema membranós amb diferents graus de desenvolupament, format a partir d'invaginacions de la membrana lateral i basal, mantenent comunicació directa amb l'espai intercel.lular, com queda demostrat utilitzant marcadors de l'espai intercel.lular com el nitrat de lantà o l'àcid tànnic. Es poden reconèixer per la distància regular entre les membranes que les formen 250 Å.

La presència d'invaginacions laminars semblants a les localitzades en les cèl.lules R (absorbents) de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi ha estat observada en diferents cèl.lules epitelials de diversos grups zoològics. En les cèl.lules intestinals dels mamífers no han estat mai localitzades. Estan però molt desenvolupades en el conjunt de cèl.lules intestinals de diverses espècies de teleostis tant d'aigua dolça com marins (Yamamoto, 1966, Ozaki, 1965; Iwai 1968; Bergot i Hedron, 1970; Noaillac-Depeyre i Gas, 1976; Stroband i Debets, 1978; Ezeasor i Stokoe, 1981; Sire i col., 1981; Rombout i col., 1984). Yamamoto (1966) les descriu en cèl.lules intestinals de teleostis i les anomena "lamellar structures". En alguns insectes també han estat observats (Fain-Maurel i col., 1981; Meredith i Phillips, 1973). La similitud morfològica existent entre aquestes estructures laminars dels enteròcits en els teleostis i les observades en altres cèl.lules epitelials com les



presentes en l'epiteli proximal del ronyó de mamífers (Bachman i col., 1986) i les papiles anals de larves de mosquit (Copeland, 1964) i en les cèl.lules clorur de les brànquies de peixos (Sardet i col., 1979) han dut, inicialment a relacionar la seva existència amb possibles fenòmens d'intercanvi de minerals i d'aigua.

Sire i col. (1981) en un estudi ultraestructural realitzat en cèl.lules intestinals de peixos, evidencien la intervenció de les estructures laminars en el pas de partícules de naturalesa lipoproteica a l'espai intercel.lular.

En les cèl.lules R, com ja hem indicat, s'observa la síntesi de partícules lipoproteiques intervenint com ha estat determinat en els mamífers, en la seva síntesi tant el reticle endoplasmàtic com el complex de Golgi (Novikoff, 1982). Es pot observar també el pas d'aquestes partícules a l'espai intercel.lular, intervenint les estructures laminars en el procés de secreció.

El sistema tubular o laminar no només intervindria en intercanvi o excreció de productes de la cèl.lula cap a a l'hemolinfa, sinó que es pot donar una direcció inversa. Aquest fet justificaria les observacions fetes el segle passat en les quals es veia la presència de determinats productes (magnesi per exemple) injectats a l'hemolinfa i la seva acumulació en les cèl.lules R. Així les cèl.lules R poden intervindre en fenòmens tant d'absorció de nutrients com desonticadors.

El sistema tubular recorda, també, el present en les cèl.lules parietals principals de la mucosa gàstrica. En aquestes

cèl.lules secretores de clorhídric es localitza un sistema tubulovesicular en contacte amb la membrana lateral i basal de la cèl.lula. Oguwa i col. (1987) localitzen activitat Ca^{++} ATPasa en la membrana interna del sistema túbulo-vesicular i asenyalen que una possible aspecte funcional del sistema tubular seria semblant al del retícle sarcoplasmàtic. Sachs i Bergrindhal (1981) recolzen la mateixa idea, indicant l'existència d'un pool de Ca^{++} en les cèl.lules parietals. Creiem que aquesta idea és molt suggerent en el cas de les cèl.lules R hepatopàncreàtiques, doncs implicaria un intercanvi i una reserva de calci en el sistema tubulovesicular basal. Molts han estat els autors que han relacionat l'hepatopàncreas amb l'economia del calci, particularment important pel fet de les periòdiques mudes que tenen lloc en l'animal.

En els estudis realitzats en hepatopàncreas d'altres decàpodes, com Callinectes sapidus, (Johnson, 1980) indica la presència d'un "sistema tubular" a la part basal de les cèl.lules R amb relació directa amb la membrana cel.lular basal i lateral (i eventualment de les cèl.lules B no del tot diferenciades). L'autor observa variacions del sistema tubular de les cèl.lules R que relaciona amb els diferents períodes del cicle de muda. Indica que el sistema tubular està ben desenvolupat i ple de material granular en els estadis de premuda (estadi D_1 i D_3), podent-se observar, en aquest, cas la continuïtat del sistema tubular amb les membranes basals i laterals de la cèl.lula. Durant l'estadi de posmuda observa una reducció i una vacuolitza-

ció progressiva del mateix observant-se un sistema tubular vacuolitzat i inactiu en els estadis d'intermuda. Conclou, doncs que aquest sistema tubular és actiu sols en els estadis de premuda quan s'ha de mobilitzar i transporta substàncies produïdes per l'hepatopàncreas necessaries per als processos previs a la muda. Per altra banda **Johnson** mateix assenyala que és habitual trobar que no tots els túbuls de l'hepatopàncreas estiguin en el mateix estat fisiològic. Remarca aquest fet especialment en l'estadi d'intermuda. Així les variacions degudes en principi al períodes del cicle de muda poden no ser sincrònics en tots els túbuls. Aixó suposa per l'autor una dificultat alhora de interpretar les variacions observades en el sistema tubular o laminar de les cèl.lules R (absorbents).

Hubert i Chassard-Bouchard (1977,1978) indica la presència de reticle endoplàsmatic llis en la regió basal de les cèl.lules R associat amb mitocòndries, observant que en els estadis de premuda, presenta un contingut dens als electrons i en estadis de posmuda estan buits. Associant aquest sistema membranós amb el pas de l'alfa-ecdisona a beta-ecdisona.

Loizzi (1971) descriu la presència de reticle endoplàsmatic llis a la part basal d'aquestes cèl.lules, a animals en fase d'intermuda, observant també una comunicació directa amb la membrana basal de la cèl.lula.

En *Palaemonetes zariquieyi* hem observat que el sistema tubular presenta diferent morfologia en cèl.lules veïnes, per tant no només s'observen variacions entre els túbuls com indica

Johnson (1980) sinó que dins del mateix túbul. Per exemple en el cas d'un exemplar que es trobava en l'estadi de muda D_1 s'observa la presència d'un sistema d'invaginacions laminars entre les quals s'observa també una vacuolització, i cèl.lules veïnes presenten un reticle endoplasmàtic llis en comunicació directa amb la membrana basal.

Creiem que el sistema tubular pot variar de morfologia segons l'estat funcional de la cèl.lula estudiada.

Conclusions

- Les cèl.lules R (absorbents), són majoritàries en els túbuls de l'hepatopàncreas.
- Són cèl.lules altament polaritzades i amb característiques absorbents. La morfologia dels microvillis d'aquest tipus cel.lular comporta un augment suplementari de la superfície d'absorció.
- Intervenien en l'absorció de lípids, amb un mecanisme semblant al dels enteròcits de vertebrats.
- Sintetitzen lipoproteïnes, intervenint en llur formació el reticle endoplasmàtic i el complex de Golgi.
- A la regió basal de la cèl.lula està molt desenvolupat un complex membranós format a partir d'invaginacions de la membrana basal i lateral.
- Les invaginacions laminars poden ésser un lloc d'intercanvi entre la cèl.lula i l'hemolinfa. Aquest complex tubulo-laminar

intervé en l'exocitosi de lipoproteïnes.

- Les lipoproteïnes sintetitzades en les cèl.lules R (absorbents) són expulsades de la cèl.lula per processos d'exocitosi a la regió basal de la cèl.lula.

- Existeix un gran desenvolupament de l'espai intercel.lular, quan hi ha procés d'exocitosi, constituint-se canals intercel.lulars de transport.

- Presenten grosses inclusions lipídiques i grans de glicogen, amb una missió preferencialment de reserva.

- L'associació de les gotes lipídiques amb diferents orgànuls (lisosomes, mitocondris, reticle endoplasmàtic), ens indica diferències quant a síntesi o degradació de les gotes lipídiques.

- L'aparell lisosomal està altament desenvolupat en aquestes cèl.lules i intervindrien en diversitat de processos com són: renovació d'orgànuls cel.lulars, fenòmens de crinofagia en el procés de formació del glicocàlix, acumulació de ions minerals amb una funció de reserva o de detoxicació.

- La destrucció i exfoliació observada en aquestes cèl.lules permet d'eliminar tant els cossos residuals com quantitats innecessàries de lípids. Podríem considerar, en aquestes cèl.lules, l'existència d'un mecanisme de regulació lipídica.

6.2.2.3. CEL·LULES FIBRIL·LARS (CEL·LULES F).

6.2.2.3.1. REGIO APICAL

La morfologia de les cèl·lules F (fibril·lars), amb forma de piràmide truncada, comporta en principi un menor contacte amb la llum si ho comparem amb les cèl·lules R (absorbents). El fet de tenir menor amplada a la regió apical, junt amb al fet de presentar els microvillis sensiblement més curts i no estar distribuïts uniformement en la superfície cel·lular, implica una menor superfície d'absorció d'aquest model cel·lular comparant-lo amb el de les cèl·lules R (absorbents). En altres espècies de decàpodes també ha estat observada una menor longitud dels microvillis en aquest model cel·lular (Lyon i Simkiss, 1980; Loizzi, 1971). En la regió mitjana dels túbuls de l'hepatopàncreas s'observa un inici d'activitat pinocítica d'aquestes cèl·lules, que, com veurem posteriorment, motivarà la seva diferenciació cap a cèl·lules B (vacuolades).

6.2.2.3.2. CONDRIOMA

El condrioma de les cèl·lules F (fibril·lars) està molt desenvolupat, presentant variacions notables en la seva morfologia: cèl·lules amb mitocondris petits i matriu fosca i cèl·lules amb mitocondris voluminosos de matriu clara i amb forma de copa el que possibilita l'observació de mitocondris anulars. En la

bibliografia consultada hem trobat escasses referències ha mitocondris anulars. Krech i col. (1981) observen un augment del nombre de mitocondris amb una disposició concèntrica i amb formes anulars en oncòcits renals de rata induïts amb n-nitrosomorfolina. Els mitocondris descrits en aquest treball tenen les crestes amb una disposició paral·lela a l'eix major mitocondrial. Els autors desconeixen el sentit fisiològic d'aquests mitocondris.

Com és sabut, el nombre i morfologia mitocondrial indica variacions metabòliques de la cèl.lula. Aquest fet en l'hepatopàncreas pot estar relacionat amb les variacions motivades per diferents estats fisiològics com són el període de muda, la dieta, l'edat., etc. Es doncs possible que en períodes de dejuni hi hagi una reducció del condrioma, observant-se un menor volum mitocondrial junt a un enfosquiment de la matriu.

Per altra banda la diferència de tamany mitocondrial amb les seves figures concèntriques indueixen a pensar en un fenomen de fusió mitocondrial semblant al descrit en cèl.lules germinals. El significat del mateix però també es desconegut.

6.2.2.2.3. COS RESIDUAL.

La presència de depòsits de ferro, en el cos residual electrodens de les cèl.lules F (fibril·lars), ha estat indicat en alguns decàpodes (Ogura, 1954; Bunt, 1968; Miyawaki i Sasaki, 1967 o Miyawaki i Tanoë, 1962; Lyon i Simkiss, 1984. Ogura (1954) basant-se en aquest fet anomena i classifica aquest tipus cel.lu-

lar com a cèl.lules de ferro. La presència de ferro no ha estat localitzada en alguns cassos Cancer pagurus i Nephrops norvegicus (Barker, 1976). En alguna ocasió la detecció ha estat difícil. Lyon i Simkiss (1984) detecten ferro histoquímicament, amb ferrocianida, però a l'utilitzar la microanàlisi amb RX no en confirmen la seva presència.

El sentit d'aquest cúmul de ferro ha estat àmpliament discutit. Alguns organismes són capaços de regular la quantitat de ferro que contenen, per exemple la majoria de vertebrats regulen el seu nivell de ferro controlant la seva absorció (Jacobs, 1980). D'altres no presenten cap capacitat reguladora. Macery i col. (1982) sugereixen que, en les larves de lampreas, l'eliminació del ferro acumulat té lloc en les cèl.lules intestinals. El ferro absorbit s'acumula constituint cossos densos i el procés de descamació de les cèl.lules intestinals, degut a la renovació habitual de les cèl.lules de la mucosa, permet l'eliminació de l'excés de ferro constituint un mecanisme regulador (Hausen i Youson, 1978), semblantment al que podria donar-se en les cèl.lules F (fibril.lars) de l'hepatopàncreas.

Per altre banda s'ha postulat que l'acumulació de ferro tindria una missió de reserva. El ferro acumulat seria utilitzat per sintetitzar hemocianina, o seria necessari en la síntesi d'enzims digestius. Aquesta última hipòtesi la basen Loizzi i Peterson (1971) en el fet de detectar en els cúmuls de ferro, activitat lipolítica. Altres autors Miyawaky i Saaki detecten, en el vacuol de ferro, un component orgànic possiblement de tipus

mucopolisacàrids (Martin, 1973, Youson i col., 1983).

La detecció realitzada en el nostre estudi no ha permès localitzar ferro en el cos residual electrodens de les cèl.lules F (fibril.lars). Es possible que la seva absència estigui motivada a la sobulitssació d'aquest metall amb els fixadors emprats.

6.2.2.3.4. SINTESI I SECRECIO ENZIMATICA.

Les característiques observades en les cèl.lules F (fibril.lars) indiquen una especialització en la síntesi proteica: El gran desenvolupament del reticle endoplasmàtic rugós, el complex de Golgi, el nucli voluminós i amb dos o més prominents nucleols.

El complex de Golgi de les cèl.lules F (fibril.lars) de Palaemonetes zariquieyi està particularment desenvolupat, observant-se una gran dilatació dels sàculs de la cara de formació. Aquesta morfologia Golgiana ha estat indicada en altres espècies de decàpodes (Loizzi, 1971) però en les imatges presentades per l'autor s'observa un grau de dilatació golgiana menor que el observat en Palaemonetes zariquieyi (Sagristà, 1984). Fawcett (1981) assenyalen en cèl.lules secretores d'alguns insectes, una configuració del complex de Golgi com una massa de vesícules sense els típics sàculs apilats. Durfort (1982) en oòcits de musclis infectats per copèpodes troba una configuració del complex de Golgi molt similar a la que presenten les nostres cèl.lules F (fibril.lars). Aquesta dilatació de les sistemes

Golgianes en aquell cas provoca una hiperproducció de glucoproteïnes que s'incorporaran a la membrana vitel·lina dels oòcits.

El gran desenvolupament del complex de Golgi indica una especialització de la cèl·lula cap a la secreció, l'empaquetament de proteïnes tindria lloc en el complex de Golgi. La hiperdilatació de les cisternes de la cara de formació pot indicar una elevada taxa de síntesi proteica, essent el procés de transformació i empaquetament d'aquestes proteïnes, en el complex de Golgi, un procés més lent. Per altre banda aquest fenomen pot explicar la dilatació paulatina de les vesícules del reticle endoplasmàtic rugós.

Per altre banda cal recordar la presència de làmines anellades o periòdiques en el citoplasma de les cèl·lules F (fibril·lars). Les làmines anellades estan constituïdes per citomembranes que es disposen formant sàculs aplanats i lleugerament dilatats. Els sàculs presenten periòdicament porus o zones en les quals les membranes es colapsen, adoptant un aspecte que morfològicament recorda el dels porus nuclears. Descrites per primer cop per **Swift**, 1956 la majoria de làmines anellades han estat observades en cèl·lules germinals de diversos grups zoològics (**Kessel** 1968, 1983; **Durfort**, 1974, **Ribes**, 1987). Han estat, però, també detectades en el citoplasma d'algunes cèl·lules somàtiques: en cèl·lules de l'epiteli bronquial (**Ancla de Brux**, 1965), en cèl·lules secretora de la glàndula protoràcica del cuc de seda (**Beaulaton**, 1968), en la glàndula pineal (**Bucana i col.**, 1971), en hepatócits (**Benzo**, 1972) i en alguns tipus de

cèl.lules canceroses (Roberts i col., 1970; Ainsworth i col.,- 1976). Tots els tipus cel.lulars on s'han observat làmines anellades intracitoplasmàtiques presenten en comú una elevada taxa de síntesi proteica.

L'origen i funció de les làmines anellades està en discussió. Alguns autors opinen que es formen a partir de l'envolcall nuclear (Kessel, 1964 ; Hsu, 1976; Durfort, 1973) d'altres consideren que s'originen a partir del reticle endoplasmàtic rugós (Dahinaut, 1973; Cardoso, 1974; Durfort, 1974).

Sobre la funció de les làmines anellades s'han formulat diverses hipòtesi, entre les qualse destaquem la d'estar implicades en la síntesi de determinades proteïnes. La majoria d'autors en les cèl.lules germinals les han relacionat amb la síntesi del vitel proteic, en la fase de previtelogènesi en cèl.lules germinals. Benzo (1972), observa en cèl.lules hepàtiques d'embrió de pollastre làmines anellades implicades en l'elaboració de l'enzim microsomal UDP-Glucuroniltransferasa.

Les làmines anellades en les cèl.lules F (fibril.lars) les hem localitzades sempre en cèl.lules joves que presenten cisternes curtes i poliribosomes. La presència d'aquestes làmines anellades, en el cas que ens ocupa, creiem que indica, també una taxa de síntesi proteica ràpida i elevada.

Malgrat les característiques ultraestructurals detectades en les cèl.lules que indiquen una especialització en la síntesi i secreció proteica, no presenten gran quantitat de grànuls de secreció en la regió apical. Cal recordar que en altres estudis

d'hepatopàncreas de decàpodes mai no ha estat indicada la presència de grànuls de secreció en la regió apical. (Loizzi, 1971, Bunt, 1968).

En el cas de Palaemonetes zariquieyi hem localitzat cèl.lules amb grànuls de secreció en la regió apical, observant-s'hi una secreció merocrina. Les cèl.lules F (fibril.lars) que tenen grànuls de secreció estan situades majoritàriament en la regió pròxima a la distal dels túbuls i presenten característiques de cèl.lules F joves. En les cèl.lules F (fibril.lars) més diferenciades que tenen una dilatació de les sistemes del reticle endoplasmàtic rugós i un cos electrodens de situació supranuclear, es detecta un inici d'activitat pinocítica no observant-se grànuls de secreció. Aquest fet ens indica que en les cèl.lules F (fibril.lars) joves el procés de secreció de tipus merocri és continu no acumulant-se els grànuls de secreció a la regió apical de la cèl.lula, posteriorment al envellir la cèl.lula, continua la síntesi proteica però el procés de síntesi o empaquetament en grànuls de secreció s'atura. Creiem que en aquesta etapa les cèl.lules estan especialitzades en el procés de síntesi d'enzims i el procés de secreció es dona posteriorment, adoptant les cèl.lules una morfologia diferent, de manera que poden ésser classificades i tipificades com a un altre tipus cel.lular (cèl.lules B).

El procés de diferenciació cel.lular en l'epiteli hepatopancreàtic ja hem indicat que ha estat motiu de discussions. La majoria d'autors però indiquen l'existència d' una transformació

de les cèl.lules F (fibrilars) cap a cèl.lules B (vacuolades). Les cèl.lules B (vacuoles) serien les encarregades del procés de secreció d'enzims digestius produïts en les cèl.lules F (fibril.lars) de l'hepatopàncreas. Han estat pocs els estudis realitzats per demostrar aquest procés; la majoria es basen en característiques ultraestructurals amb deducció, a partir d'això del procés de diferenciació. Davis i Burnett (1964) utilitzen timidina tritiada i observen efectivament que totes les cèl.lules epitelials es diferencien a partir de les cèl.lules E situades a la part distal del túbul. Aquestes autors també recolzen la idea d'una diferenciació de les cèl.lules F cap a cèl.lules B.

Les cèl.lules F (fibril.lars) i B (vacuoles) realment presenten característiques morfològiques que semblen recolzar aquesta idea. Les cèl.lules B (vacuolades) tenen característiques de cèl.lules en fase degenerativa: el nucli mai és voluminós, sempre és picnòtic i relegat a la part basal. El reticle endoplasmàtic és poc abundant tant sols localitzat al voltant del nucli. Aquestes característiques semblen recolzar que la fase de síntesi proteica és anterior. Així les cèl.lules F (fibril.lars) es transformarien en cèl.lules B (vacuoles). En un inici s'observa una progressiva disminució de l'alçada dels microvillis, un inici d'activitat pinocítica i una progressiva dilatació del reticle endoplasmàtic. Loizzi (1971) indica que la transformació i diferenciació de les cèl.lules F (fibril.lars) cap a B (vacuolades) es dona per creixement d'un vacuol supranuclear. En Palaemonetes zariquieyi no hem visualitzat aquest

vacuol supranuclear i creiem que la diferenciació és realitza a partir de l'activitat pinocítica per la que s'acumularia en aquestes cèl.lules manten el intraluminal, al mateix temps que per una dilatació de les vesícules del reticle endoplasmàtic rugós i de les vesícules Golgianes i per una elevada activitat pinocítica.

El nombre de cèl.lules F (fibril.lars) és en els túbuls de l'hepatopàncreas poc nombrós (LAM. VI, Fig 1, 2, 3), alguns autors han indicat que aquest fet implicaria que no poden ser les que originen les cèl.lules B (vacuolades). Creiem, però, que pot ser que el procés de diferenciació sigui ràpid. El mecanisme de síntesi proteica i la diferenciació cap a cèl.lules B (vacuolades) segueix un procés curt en el temps, mentre que la vida mitjana de les cèl.lules B és més llarga. Aquest fet pot explicar la gran diferencia del nombre entre els observant-se normalment, una major proporció de cèl.lules B (vacuolades) que de cèl.lules F (fibril.lars). Cal indicar que la diferenciació de cèl.lules F (fibril.lars) cap a cèl.lules B (vacuolades) implica tant un procés de dilatació de les vesícules del reticle endoplasmàtic com un procés de captació per pinocitosi, cosa per la qual en la regió apical s'observaria la progressiva formació del complex apical localitzat en les cèl.lules B (vacuolades).

Conclusions:

- Les cèl.lules F (fibril.lars) de Palaemonetes zariquieyi estan localitzades en la regió més pròxima a la regió distal.
- Presenten característiques morfològiques de cèl.lules amb una elevada taxa de síntesi proteica.
- En cèl.lules F (fibril.lars) joves presenta làmines anellades estructura que interve en procés de síntesi proteica.
- Encara que presenten característiques semblants a les cèl.lula F (fibril.lars) descrites en hepatopàncreas, d'altres decàpodes presenten els sàculs dels dictiosomes més desenvolupats i amb una major dilatació.
- Les cèl.lules F (fibrilars) joves de Palaemonetes zariquieyi presenten en la regió apical algun grànul de secreció.
- Les cèl.lules F (fibril.lars) més diferenciades no presenten secreció merocrina, observant-se una diferenciació paulatina cap a les cel.lules B (vacuolades).

6.2.2.4. CEL·LULES B

La menor alçada dels microvillis és una característica diferencial d'aquest tipus cel·lular. La diferència en l'alçada de microvillis, atenent al tipus cel·lular en el tub digestiu, ha estat posada de manifest en diferents grups zoològics. S'ha observat una menor longitud microviliària en cèl·lules caracteritzades per presentar activitat pinocítica (Durfort, 1973 ; Poquet, 1982 ; Noaillac-Depayre i Gas, 1976). Aquesta relació de menor alçada de microvillis i elevada activitat pinocítica també es dona en l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi en les cèl·lules B (vacuolades).

El recobriment glicoproteic en les cèl·lules B està ben desenvolupat en les etapes en les quals podem considerar la cèl·lula jove. S'observa, al mateix temps, un recobriment glucoproteic en les vesícules apicals, cosa que assenyala, clarament un origen pinocític. El recobriment fibril·lar glicoproteic dels microvillis es perd en les cèl·lules B més diferenciades, observant-se també, en aquesta etapa l'absència de recobriment en les vesícules de pinocitosi. Creiem que el motiu de la pèrdua del recobriment glicoproteic està, possiblement, motivada per l'elevada activitat pinocítica de les cèl·lules, essent menor el procés de síntesi o renovació de les glicoproteïnes.

La morfologia característica d'aquestes cèl·lules recorda altres cèl·lules diferents adaptades al transport i/o a la digestió de proteïnes: l'epiteli del túbul renal (Christensen,

1986), sac viteli (Padykula i col., 1966) i a l'intestí de nadons de mamífers: de rata (Shervey, 1966; Cornell i Padykula, 1969) (Hatae i col., 1988), del porc (Sibalin i Björkman, 1966; Vodovar i Flechon, 1966; Moon i col., 1973), de la vedella (Staley i col., 1972) i del ratolí (Hugon, 1971, Abrahamson i Rodewald 1981, Bainfter, 1986, Walker, 1981). Així mateix tenen una morfologia semblant a cèl.lules intestinals d'alguns peixos (Gauthier i Landis, 1972; Noaillac-Depayre i Gas, 1973; Sire i Yamamoto, 1986) i a cèl.lules intestinals de copepodes (Durfort, 1971; Poquet, 1977; Arnaud i col., 1983). En aquest darrer grup s'ha localitzat activitat fosfatàsica en els vacuols de les cèl.lules B (Arnaud i col., 1978).

L'absorció de proteïnes per pinocitosi en els enteròcits observada en diverses espècies, sembla estar relacionada amb una incompleta digestió intraluminal i hi comporta, per tant, una digestió intracèl.lular. En la majoria dels mamífers les cèl.lules intestinals dels nou nats presenten una morfologia semblant que desapareix entre el 15 i 20 dia del naixement; quan comença la secreció peptídica. (Abrahamsam i Rodewald, 1981; Hatai i col., 1988) l'absorció per pinòcitosi^{en} nadons està relacionada tant amb una deficient secreció enzimàtica com a una captació directa d'anticossos la llet materna. Els anticossos entrarien per pinocitosis i passarien a un sistema tubular en comunicació directa amb l'espai intercel.lular, per la qual cosa no es posen en contacte amb estructures lisosòmiques (Rodewald, 1980; Abrahamson i Rodewald, 1981).

Els enteròcits del segment mitjà d'alguns peixos sense estómac presenten una morfologia semblant a les cèl.lules B. s'ha demostrat que els enteròcits són capaços d'absorbir i transportar macromolècules de naturalesa protèica. En aquest cas els enzims proteolítics presents en la llum de l'intestí, que provenen del pancreas no hidrolitzen completament el material proteic intraluminal: hi ha una captació per pinocitosi amb digestió intracèl.lular. La majoria del material ingestat és acabat de digerir en el sistema vacuolar. Els enzims necessaris per a aquesta hidròlisi intracel.lular provindrien del complex de Golgi. La fracció no digerida, per tant no hidrolitzada, és emagatzemada en el vacuol situat supranuclearment fins que és expulsada de la cèl.lula. No obstant, ha estat demostrat, en determinats casos, que hi ha material que passa a l'espai interocèl.lular sense modificacions, precisament estan en discussió si intervenen invaginacions laminars de la membrana en la regió apical. (Noaillac-Depeyre i Gas , 1976).

El sistema tubular apical està present en cèl.lules absorbents de diferents epitelis (Hatae i col., 1984). Recentment Hatae i col. (1988) assenyalen que el sistema tubular apical no està en contacte amb la membrana apical sino que es tracta d'un compartiment intracel.lular i que interve en el procés de renovació de membrana.

Veiem, doncs, una assemblant-se amb les cèl.lules B joves, on també hi hem observat invaginacions laminars constituïdes a partir de la membrana lateral, però no hem pogut observar-hi

fusió de vesícules de pinocitosi. Una possible funció d'aquestes estructures laminars seria una reserva de membrana citoplasmàtica. Aquesta reserva seria útil en el cas de les cèl.lules B, degut a l'augment considerable de volum que presenten ràpidament causada per l'elevada activitat pinocítica.

La morfologia d'aquestes cèl.lules estaria associada a una digestió intraluminal insuficient, per la qual cosa la degradació de nutrients proteics es dóna a nivell intracel.lular, i posteriorment, el material no digerit, juntament amb els enzims hidrolítics són lliurats a la llum del túbul.

Les cèl.lules B de l'epiteli de l'hepatopàncreas són cèl.lules molt voluminoses, altament vacuolades, i que habitualment no presenten contacte amb la làmina basal. Són cèl.lules que en la majoria d'estudis s'han relacionat amb funcions de secreció enzimàtica. Loizzi (1971), però, al realitzar un dels primers estudis detallats a nivell ultrastructural, va remarca la presència en aquest tipus cèl.lular d'una elevada activitat pinocítica.

Les cèl.lules B de l'hepatopàncreas dels decàpodes estarien, doncs relacionades amb funcions secretores i absorbents.

Hopking i Nott (1980) indiquen la presència de la part apical de les cèl.lules B en el lumen dels túbuls de l'hepatopàncreas i en les fentes de l'animal.

En el nostre estudi hem localitzat a l'interior de la llum del túbul, regions apicals de les cèl.lules B, però aquest fet no es freqüent per la qual cosa es possible que la integritat de la regió apical de les cèl.lules, després de la secreció de tipus

apocri observada només es dongui en determinades condicions fisiològiques.

La funció secretora d'aquestes cèl.lules ha estat discutida per Bunt (1968), doncs com hem pogut observar les característiques morfològiques d'aquestes cèl.lules no són les pròpies de cèl.lules amb una coneguda i elevada taxa de síntesi i secreció enzimàtica. Per a aquests autor l'esmentat fet suggereix que es tracta de cèl.lules R en degeneració, indicant que aquest fet no està relacionat amb la secreció d'enzims digestius. Les característiques que hem observat en el nostre treball, amb la microscopia electrònica, són, però molt diferents, a les que presenten les cèl.lules R (regió apical, lípids, glicogen, lisosomes). Per altra banda, hem vist com les cèl.lules R degeneren capa un trencament de la regió apical de la cèl.lula.

La secreció o extrussió observada en les cèl.lules B, en altres estudis, es variable: s'han descrit secreció de tipus apocri, merocri, i holocri. Loizzi (1971) indica que en condicions normals aquestes cèl.lules presenten una secreció apocrina. Atribueix una secreció holocrina en moments d'intensa estimulació, per exemple, després d'un període d'ingesta i seguit d'un període d'estarvació. Barker i Gibson (1977) corroboren la tesi de Loizzi a l'observar que en animals mantinguts en dejú al subministra-los, de nou, aliment es veu una secreció holocrina en les cèl.lules B. En els nostres exemplars hem observat una secreció de tipus apocri. Així creiem que es tracta de cèl.lules que tenen una absorció clara per pinocitosi, una digestió intra-

cel·lular del material absorbit i per últim presenten una expulsió per secreció apocrina. Aquest fet significa, possiblement, el lliurament a la llum del túbul d'enzims de naturalesa hidrolítica que podrien actuar també a nivell luminal.

Els estudis realitzats al segle passat van demostrar la semblança entre els enzims presents en l'hepatopàncreas i els presents en l'interior de l'estómac. Així els enzims digestius secretats per les cèl·lules B es localitzen tant a la llum del túbul com en l'estómac.

Ha estat molt discutit el possible origen d'aquestes cèl·lules a partir de cèl·lules F (Loizzi, 1971) o bé a partir de cèl·lules R (Bunt, 1968). La dificultat d'observació, donada la poca freqüència de cèl·lules B primàries, creiem que ho ha determinat. En el nostre estudi hem pogut observar cèl·lules B poc diferenciades. Les característiques morfològiques indueixen a creure que la seva diferenciació potser a partir de les cèl·lules F. Les cèl·lules B són cèl·lules que contenen i secreten gran quantitat d'enzims hidrolítics, i per altra banda no contenen característiques cel·lulars que indiquin una elevada síntesi proteica (reticle endoplasmàtic desenvolupat, però reduït a la regió perinuclear, nucli picnòtic, núcleol poc evident); pel qual és evident que la síntesi d'enzims ha estat prèvia a la fase morfològica de cèl·lules B (vacuolades). Les cèl·lules F (fibril·lars) són les que presenten característiques cel·lulars que indiquen clarament una elevada síntesi proteica, mentre que a les cèl·lules R, encara que tenen també desenvolupat el mecanisme de

síntesi proteica, les grosses gotes lipídiques ocupen gran part del volum cèl.lular i en les cèl.lules B no s'hi troben inclusions lipídiques. Per altra banda algunes característiques morfològiques de les cèl.lules F (fibril.lars) es mantenen en les cèl.lules B joves: el menor tamany dels microvillis, i la seva distribució no uniforme, la major densitat de la membrana externa microviliària P.T.A. (àcid fosfotúngstic) positiva. En aquest sentit és interessant de recordar que en les fases joves de les cèl.lules B, les vesícules apicals presenten un recobriment fibril.lar electrodens i P.T.A. (àcid fosfotúngstic) positiu cosa per la qual és clar que es tracta d'un fenomen de pinòcitosi.

Loizzi (1971) assenyala una diferènciació de les cèl.lules B a partir de les cèl.lules F, per un creixement del vacuol supranuclear de les cèl.lules F. En Palaemonetes zariquieyi no hem observat en les cèl.lules F cap vacuol de situació supranuclear, tant sols el cos dens de naturalesa lisòsòmica. Creiem que la diferènciació és deguda a una elevada activitat pinocítica i possiblement a una dilatació de les vesícules del reticle endoplasmàtic. Motivada per la paulatina degradació-canvi reorganització del reticle endoplasmàtic s'observa una formació a partir de la membrana externa de l'envolcall nuclear per propia invaginació de la mateixa, observant-se també ribosomes en l'envolcall nuclear. Aquest fet només l'hem observat en les cèl.lules B joves.

L'origen de les cèl.lules B seria, doncs a partir de les cèl.lules F, on es dona una secreció de tipus merocri per passar

posteriorment, quan la cèl.lula presenta característiques morfològiques, de cèl.lules B a una secreció apocrina. Tanmateix; és possible que en determinades situacions, després de dejuni, en moments d'ingestió d'aliment, els diferents tipus cel.lulars puguin diferenciar-se cap a altres línies. Es a dir que després d'ingestió d'aliment, tant les cèl.lules F (fibril.lars) com les cèl.lules R (absorbents) puguin diferenciar-se cap a cèl.lules B; doncs en talls semifins hem observat, ocasionalment la presència de gotes lipídiques en les cèl.lules B (vacuolades).

S'han detectat variacions cícliques del contingut d'enzims digestius en els decàpodes, atribuïdes a diferents factors: segons estadis de muda, edat de l'animal, estacions, ritme de nutrició, qualitat de dieta, ritmes circadians, èpoques de l'any.,etc. Es, doncs lògic que s'observi una variació en el nombre de cèl.lules B (vacuolades).

La determinació del contingut enzimàtic de les cèl.lules B per mètodes citoquímics en hepatopàncreas ha estat escassa. Loizzi i Peterson (1971), posen de manifest citoquímicament activitat lipasa en la regió apical i en l'interior de les vacuoles de les cèl.lules B (vacuolades).

Merril i col. (1985) determinen la presència de peroxidasa en les vacuoles de les cèl.lules B. Trobant una elevada variació individual del contingut total de peroxidasa. En l'hepatopàncreas creuen que factors com estat de salut, dieta de precaptura, freqüència de nutrició, edat de l'animal, en motivarien la variació.

Els esmentats autors localitzen activitat fosfatàsica en vacuoles de les cèl.lules F (fibril.lars) fet que apoya la hipotesí de una diferènciació de les cèl.lules B (vacuolades) a partir de les cèl.lules F (fibril.lars).

Conclusions:

- Les cèl.lules B presenten en una primera fase, una elevada absorció per pinocitosis per la qual cosa va adoptant una morfologia globulosa i vacuolada. Posteriorment té una fase de secreció apocrina, en la qual es lliura, junt amb el material digerit enzims hidrolítics que es localitzen tant en la llum de l'hepatopàncreas com en altres parts del tub digestiu (estómac).

- La morfologia anàloga present entre aquestes cèl.lules B i altres tipus cèl.lulars que s'ha demostrat que intervenen en l'absorció de proteïnes via pinocítica, indicaria una analogia funcional.

- La vacuola supranuclear es forma per coalescència de vesícules de pinocitosi.

- La secreció holocrina present en aquestes cèl.lules comporta un lliurament a la llum del túbul del material no digerit i d'enzims amb propietats hidrolítiques.

6.2.2.5. CEL·LULES ENDOCRINES.

Entre les cèl·lules epitelials prismàtiques de l'hepatopàncreas hem detectat un cinquè tipus cèl·lular caracteritzat per la seva forma triangular, la seva situació basal i la presència de petits grànuls en el seu citoplasma pàlid o poc electrodens. Basant-nos en criteris exclusivament morfològics, podem considerar aquest tipus cel·lular com a cèl·lules endocrines presents en el sistema gastrointestinal de diferents grups zoològics, formant part del sistema endocrí difós o sistema A.P.U.D..

Les cèl·lules endocrines del tub digestiu es coneixen des de 1870 quan **Heidenhaim** (1870) va descriure un tipus cel·lular amb situació basal en la mucosa gàstrica del gos. Com a característica morfològica d'aquesta cèl·lula en destaquem el citoplasma clar i amb grànuls. Aquest tipus cel·lular ha estat denominat de diverses maneres, d'acord amb les seves característiques morfològiques i amb les seves propietats tintorials (cèl·lules de **Kultschitzky**, cèl·lules enterocromafins, cèl·lules argentafins, cèl·lules argiròfiles).

En la mucosa gastrointestinal dels mamífers s'ha identificat dotze tipus diferents de cèl·lules de caràcter endocrí, diferenciant-se essencialment per la seva forma, i per la mida i textura dels grans de secreció (**Pearse i col.**, 1970; **Ferreira**, 1974; **Zavicic i col.**, 1976). Totes elles formen part del sistema endocrí difús. Si bé s'ha demostrat que participen en diferents funcions (regulació del peristaltisme intestinal, del nivell

sanguini de certs metabòlits), presenten també, característiques immunocitoquímiques comuns, com són la producció d' hormones de naturalesa polipèptidica (Solcia i col., 1975; Fujita i Kobayashi, 1977). Aquest fet caracteritza tots els tipus cel·lulars que integren el sistema endocrí difús, denominat A.P.U.D. (Amin Precursor Uptake Decarboxilation) per Pearse (1968).

En altres grups zoològics, també han estat localitzades cèl·lules endocrines en l'epiteli intestinal de teleostis i de ciclostoms (Vaan Norden i col., 1972; Gabe, 1973; Dockaray, 1974; - Rombout, 1977). L'epiteli gastrointestinal dels procoordats té una població de cèl·lules endocrines, de característiques semblants a les presents en les cèl·lules productores d'hormones polipeptídiques dels vertebrats (Burighel i Malanesi, 1975; Thorndyke, 1978).

En els invertebrats, les referències de les cèl·lules endocrines són escasses degut a la falta de dades de caràcter fisiològic i citoquímic. Cassier i Fain-Maurel (1977) descriuen deu tipus diferents de cèl·lules endocrines en el tracte digestiu dels insectes, basant-se en la mida, forma i textura dels grànuls secretats. En les moluscs s'han localitzat cèl·lules endocrines, en la glàndula digestiva del cargol (Y.Alba, 1984).

En el grup dels crustacis han estat descrites cèl·lules de naturalesa endocrina en els cecs posteriors de *Orchestia* (Anfipoda) (Graf, 1982). Les classifica en tres tipus cel·lulars: cèl·lules que contacten amb la llum del cec i es recolzen a la làmina basal, cèl·lules que denomina tancades: sols contacten amb

la part basal, i cèl.lules endocrines denominades per Graf paracrines que sols contacten amb la llum del cec. Les cèl.lules localitzades en l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi correspondrien a les del tipus tancat segons la classificació feta per Graf (1982).

Poquet (1985) localitza dos tipus de cèl.lules endocrines en l'intestí d'espècies de copèpodes, ectopàrasits de peixos. Aquestes cèl.lules endocrines, a diferència de les trobades en Palaemonetes zariquieyi, presenten característiques morfològiques que permeten de diferenciar dues poblacions de cèl.lules endocrines:

- cèl.lules amb una part reduïda apical, en contacte amb la llum intestinal que presenten pocs microvillis, normalment amb un aspecte biforcat molt característic.
- cèl.lules de tipus tancat, sense contacte amb la llum intestinal.

Les característiques morfològiques dels grànuls de secreció observats en les cèl.lules endocrines de Palaemonetes zariquieyi no permeten d'advertir possibles tipus cèl.lulars. En ciclostoms Rombout adverteix que els criteris morfològics per classificar les cèl.lules endocrines sols han d'ésser previs, doncs utilitzant criteris morfològics identificar només 4 tipus cel.lulars mentres que estudis immunocitoquímics li permeten de distinguir 8 tipus de cèl.lules enterocromafins (Rombout, 1985).

La integritat citoplasmàtica de les cèl.lules endocrines de Palaemonetes està lleugerament alterada per la presència de

vacuols i cossos residuals. **Andries** (1976) justifica la presència de processos autofàgics en les cèl.lules endocrines de Aeshna cyanea, com un procés d'autoregulació de l'activitat secretora d'aquestes cèl.lules. Estudis posteriors en cèl.lules pancreàtiques (**Schenell i Borg**, 1985) han demostrat la presència de mecanismes de degradació intracel.lular de productes de secreció, en els quals intervenen l'aparell lisosomal. Processos de regulació intervenen en el mecanisme de degradació: la concentració de glucosa en sang afecta aquest mecanisme de degradació intracel.lular lisosomal de l'insulina en cèl.lules pancreàtiques. Aquest procés va ser descrit de manera general per **De Duve** (1969), anomenant-lo crinofàgia.

En funció de les dades obtingudes fins ara, el significat funcional de les cèl.lules endocrines en l'hepatopàncreas dels decàpodes entra en el terreny especulatiu.

Les cel.lules endocrines presents en l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi estan situades majoritàriament en la regió on es localitzen les cèl.lules E, es a dir, en la zona dels túbuls on hi té lloc la regeneració cèl.lular. La presència de cèl.lules de naturalesa endocrina en zones de regeneració cèl.lular ha estat prèviament indicada. **Cassier i col.**(1972) localitza cèl.lules de naturalesa endocrina en els nius de regeneració de l'epiteli intestinal d'insectes. L'associació d'aquestes cèl.lules endocrines amb les cèl.lules regeneratives ha estat interpretada des del punt de vista funcional, com a reguladores dels processos de regeneració que tenen lloc en

aquestes regions epitelials.

La dificultat de captar les diferents etapes del procés d'exocitosis ha estat assenyalada en les cèl.lules endocrines dels invertebrats. Segons Endo i Nishiitsutsuji-Uwo (1982) aquest fet està relacionat amb el tipus de secreció, ja que no es realitza de forma contínua. En els mamífers s'ha pogut posar de manifest el procés d'exocitosi després d'estimulacions experimentals. (Fujita i Kobayashi, 1977).

Això és el que motivaria escassa presència de grànuls de secreció en les cèl.lules endocrines de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi.

Conclusions.

- En la regió més distal dels túbuls de l'hepatopàncreas s'identifica un tipus cèl.lular minoritari i extremadament làbil als processos habituals de fixació. Aquestes cèl.lules presenten característiques morfològiques similars a les de les cèl.lules endocrines de tipus tancat amb escasses granulacions de secreció intracitoplasmàtiques.

- La relació topogràfica d'aquestes cèl.lules amb les cèl.lules E implicaria possiblement un efecte regulador de la divisió mitòtica d'aquestes cèl.lules.



***CONCLUSIONS
GENERALS***

CONCLUSIONS GENERALS

1.- L'anatomia general que presenta l'aparell digestiu de l'espècie estudiada, Palaemonetes zariquieyi, no difereix substancialment del tipus general d'organització adoptada en els crustacis, hi distingim dues regions ectodèmiques (estomodeu i proctodeu) i una endodèmica (mesenteron).

2.- La glàndula digestiva està constituïda en Palaemonetes zariquieyi per nombrosos túbuls epitelials i envoltada tota ella per una coberta rica en fibres de col.làgena. La coberta delimita el sinus hepatopancreàtic on hi ha diversos components hemolinfàtics.

3.- Entre els túbuls s'hi localitzen vasos hemolinfàtics amb cèl.lules fagocítiques agrupades, hemòcits i cèl.lules amb inclusions lipídiques i proteiques. Aquestes cèl.lules intervenen en el sistema immuno-defensiu.

4.- La presència de fibres musculars en una orientació circular possibilita moviments peristàltics que recorren tot el tubúl de l'hepatopàncreas. L'efectivitat d'aquest moviments ve possibilitada tant per la seva diferent freqüència de distribució al llarg del tubúl com per la presència de feixos de miofilaments amb diferent orientació dins d'una mateixa cèl.lula muscular.

5.- En l'epiteli que constitueix els túbuls hepatopancreàtics hi distingim cinc tipus cel.lulars: cèl.lules E (proliferatives), cèl.lules R (absorbents), cèl.lules F (fibril.lars) i cèl.lules B (vacuolades). Per últim hem localitzat un cinquè

tipus de situació basal i de característiques endocrines.

6.- La regió distal dels túbuls de l'hepatopàncreas està constituïda per cèl.lules proliferatives (cèl.lules E), que presenten freqüents mitosis. La proliferació cel.lular es dona en cèl.lules epitelials polaritzades i amb posició luminal. Aquestes cèl.lules E presenten una diferenciació paulatina cap a cèl.lules funcionals cèl.lules R (absorbents) o cèl.lules F (fibril.lars).

7.- La localització de mitosis en regions dels túbuls més proximals entre cèl.lules diferenciades i funcionals significa que la proliferació cel.lular en l'hepatopàncreas no és exclusiva de la regió distal. La citocinesis té lloc en sentit paral.lel a l'eix major de les cèl.lules, de manera que les dues cèl.lules filles tenen una regió apical luminal.

8.- Les cèl.lules R (absorbents) presenten una distribució estratègica de mitocondris, i un desenvolupament considerable del complex de Golgi i de vesicles de reticle endoplasmàtic que possibiliten processos d'absorció.

9.- En les cèl.lules R (absorbents) hi té lloc l'absorció lipídica. Prèvia hidrolisi luminal, els àcids grassos penetren en la cèl.lula on s'esterifiquen, sintetitzant-se lipoproteïnes que posteriorment són secretades. En el procés de síntesi lipoproteica hi intervé el complex de Golgi. Aquest procés és saturable, acumulant-se els lípids reesterificats en forma de gotes lipídiques.

10.- El particular desenvolupament del sistema membranós

d'invaginacions laminars i dilatacions de l'espai intercel.lular basal agarenteix un intercanvi epiteli-hemolinfa.

11.- Com a conseqüència de l'activitat absorbent es produeixen fagosomes i cossos residuals densos de situació apical. Són cossos residuals originats tant per fenòmens de crinofàgia, d'autofàgia com de processos de digestió intercel.lulars. La microanàlisi realitzada no ha permès la identificació de ions inorgànics.

12.- Les cèl.lules F (fibril.lars) presenten una elevada taxa de síntesi proteica, detectant-se, en cèl.lules joves, junt a un reticle endoplasmàtic i un complex de Golgi desenvolupat, la presència de làmines anellades.

13.- Els nombrosos vacuols que constitueixen el complex apical de les cèl.lules B (vacuolades) s'originen a partir d'intensos processos d'endocitosi. La seva coalescència junt amb la fusió de vacuols lisosòmics, constitueixen els grossos vacuols heteròfagics, característics, que confereixen un augment considerable del tamany cel.lular. Les cèl.lules B (vacuolades) presenten una amplada significativament diferent respecte als altres tipus cel.lulars hepatopancreàtics.

14.- En la regió distal dels túbuls de l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi hi hem identificat un tipus cel.lular basal, amb nombre reduït, que presenta característiques morfològiques de cèl.lules endocrines de tipus tancat, amb escassos grànuls de secreció intracitoplasmàtics.

15.- L'anàlisi estadística de les dades morfomètriques estudiades sols és significativa en els paràmetres linials (diàmetre màxim i mínim). En les variables de superfície (àrea citoplasma, àrea nucli) es dóna una major variabilitat, resultant en tots els casos una desviació tipus elevada i un coeficient de variació també elevat.



BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

Abolins-Krogis, A., 1970

Electron microscope studies of the intracellular origin and formation of calcifying granules and calcium spherules in the hepatopancreas of the snail Helix pomatia.
Z. Zellforsch., 180, 501-515.

Adiyodi, R.Y., 1968

Protein metabolism in relation to reproduction and moulting in the crab Paratelplusa hydrodromous. Part II. Fate of conjugated proteins during intellogenesis.
Indian. Exp. Biol., 6, 200-203.

Aiken, D.E., 1973

Proecdysis, setal development, and molt prediction in the American lobster (Homarus americanus).
J. Fish Res. Board Can., 30, 1337-1344.

Ainsworth, A., Clark, W., Mastragno, M., Conger, K., 1976
Cancer, 37, 1928-1936.

Alba, Y., 1984

Sistema neuroendocrino del intestino y glándula digestiva de Helix aspersa Müller 1774.
Tesis doctoral, Universidad de Pamplona.

Allen, W.V., 1972

Lipid transport in the Dungeness crab, Cancer magister Dana.
Comp. Biochem. Physiol., 43 B, 193-207.

Al-Mohanna, S.Y., Nott, J.A., Lane, D.J.W., 1985

M-"Midget" cells in the hepatopancreas of the shrimp, Penaeus semisulcatus De Haan, 1884 (Decapoda, Natantia).
Crustaceana, 48 (3), 260-268.

Ancla, M., De Brux, J., 1965

Occurrence of the intranuclear tubular structures in the human endometrium during the secretory phase, and of annulate lamellae in human hiperestrogenic states.
Obstet. Gynecol. N.Y., 26, 23-33.

Andries, J.C., 1976

Presence de deux types cellulaires endocrines et d'un type exocrine au sein du mesenteron de la larve d'Aeshna cyanea Müller (Odonata; aeshnidae).
Int. J. Insect Morphol. & Embriol., 5(6), 393-407.

Apathy, S., Farkas, B., 1906

Beiträge zur Kenntnis der Dardrüsen des Flusskrebse.
Nature Mus. Kolozsvár., 1, 117-150

- Arcier, J.M., Tournamille, J., 1974
 Recherches immunochimiques sur les protéines de vitellogénèse chez Palaemon adspersus (Rathke, 1837) (Crustacés, Décapodes, Natantia).
 C.R.Acad.Sc.Paris, 278 sér.D., 495-498.
- Arnaud, J., Brunet, M., Mazza, J., 1978
 Studies on the midgut of Centropages typicus (Copepod, Calanoid).
 Cell Tissue Res., 187, 333-353.
- Arnaud, J., Brunet, M., Mazza, J., 1980
 Structure et ultrastructure comparées de l'intestin chez plusieurs espèces de Copépodes Calanoidea (Crustacea).
 Zoomorphologie, 95, 213-233.
- Arnaud, J., Brunet, M., Mazza, J., 1983
 Détection d'une activité phosphatasique acide dans les cellules B de l'intestin moyen de Centropages typicus (Copepode, Calanoide).
 C.R.Acad.Sc.Paris, 297, 727-730.
- Bachmann, S., Pohla, H., Goldschimid, A., 1980
 Phagocytes in the axial complex of the sea urchin, Sphaerechimus granularis (Lam.). Fine structure and X-ray microanalysis.
 Cell Toiss. Res, 213, 109-120
- Bachmann, S., Sakai, T., Kritz, W., 1986
 Nephron and collecting duct structure in the kidney rat.
 en: Urinary system, 3-25.
 ed. Jones, T.C., Mohr, V., Hunt, R.D.
 Springer-Verlag.
- Baffoni, G.M., 1965
 Il differenziamento cellulare nell'epatopancreas di crostacei decapodi.
 Bolletino di Zoology, XXXIII fasc.II, 509-523.
- Baglio, C., Farber, E., 1965
 Reversal by adenine of the ethionine-induced lipid accumulation in the endoplasmic reticulum of the rat liver.
 J.Cell Biol., 27, 591-601.
- Bannasch, P., Zerban, H., Hacker, H.J., 1986
 Oncocytoma, kidney, rat.
 en: Urinary system.
 ed. Jones T.C., Mohr, V., Hunt, R.D.
 Springer-Verlag. 49-60.

- Barker, P.L., Gibson, R., 1977
Observations on the feeding mechanism structure of the gut and digestive physiology of the mud crab Scylla serrata (Forskål) (Decapoda Portunidae).
J.exp.Mar.Biol.Ecol., 32, 177-196.
- Barker, P.L., Gibson, R., 1978
Observations on the structure mouthparts, histology of the alimentary tract, and digestive physiology of the mud crab Scylla serrata (Forskål) (Decapoda, Portunidae).
J. exp. Mar Biol Ecol., 32, 177-196.
- Beaulaton, J., 1968
Modifications ultrastructurales des cellules sécrétrices de la glande prothoracique de vers à soie, au cours des deux âges larvaires. III. Les lamelles annellées et leur dégradation.
J.Microsc., 7, 895-906.
- Bell, R.M., Coleman, R.A., 1980
Enzymes of glycerolipid synthesis in eukariotes.
Ann.Rev.Biochem., 49, 495-487.
- Becker, G.L., Chen, C.H., Greenawalt, J.W., Lehninger, A.L., 1974
alciun phosphate granules in the hepatopancreas of the blue crab Callinectes sapidus.
J.Cell.Biol., 61, 316-326.
- Bennett, H.S., 1969
The cell surface: components and configurations.
A. Lima-de-Faria: Hand-book of molecular cytology. North-Holland Publ.Co.; Amsterdam-London, 1261-1293.
- Benzo, C.A., 1972
Anat.Rec., 174, 399-405
- Berdan, R.G., Gilula, N.B., 1988
The artropod GAP junctions and pseudogap junction: isolation and preliminary biochemical analysis.
Cell Tiss Res 251, 2, 257-274.
- Bergeron, T., Woodward, B., 1983
Ultrastructure of the granule cells in the small intestine of the rainbow trout (Salmo gairdneri) before and after stratum granuloso-sum formation.
J.canad.zool., 61, 1, 133-138.
- Bergot, P., Feldron, J.E., 1970
Forme et voie d'absorption intestinale des acides gras à chaîne longue chez le truite ar-en-ciel (Salmo gairdnerii Rich) I. Lipides en particules.
Ann.Biol.anim.Biochim.Biophys., 10, 459-472

- Bergot, P., Feldron, J.E., 1970
 Forme et voie d'absorption intestinale des acides gras à chaîne longue, chez la Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii* Rich).II. Lipides étalés.
 Anns.Biol.anim.Biochim.Biophys., 10, 473-480.
- Berglindh T. i Öbrink, K.J. 1976
 A method for preparing isolated glands from rabbit gastric mucosa.
 Acta physiol.scand.96, 150-159.
- Bernhard, W., 1969
 A new staining procedure for electron microscopical cytology.
 J.Ultr.Res., 27, 250-265
- Blok, J., Ginsel, L.A., Mulder-Stapel, A.A., Onderwater, J.J.M., Daems, W.Th., 1981
 The effect of colchicine on the intracellular transport of ^3H -fucose-labelled glycoproteins in the absorptive cells of cultured human small intestinal tissue. An autoradiographical and biochemical study.
 Cell Tiss.Res., 215, 1-12.
- Blok, J., Mulder-Stapel, A.A., Ginsel, L.A., Daems, W.Th., 1980
 The effect of chloroquine on the lysosomal degradation of cell-coat glycoproteins in cultured human intestinal absorptive cells.
 Electr.Microsc., 2, 76-77.
- Blok, J., Mulder-Stapel, A.A., Daems, W.Th., Ginsel, L.A., 1981
 The effect of chloroquine on the intralysosomal degradation of cell-coat glycoproteins in the absorptive cells of cultured human small-intestinal tissue as shown by silver proteinate staining.
 Histochemistry, 73, 429-438.
- Bocquet-Vedrine, J., 1956
 Corrélation entre les rythmes des marées et la mue d'une population de Chathamales.
 C.R.Acad.Sc.Paris, 243, 2159-2162.
- Bocquet-Vedrine, J., 1965
 Etude du tégument et de la mue chez le Cirripède Operculé *Elminius modestus* Darwin.
 Arch.Zool.exp.gén., 105, 30-75.
- Boer, H.H., Sminia, T., 1976
 Sieve Structure of Slit Diaphragms of podocytes and pore cells of gastropod.
 Cell Tiss.Res., 170, 221-229.

- Bouligand, Y., 1962
Le ultrastructure du muscle strié et de ses attaches au squelette chez les Cyclops (Crustacés, Copépodes).
J. Microsc., 1, 377-394.
- Bouquegneau, J.M., Martoja, M., 1982
La teneur en cuivre et son degré de complexation chez quatre Gastéropodes marins. Données sur le cadmium et le zinc.
Oceanol. Acta, 5, 2, 219-228.
- Bowman, T.E., Abele, L.G., 1982
Classification of the recent crustacea
a: The Biology of Crustacea.
Ed. E. Bliss vol. 1., 1-25
- Boyle, P.J., Mitchell, R., 1978
Absence of microorganisms in crustacean digestive tracts.
Science, 200, 1157-1159.
- Brown, B.E., 1978
Lead detoxification by a copper-tolerant isopod.
Nature, London, 276, 388-390.
- Bucana, C.D., Nadakavukaren, M.J., Frehn, J.L., 1971
Annulate lamellae in hamster pineal gland.
Tissue & Cell, 3(3), 405-412.
- Bunt, A.H., 1968
An ultrastructural study of the hepatopancreas of Procambarus clarkii (Girard) (Decapoda, Astacidea).
Crustaceana, 15, 282-288.
- Buntjens, T.E.J., Finbow, N.E., Lane, N.J., Pitts, J.D., 1988
Tissue and species conservation of the vertebrate and arthropod forms of the low molecules weight (16-18000) proteins of gap junctions.
Cell Tissue Res., 251, 571-580.
- Burighel, P., Malanesi, E., 1975
Fine structure of the gastric epithelium of Ascidian Botryllus schlosseri. Mucous endocrine and plicated cells.
Cell Tiss. Res., 481-496.
- Bykorez, A.I., Ivashchenko, Y.D.
Gastrointestinal stem cells and their role in carcinogenesis.
International review of Cytology, 90
- Capella, C., Solcia, E., Vasallo, G., 1969
Identification of six types of endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of rabbit.
Arch. Histol. Jap., 30, 479-495.

- Cardell, R.R., Badenhausen, S., Porter, K.R., 1967
 Intestinal absorption in the rat. An electron microscopic study.
J. Cell Biol., 34, 123-156.
- Cardoso, R., 1984
 Sistemas de lamelas do oócito do criceto.
Folia Anatómica Universitatis Coninbrigen sis. XLIII, (6), 1-31.
- Cassier, P., Alibert, J., Fain-Maurel, M.A., 1972
 Sur la présence de cellules de type endocrine dans l'intestin
 moyen de Petrobius maritimus Leach (Insecte aptérygote, Thisanou-
 re).
C.R. Acad. Sci. Paris., 275, 2691-2693.
- Cassier, P., Fain-Maurel, M.A., 1977
 Sur la présence d'un système endocrine diffus dans le mésenteron
 de quelques insectes.
Arch. Zool. exp. Gén., 118, 197-209.
- Ceccaldi, H.J., Martin, J.L.M., 1969
 Evolution des protéines de l'hémolymphe chez Carcinus maneus L.
 during la ovogenese.
C.R. Soc. Biol., 163, 2638-2641.
- Chaigneau, J., 1962
 Etude préliminaire et repérage des principales étapes de l'inter-
 mue de Lepidurus apus (Leach) (Crustacé, Phillopode).
C.R. Congr. nat. Soc. sav. France, 87, 1175-1183.
- Chapman, M.J., 1980
 Animal lipoproteins: chemistry, structure, and comparative
 aspects.
J. of lipid res., 21, 789-845.
- Charagozlou-Van Ginneken, I.D., 1974
 Sur l'ultrastructure cuticulaire d'un crustacé copépode Harpacti-
 cide: Tisbe holoturidae (Humes).
Arch. Zool. exp. gén., 115, 411-422.
- Charniaux-Cotton, H., 1957
 Croissance, régénération et déterminisme endocrinien des caractè-
 res sexuels d' Orchestia gammarelle , Crustacé Amphipode.
Ann. Sc. nat. Zool., 19, 411-559.
- Charniaux-Legrand, H., 1952
 Le cycle d'internue chez les Amphipodes et ses particularités
 chez les formes terrestres (Talitridae).
Arch. Zool. exp. gen. N. et R., 88 (4), 178-204.

Chassard-Bouchaud, C., 1977

Analyse chimique du tégument et de la glande digestive de Crangon crangon (Crustacé Décapode) par spectrographie des rayons X.
Compte Rendu Hebdomadaire des Séances de l'Académie des Sciences, Paris, Séries.284, 933-936.

Chassard-Bouchaud, C., 1980

Effets de la température sur la bioaccumulation du cadmium par l'écrevisse Pontastacus leptodactylus. Microanalyse par spectrographie des rayons X et par émission ionique secondaire.
C.R.Acad.Sc.Paris, 290, 347-350.

Chassard-Bouchaud, C., 1981

Rôle des lysosomes dans le phénomène de concentration du cadmium. Microanalyse par spectrographie des rayons X.
C.R.Acad.Sc.Paris, 293 (III), 261-265.

Chassard-Bouchaud, C., 1982

Localisation ultrastructurale du cadmium dans la glande digestive du Crabe Carcinus maenas (Crustacé Décapode). Microanalyse par spectrographie des rayons X.
C.R.Acad.Sc.Paris, 294 (III), 153-157.

Chassard-Bouchaud, C., 1982

Concentration de l'uranium par les crustacés. Etude structurale, ultrastructurale et microanalytique par émission ionique secondaire et par spectrographie des rayons X.
C.R.Acad.Sci.Paris, 294, Ser. III, 919-924.

Cheng, H., Leblond, C.D., 1974

Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. I Columnar cell.
Am.J.Anat., 141, 461-480

Chinchilla, M., Comín, F.A., 1977

Contribució al coneixament dels crustacis del delta de l'Ebre.
Treb.Inst.Cat.Hist.Nat., 8, 119-144.

Christensen, E.I., 1986

Evidence for a decreased membrane recycling in the cells of renal proximal tubules exposed to high concentration of ferritin.
Cell Tiss.Res., 243, 101-108.

Comín, F.A., 1981

Limnologia de las lacunas costeras del Delta del Ebro.
Tesis doctoral. Univ. Barcelona.

Copeland, D.E., 1964

A mitochondrial pump in the cells of the anal papillae of mosquito larvae.
J.Cell Biol., 23, 253-263.

- Cornell, R., Padykula, H.A., 1969
A cytological study of intestinal absorption in the suckling rat.
Am. J. Anat., 125, 291-316.
- Cuénot, L., 1893
Etudes physiologiques sur les crustacés Décapodes.
Arch. Zool. Exp. Gén. Ser. 4, 3, 1-16
- Cuénot, L., 1899
L'excretion chez les mollusques.
Arch. Biol. (Liege) 16, 4-96.
- Dall, W., 1966
The functional anatomy of the digestive tract of a shrimp
Metapenaeus bennettiae Racek & Dall (Crustacea: Decapoda: Penaeidae).
Aust. J. Zool., 15, 699-714.
- Dall, W., Moriarty, D.J.W., 1983
Functional aspects of nutrition and digestion
a: The biology of crustacea.
Vol. V, Internal anatomy and physiological regulation .
Acad Press. N.Y.
- Davis, L.E., Burnett, A.L., 1964
A study of growth and cell differentiation in the hepatopancreas
of the crayfish.
Develop. Biol., 10, 122-153.
- Deflandre, M., 1905
La fonction adipogénique du foie dans la série animale.
Journ. Anat. et Phys.
- Dhainaut, A., 1973.
Mode de formation des lamelles annelées résultant de l'évolution,
en condition anormale, des ovocytes de Nereis diversicolor
(Annélide Polychète).
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 137, 481-492.
- Dockray, G.J., 1974
Extraction of a secretin-like factor from the intestines of pike
(Esox lucius).
Gen. comp. Endocrin., 23, 340-347.
- Doggenweiler, C.F., Frenk, S., 1965
Staining properties of lanthanum on cell membranes.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 53, 425.

- Donadey, M.C., 1966
 Contribution à l'étude du rôle excréteur des caecums digestifs des Crustacés. Etude au microscope électronique sur Sphaeroma serratum (Crustacea Isopoda).
 C.R.Acad.Sc.Paris, 263, 1401-1404.
- Dorman, H.P., 1928
 The morphology and physiology of the hepatopancreas of Cambarus virilis.
 J. Morph., 45, 505-535.
- Drach, P., 1939
 Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes.
 Ann.Inst.Océanogr.Fr., 19, 103-391.
- Drach, P., 1944
 Etude préliminaire sur le cycle d'intermue et son conditionnement hormonal chez Leander serratus (Pennant).
 Bull.Biol.Fr.Belg., 78, 40, 62
- Drach, P., Tchermigovtzeff, C., 1967
 Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux crustacés.
 Vie et Milieu, 18, 595-609.
- Dunn, J.S., 1967
 The fine structure of the absorptive epithelial cells of the developing small intestine of the rat.
 J.Anat. (Lond.), 101, 57-68.
- Durfort, M., 1973
 Sur la formation des lamelles annelées dans les ovocytes de Mytilus edulis.L.
 C.R.Acad.Sci.Paris, 276, 3175-3178
- Durfort, M., 1974
 Ultraestructura de las lamines anilladas en ovocitos de mejillon (Mytilus edulis)
 Miscellanea Alcobé, 135-140.
- Durfort, M., 1975
 Consideraciones sobre la estructura y ultraestructura del epitelio intestinal de Mytilicola intestinalis, Stuer.
 I Centenario Real Soc. Esp. Hist. Nat., 2, 109-120.
- Durfort, M., 1977
 Noves dades de la ultraestructura de l'epiteli intestinal de Mytilicola intestinalis Stuer.
 Bull.Soc.Cat. Biol.II (1-2), 27-31.

- Durfort, M., 1980
 Microanálisis de las concreciones intestinales de Cyclops strenuus Fisch. (Crustacea, Copepoda). Estudio preliminar.
 Misc. Zool., 6, 27-32.
- Durfort, M., 1981
 Formación de esferocristales en el hepatopáncreas de Trachydermon cinereus, Thiele. (Mollusca, Polyplacophora). Estudio ultraestructural.
 Resum. III Congr. Nac. Malac. Cartagena.
- Durfort, M., 1981
 Mineral concretions on the intestinal epithelium of Cyclops strenuus fisch (Crustacea, Copepoda). Ultrastructural study.
 Butll. Inst. Hist. Nat., 47 (Sec. Zool. 4):, 93-103.
- Durfort, M., 1982
 Las concreciones minerales del hepatopáncreas de Trachydermon cinereus, Thiele (Mollusca, poliplacophora). Estudio ultraestructural.
 Iberus, 2, 1-17.
- Durfort, M., 1982
 Alterations of the oocytes of Mytilus edulis, L. (Mollusca, Bivalvia) due to infestation on the mussel by Mytillicola intestinalis, Steuer (Crustacea, Copepoda).
 Malacologia. 22, 1-2, 55-59.
- Durfort, M., Vallmitjana, L., 1981
 Tipos celulares del hepatopáncreas de Trachydermon cinereus, Thiele (Mollusca, Polyplacophora).
 II Congreso Nacional de Histología Valladolid. 66.
- Duvert, M., Gros, D., 1982
 Further studies on the junctional complex in the intestine of Sagitta setosa. Freeze-fracture on the pleated septate junction.
 Cell Tiss. Res., 225, 663-671.
- Ellinger, A., Pavelka, M., 1984
 Colchicine induced tubular, vesicular and cisternal organelle aggregates in absorptive cells of the small intestine of the rat. I Morphology and Phosphatase Cytochemistry.
 Biol. Cell, 52, 43-52.
- Endo, Y., Nishiitsutsutsuji-Uwo, J., 1982
 Exocytotic release of secretory granules from endocrine cells in the midgut of insects.
 Cell Tissue Res., 222, 515-522.

- Ezeasor, D.N., Stokoe, W.M., 1980
 A cytochemical, light and electron microscopic study of the eosinophilic granule cells in the gut of the rain bow trout Salmo gairdneri Rich.
 J.Fish Biol., 17, 619-139.
- Ezeasor, D.N., Stokoe, W.M., 1981
 Light and electron microscopic studies on the absorptive cells of the intestine, caeca and rectum of the adult rainbow trout, Salmo gairdneri Rich.
 J. Fish Biol, 18, 527-544.
- Factor, J.R., Near, M., 1985
 The digestive system of lobster, Homarus americanus: I connective tissue of the digestive gland.
 J.morphol., 184, 311-321.
- Fain-Maurel, M.A., Cassier, P., 1972
 Un nouveau type de jonctions les jonctions scaleriformes. Etude ultrastructurale et cytochimique.
 J.Ultrastruct.Res., 39, 222-238.
- Fain-Maurel, M.A., Cassier, P., Alibert, J., 1973
 Etude infrastructurale et cytochimique de l'intestin moyen de Petrobius maritimus Leach en rapport avec ses fonctions excrétoires et digestives.
 Tissue & Cell., 5, 603-631.
- Ferguson, D.J.P., 1988
 An ultrastructural study of mitosis and cytokinesis in normal "resting" human breast.
 Cell. Tissue Res. 252, 581-587.
- Ferreira, M.N., 1971
 Argentaffin and other "endocrine" cells of the small intestine in the adult mouse.
 Amer.J.Anat., 131, 315-330.
- Firgerman, M., Dominiczak, T., Miyaweki, M., Oguro, C., Yamamoto, Y., 1967
 Neuroendocrine control of the hepatopancreas in the crayfish Procambarus clarkii.
 Physiol Zol., 40, 23-30.
- Flores, T.R., Hoffmann, E.O., 1981
 Stain for epoxy resin section.
 Louisiana Soc. Elec.Microsc., 16, 6, 163.
- Frenzel, J., 1884
 Die mitteldarmdrüse der flußkrebse die amitotische zelltheilung.
 Arch.mikr.Anat., 41, 389-451.

- Frens, G., 1973
Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold solutions.
Nat. Phys. Sci., 241, 20, 22.
- Friedman, H. I., Cardell, R. R., 1972
Effects of puromycin on the structure of rat intestinal epithelial cells during fast absorption.
J. Cells Biol., 52, 15-40.
- Friedman, H. I., Cardell, R. R., 1977
Alterations in the endoplasmic reticulum and Golgi complex of intestinal epithelial cells during fat absorption and after the termination of this process: a morphological and morphometric study.
Anat. Rec., 188, 77-102.
- Friend, D. S., Murray, M. 1965
Osmium impregnation of the Golgi apparatus.
Am. J. Anat., 17, 135, 141.
- Fujita, T., Kobayashi, S., 1977
Structure and function of gut endocrine cells.
Int. Rev. Cytol. Suppl., 6, 187-233.
- Gabe, S. M., 1920
The free granules (chylomicrons) of the blood as shown by the dark field microscope.
Cornell Vet., 10, 154-155
- Gabe, M., 1973
Données histologiques sur les cellules endocrines intestinales de Protopterus annectens Owen.
Bull. Biol. Fr. Belg., 107, 3-20.
- García Valero, J., 1986
Estructuras lamelares en diferentes modelos celulares, puestas de manifiesto mediante la técnica del ácido tánico.
XIV Reunión Bienal SEME, Avila.
- García Valero, J., Durfort, M., 1987
Detección de glucoproteínas: Técnicas del P.T.A. y PATAg
V Congreso Nacional de Histología. Santiago de Compostela.
- Gas, N., Noailliac-Depeyre, J., 1976
Studies on intestinal epithelium involution during prolonged fasting.
J. Ultrast. Res., 56, 137-151.

- Gauthier, G.F., Landis, S.C., 1972
The relationship of ultrastructural and cytochemical features to absorptive activity in the goldfish intestine.
Anat. Rec., 172, 675-702.
- Georgopoulou, V., Sire, N.F., Vernier, J.N., 1986
Immunological demonstration of intestinal absorption and digestion of protein macromolecules in the trout (*Salmo gairaneri*).
Cell Tiss Res, 245, 387-395.
- Ghiretti-Magaldi A., Milanesi, C., Salveto B., 1973
Identification of hemocyanin in the Cyanocytes of Carcinus maenas.
Experientia, 29(10), 1265-1267.
- Gibert, J., 1971
Contribution a l'étude de l'hémolymphe de Niphargus virei Chevreux (Amphipode hypogé): ses constituants, leur origine et leurs fonctions.
Crustaceana, Sup, 3, 342-350
- Gibson, R., Barker, P.L., 1979
The decapod hepatopancreas.
Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., 17, 285-346.
- Gilula, N.B., 1972
Cell junctions of the crayfish hepatopancreas.
J. Ultrast. Res., 38, 215-216.
- Ginsel, L.A., Blok, J., Mulder-Stapel, A.A., Orderwater, J.J.M., Daems, W. T.H., 1980
The effect of colchicine on the intracellular transport of cell-coat glycoproteins in the absorptive cells of cultured human small-intestinal tissue.
Electron Microscopy, 2, 74-75.
- Glaumann, H., Ericsson, J., L.E., Marzella, L., 1987
Mechanism of intralysosomal degradation with special reference to autophagocytosis and heterophagocytosis of cell organelles.
Int Rev of Cytology, 73, 149-182.
- Glickman, R.M., Sabesin, S.M., 1982
Lipoprotein metabolism.
a *The Liver: Biology and Pathobiology*.
Ed. I. Arias, H Popper, D. Schachter, D.A. Shafritz
Raven Press N.Y., 123-142.
- Gomori, G., 1952
Microscopic histochemistry : principles and practice.
University of Chicago Press.

- Graham, R.G., Karndusky, M.J., 1966
The early stages of absorption of subjected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique.
J.Histochem.Cytochem, 14, 291-302.
- Graf, F., 1966
Preuve expérimentale de la sécrétion de concrétions calcaires et de leur dissolution par les caecums postérieurs d'Orchestria (Crustacé, Amphipode). Hypothèse de réabsorption.
C.R.Acad.Sci.Paris, 263, 173-176.
- Graf, F., 1978
Les sources de calcium pour les crustacés venant de muer.
Arch.Zool.exp.gén., 119, 143-161.
- Graf, F., 1982
Les cellules paracrines des caecums postérieurs de crustacé: un nouveau type cellulaire du système endocrine diffus du tube digestif.
C.R.Acad.Sc.Paris, 294, 319-322.
- Green, C.R., 1981
A clarification of the two types of invertebrate pleated septatae junction.
Tissue & Cell, 13(1), 173-188.
- Green, P.H.R., Glickman, R.M., 1981
Intestinal lipoprotein metabolism.
J. of lipid Res., 22, 1153-1173.
- Guder, W., Weiss, L., Wieland, O., 1969
Triglyceride breakdown in rat liver. Demonstration of three different lipases.
Biochim.Biophys.Acta, 187, 173, 185.
- Guieysse, A., 1907
Etude des organes digestifs chez les crustacés.
Arch.Anat.Microsc., 9, 342-494.
- Hackenbrock, C.R., Caplan, A.I., 1969
Ion induced ultrastructural transformations in isolated mitochondria. The energized uptake of calcium.
J.Cell Biol., 42, 221-234.
- Hausen, S.J., Youson, J.H., 1978
Morphology of the epithelium in the alimentary tract of the larval Lamprey, Petromyzon marinus L.
Journ. of Morphology, 155, 2, 193-218.

- Hatae, T., Fujita, M., Okuyana, K., 1988
 Study on the origin of apical tubules in ileal absorptive cells of suckling rats using concavalin A as a membrane bound tracer.
 Cell Tiss Res, 251, 511-521.
- Heidenhain, R., 1870
 Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen.
 Arch. Mikrosk. Anat., 6, 368.
- Higgins, J.A., Russell, J., Barnett, 1971
 Fine structural localization of acyltransferases.
 Journ. of Cell Biology, 50, 102-120
- Hirsch, G.C., Jacobs, W., 1928
 Der arbeitsrhythmus der mitteldarmdrüse von Astacus leptodactylus.
 Z.Wiss.Biol., 12, 524-558.
- Hopkws, S.P., Nott, 1979
 Some observations on concentrically structured, intracellular granules in the hepatopancreas of the shore crab Cercinus maenas (L.)
 J.of the Mar.Biol.Asc.U.K., 5, 867-877.
- Hsu, W.S., 1967
 The origin of annulate lamellae in the oocyte of the Ascidian Boltenia villosa.
 Z.Zellforsch.Mikrosk.Anat., 112, 390-395.
- Humbert, W., 1978
 Cytochemistry and x-Ray microprobe analysis of the midgut of Tomocerus minor Lubbock (Insecta, Collembola) with special reference to the Physiological significance of the mineral concretions.
 Cell Tissue Res., 187, 397-416.
- Hugon, J.S., 1971
 Absorption of horseradish peroxidase by the mucosal cell of the duodenum of mouse. II. The newborn mouse.
 Histochemie, 26, 19-27.
- Humbert, W., 1978
 Intracellular and Intramitochondrial Binding of Lanthanum in Dark Degenerating Midgut cells of a Collembolan (insect).
 Histochemistry, 59, 117-128.
- Huxley, T.H., 1880
 The crayfish. An introduction to the study of zoology.
 P.Kegan London.

Huxham, I.M., Lackie, A.M., 1988
Behaviour in vitro of separated fractions of haemocytes of the locust *Schistocerca gregaria*.
Cell Tiss Res, 675-689.

Iida, H., Yamamoto, T., 1985
Intracellular transport of horseradish peroxidase in the absorptive cells of goldfish hindgut in vitro, with special reference to the cytoplasmic tubules.
Cell Tissue Res, 240, 553-560.

Iwai, T., 1969
Fine structure of gut epithelial cells of larval and juvenile carp during absorption of fat and protein.
Arch Histol Jpn, 30, 183-199

Jacobs, W., 1929
Untersuchungen über die cytologie der sekretbildung in der mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*.
Z.f.zellforschung u.mikrAnatomie Bd.S., 8, 1-62.

Jacobs, A., 1975
Iron balance and absorption.
Bibtheca Nutr. Diet, 22, 61-73

Jinguuji, Y., Ishikawa, H., 1986
Cell division in small intestinal epithelial cells of the mouse.
a: Proc 11th Internat Congr. on Electr Microsc, 35, 2593-2594.

Johnson, P.T., 1980
Histology of the blue crab, *Callinectes sapidus*. A model for the decapoda.
Praeger Publisher New York, 1-440.

Kalina, M., Pease, D.C., 1977
The probable role of phosphatidylcholines in the acid enhancement of cytomembrane electron contrast.
J.Cell.Biol. 74, 742-750.

Karnovsky, M.J., 1965
A formaldehyde-Glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy.
J.Cell Biol., 27, 2, 137A.

Kerr, M.S., 1969
The hemolymph proteins of the blue crab *Callinectes sapidus* a lipoprotein serologically identical to oocyte lipovitellin.
Devel Biol, 20, 1-17.

- Kessel, R.G., 1964
 Electron microscope studies on oocytes of an echinoderm, Thyone briaseus, with special reference to the origin and structure of the annulate lamellae.
 J. Ultrastruct. Res., 10, 498-514.
- Kessel, R.G., Tung, H.G., Beams, H.W., Lin, S.S.C., 1986
 Is the nuclear envelope a "generator" of membrane? developmental sequences in cytomembrane elaboration.
 Cell Tissue Res, 245, 61-68.
- Klein, R.L., Yen, S.S., Thureson-Klein, A., 1972
 Critique on the K-pyroantimonate method for semiquantitative estimation of cations in conjunction with electron microscopy.
 J. of Hist. and Cytoch., 20, 1, 65-78.
- Krech, R., Zerban, H., Bannash, P., 1981
 Mitochondrial anomalies in the renal oncocytes induced in rat by N-nitrosomorpholine.
 Eur. J. Cell Biol, 25, 331-339.
- Krementsz, A.B., Chapman, C.B., 1975
 Ultrastructure of the posterior half of the intestine of the channel catfish, Ictalurus punctatus.
 J. Morph., 145, 441-482.
- Kubo, J., 1949
 Studies on the penaeids of Japanese and its adjacent craters.
 J. Tokyo Coll fish, 36, 1-467.
- Kurosumi, K., 1961
 Electron microscopic analysis of the secretion mechanism.
 Int. Rev. Cytol, 11, 1-117.
- Lai-Fook, J., 1984
 Lamellar bodies in differentiating insect tissues during basal lamian formation as revealed by tannic acid.
 Tissue Cell 16(6), 909-916.
- Lane, N.J., 1981
 Tight junctions in arthropod tissues
 International review of Cytol., 73, 243-318.
- Langille, R.M., Youson, J.H., 1985
 Protein and lipid absorption in the intestinal mucosa of adult lampreys (Petromyzon marinus L.) following induced feeding.
 Can. J. Zool., 63, 691-702.

- Lautier, J., Vernet, G., 1972
 Comparaison du métabolisme lipidique de l'hépatopancréas de *Pachygrapsus marmoratus* Fabricius (Decápoda Brachyore) chez des animaux témoins et opérés des pédoncules oculaires en fonction du cycle d'intermue.
 C.R.Sc.Paris, 275, 1899-1902.
- Leake, 1975
 Comparative histology an introduction to the microscopic structure of animals.
 Acad Press, N.Y.
- Leblond, C.P., 1972
 Growth and renewal. Regulation of organ tissue growth.
 Ed. R.J. Gross. Press New York, 13-37.
- Lester, R., Carey, M.C., Little, J.M., Cooperstein, L.A., Dowd, S.R., 1975
 Crustacean intestinal detergent promotes sterol solubilization.
 Science, 189, 1098-1100.
- Lipkin, M., 1973
 Proliferation and differentiation of gastrointestinal cells.
 Physiol. Rev. 53 (4), 891-915.
- Loizzi, R.F., 1971
 Interpretation of crayfish hepatopancreatic function based on fine structural analysis of epithelial cell lines and muscle network.
 Z. Zellforsch, 113, 420-440.
- Loizzi, R.F., Peterson, D.R., 1971
 Lipolytic sites in crayfish hepatopancreas and correlation with fine structure.
 Comp. Biochem. Physiol, 398, 227-236.
- Lütcke, H., Scheele, G.A., Kern, H.F., 1987
 Time course and cellular site of mitotic activity in the exocrine pancreas of the rat during sustained hormone stimulation.
 Cell Tissue Res., 247, 385-391.
- Lyon, R., Simkiss, K., 1984
 The ultrastructure and metal-containing inclusions of mature cell types in the hepatopancreas of a crayfish.
 Tissue & Cell, 16 (5), 805-817.
- Maldonado, A., 1972
 El Delta del Ebro. Estudio sedimentológico y estratigráfico.
 Bol. Estratigr., 1, 1-486.

- Marenius, K.D., Sjostrand, F.S., 1982
Sequence of structural changes in columnar epithelium of small intestine during early stages of fat absorption.
J. Ultrastruct. Res., 79, 1:92-110.
- Margalef, R., 1953
Los crustaceos de las aguas continentales ibéricas.
Dirección general de montes. Ministerio de agricultura. Madrid.
- Marinozzi, V., 1968
Phosphotungstic acid (PTA) as a stain for polysaccharides and in glyco proteins in electron microscopy.
IV Copng. Reg. Europ. Microsc. Electr. Roma.
- Martin, J.L.M., 1973
Etude du métabolisme de l'eau et de l'azote dans l'hépatopancreas et l'ovaire de *Carcinus maenas*.
J. Fish. Res. Board Canada, 30, 41-44.
- McVicar, L.K., Shivers, R.R., 1985
Gap junctions and intercellular communication in the hepatopancreas of the crayfish (*Orconectes propinquus*) during molt. A freeze-fracture-electrophysiological study.
Cell Tissue Res., 240:261-269.
- Mc Vicar, L., Shivers, R.R., 1984
Crustacean-induced modulation of electrical coupling and gap-junction structure in crayfish hepatopancreatocytes.
Tissue & Cell, 16(6), 917-928.
- Meredith, J., and Phillips, J.E., 1973.
Rectal ultrastructure in salt and fresh water mosquito larvae in relation to physiological state.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 138, 1-22.
- Merrill, D.P., Reife, R.A., Tiersch, T.R., Austin, R.S., 1985
Histochemical and biochemical studies of hepatopancreas peroxidase of the freshwater crayfish, *Cambarus robustus*.
J. morphology, 184, 171-182.
- Mix, A., Sparks, D., 1980
Hemocyte classification and differential counts in the Dungeness crab *Carcinus magister*.
J. of invertebrate Pathology, 35, 134-143.
- Miyawaki, M., Matsuzaki, M., Sasaki, N., 1961
Histochemical studies on the hepatopancreas of the crayfish, *Procambarus clarkii*.
Kumamoto J. Sci. Ser. B, 5, 161-169.

- Moon, H.W., Kohler, E.M., Whipp, S.C., 1973
 Vacuolation: a function of cell age in porcine ileal absorptive cells.
 Lab. Invest., 28, 23-29.
- Moosker, M., Pollard, T.D., Fujiwara, K., 1978
 Characterization and localization of myosin in the brush border intestinal epithelial cells.
 J. Cell Biol., 79, 444-453.
- Moosker, M.S., Tilney, L.G., 1975
 Organization of an actin filament-membrane attachment in the microvilli of intestinal epithelial cells.
 J. Cell Biol., 67, 725-743.
- Nath, C.N., Krishna Pillai, N., 1971
 On the alimentary canal of Spelacomysis longipes (Crustacea: Mysidacea).
 J. zool. soc. India, 23(2), 95-108.
- Nimmus, H.G., 1981
 Regulation of lipolysis.
 a Short term regulation of liver metabolism
 L.Hue, Van de Werve.
 Elsevier. Amsterdam, N.Y., Oxford., 263, 272
- Noaillac-Depeyre, J., Gas, N., 1973
 Absorption of protein macromolecules by the enterocytes of the carp (Cyprinus carpio L.).
 Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 146, 525-541.
- Noaillac-Depeyre, J., Gas, N., 1976
 Electron microscopic study on gut epithelium of the tench (Tinca tinca L.) with respect to its absorptive functions.
 Tissue Cell., 8 (3), 511-530.
- Noirot-Timothee, C., Noirot, C., 1977
 Fine structure of the rectum in termites (Isoptere) a comparative study.
 Tissue Cell, 9, 683-710.
- Noirot-Timothee, C., Noirot, C., 1980
 Septate and scalariform junctions in arthropods.
 Int. Rev. of cytology, 63, 97-140.
- Noirot-Timothee, C., Graf, F., Noirot, Ch., 1982
 The specialization of septate junctions in regions of tricellular junctions i smooth septate junctions (centimorus junctions).
 J. Ultrastructure Res., 18, 136-151.

Noirot-Timothee, C., Graf, F., Noiroto, Ch., 1982
The specialization of septate junctions in regions of tricellular junction. II. Pleated septate junctions.
J. Ultrastructure Res., 78, 152-165.

Novikoff, A.M., 1982
Lysosomes
a The Liver. Biology and pathobiology.
Ed. Arias, Popper, Schachter, Schafritz
Raven Press N.Y., 9-27

Novikoff, P.M., 1982
Intracellular organelles and lipoprotein metabolism in normal and fatty livers.
a The Liver. Biology and pathobiology.
Ed. Arias, Popper, Schachter, Schafritz
Raven Press N.Y., 143-169.

Ogawa, K.S., Fujimoto, K., Ogawa, K., 1987
Cytochemical localization of Ca^{++} -ATPase, H^+ , K^+ -ATPase and Na^+ , K^+ -ATPase in acid secreting parietal cell and non-secreting parietal cell.
Acta Histochem. Cytochem., Vol. 20, 2, 197-216.

Ogura, K., 1959
Midgut gland cells accumulating iron or copper in the crayfish.
Procambus clarkii.
Annot. Zool. Jap., 32, 133-142.

Overnell, J., 1982
Copper metabolism in crabs and metallothionein: in vivo effects of copper on soluble hepatopancreas metal binding components in the crab Cancer pagurus containing varying amounts of cadmium.
Comp. Biochem. Physiol., 73 3, 555-564.

Ozaki, N., 1965
Some observations on the fine structure of the intestinal epithelium in some marine teleost.
Arch. histol. Jap., 26, 23-28.

Padykula, H.A., Deren, J.J., Wilson, T.H., 1966
Development of structure and function in the mammalian yolk sac. I. Development morphology and vitamin B12 uptake in the rat yolk sac.
Develop. Biol., 13, 311-348

Palay, S.L., Karlin, L.J., 1959
An electron microscopic study of the intestinal villus. I. The fasting animal.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 11, 736-739.

- Palay, S.L., Karlin, L.J., 1959
An electron microscopic study of the intestinal villus. II. The pathway of fat absorption.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 5, 373-383.
- Passano, L.M., 1960
Molting and its control.
The physiology of crustacea. I metabolism and growth. T.H. Waterman. Acad. Press, 473-527.
- Pearse, A.G.E., 1968
Common cytochemical properties of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells and calcitonin.
Proc. R. Soc., 170, 71.
- Pearse, A.G.E., Coulling, I., Weawers, B., Friesen, S., 1970
The endocrine polypeptide cells of the human stomach, duodenum and jejunum.
Gut, 11, 649-658.
- Pierre, M., 1935
L'hepatopancreas des Pagures.
Trav. Stat. Biol. Roscoff., XIII, 177-208.
- Pillai, R.S., 1960
Studies on the shrimps Caridina laevis (Meller). I the digestive system.
J. Mar. Biol. Assoc. India, 2: 57-74.
- Pictet, R.L., Clark, W.R., Williams, R.H., Rutter, W.J., 1972
An ultrastructural analysis of the developing embryonic pancreas.
Dev. Biol., 29, 436-437.
- Pike, R.B., 1947
Galathea.
L.M.B.C. Mem. 26, Liverpool Univ. press Liverpool.
- Poquet, M., 1982
Datos ultraestructurales de las concreciones minerales en las células epiteliales del intestino medio de Lernanthropus kroyeri Van Beneden (Crustacea, Copepoda), parásito de Dicentrarchus labrax.
Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.), 80, 119-129.
- Poquet, M., 1985
Dades preliminars sobre la localització de cèl.lules endocrines a l'intestí de copèpodes parasits.
Treb. Soc. Cat. Biol., 38, 45-51

- Potten C.S., 1981
Cell replacement in epidermis (keratopogenesis) via discrete units of proliferation.
Int. Rev. of Cytol., 69, 271-318
- Ratcliffe, N.A., Rowley, A.F., Fitzgerald, S.W., Rhodes, C.P., 1985
Invertebrate immunity: Basic concepts and recent advances.
Int. Review of Cytol., 97, 183-348
- Renaud, L., 1949
Le cycle des réserves organiques chez les Crustacés Décapodes.
Ann. Inst. Oceanogr., 24, 260-357.
- Revel, J.P., Karnovsky, M.J., 1967
Hexagonal array of subunits in intracellular junctions of the mouse heart and liver.
J. Cell Biol., 33, c7-c12.
- 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.
- Ribes, E., 1987
Ultraestructura de las láminas anilladas en oocitos de *Hemidiaptomus rouhani*. (Copepoda, Cellanoida).
Biología del Desarrollo, 5, 26-39
- Roberts, D.K., Marshall, R.B., Wharton, J., 1970
Cancer, 25, 947-958
- Rodewald, R., 1973
Intestinal transport of antibodies in the newborn rat.
J. Cell Biol., 58, 189-211.
- Rodewald, R., 1980
Distribution of immunoglobulin G receptor in the small intestine of the young rat.
J. Cell Biol., 85, 18-32
- Rombout, J.H.W.M., 1977
Enterendocrine cells in the digestive tract of Barbus conchonus (Teleostei, Cyprinidae).
Cell Tiss. Res., 185, 435-450.
- Rombout, J.H.W.M., Bol, J., Taverne-Thiele, J.J., 1986
Ultrastructural characterization of 6 immunoreactive enteroendocrine cells in Barbus conchonus (Teleostei, cyprinidae).
Histochemistry, 85, 467-473.

- Rombout, J.H.W.M., Lamers, C.H.J., Helfrich, M.H., Dekker, A., Taverne-Thiele, J.J., 1985
Uptake and transport of intact macromolecules in the intestinal epithelium of carp (Cyprinus carpio L.) and the possible immunological implications.
Cell Tissue Res, 239, 519-530.
- Rombout, J.H.W.M., Stroband, H.W.J., Taverne-Thiele, J.J., 1984
Proliferation and differentiation of intestinal epithelial cells during development of Barbus conchionius (Teleostei, Cyprinidae).
Cell Tissue Res., 236, 207-216.
- Rombout, J.V.H.M., 1985
Function and origin of endocrine cells in gut and pancreas of teleosts.
Acta microscopica, 8 n° 3, 329-335.
- Rowley, F.A., 1982
Ultrastructural and cytochemical studies on the blood cells of the sea squirt, Ciona intestinalis. I. Stem cells and amoebocytes.
- Sabesin, S.M., Frase, S., 1977
Electron microscopic studies of the assembly, intracellular transport and secretion of chylomicrons by rat intestine.
J. Lipid Res, 18, 496-511.
- Sachs, G., Berglindh, T., 1981
Physiology of the parietal cell.
a Physiology of the gastrointestinal tract.
ed. L.R. Johnson, Raven Press New York, 567-602.
- Sagrìstà, E., 1984
Estudio del complejo de Golgi en las células F (fibrilar cells) del hepatopàncreas de Palaeomonetes zariquieyi
I congreso Ibèrico de microscopia electronica. Ronda (Sevilla).
- Sagrìstà, E., 1987
Estudio de los tipos celulares del hepatopàncreas de Palaeomonetes zariquieyi (Crustacea, Decapoda).
Invest. Pesq., 51 (supl.1), 495-504.
- Saint-Hilaire, 1892
Sur la rèsorption chez l'Ecrevisse.
Bull. Ac. Royale Belgique
- Sardà, F., 1980
Contribución al conocimiento de la biologia de Nephrops norvegicus (L). Estudio del ciclo de intermuda.
Tesis doctoral de la Universitat de Barcelona.

- Sardet, C., Pizam, M., Maetz, J., 1979
The surface epithelium of tetrostean fish gills. Cellular and junctional adaptation of the chloride cells in relation to salt adaptation.
J. Cell Biol., 80, 96-117.
- Schmitz, E.H., Scherry, P.M., 1983
Digestive anatomy of Hialella azteca (Crustacea, Amphipoda).
J. of morphol., 175, 91-100.
- Scow, R.O., Blanchette-Makie, M.G., Wetzell, M.G., Rinilla, A., 1983
Lipid transport in tissue by lateral movement in cell membranes. a The adipocyte and obesity: Cellular and molecular mechanism.
Angel, A., Hollenberg, Ch.H., Roncari, D.A.K. (ed.)
Raven Press, N.Y., 165, 170.
- Seligman, A.M., Wasserkrug H.L., Hanker, J.S., 1966
A new staining method (OTO) for enhancing contrast of lipid-containing membranes and droplets in osmium tetroxide fixed tissue with osmiophilic thiocarbonylhydrazide (TCH).
J. Cell Biol. 30:424-432
- Sesma, P., Villaro, A.C., Agos, C., Vazquez, J.J., 1982
A microscopic study of the hepatopancreas of Antrapotamobius ballines (Crustacea, Decapoda).
Morfol. Norm. y Pat., 6(2), Secc. A, 239.
- Shervey, P., 1966
Observations on the development and histochemistry of the intestinal inclusion bodies of the suckling rat.
Anat. Rec., 154, 422.
- Sibalin, M., Björkman, N., 1966
On the fine structure and absorptive function of the porcine jejunal villi during the early suckling period.
Exp. Cell Res, 44, 165-174
- Simionescu, N., Simionescu, M., 1976
Galloylglucoses of low molecular weight as mordant in electron microscopy. I Procedure, and evidence for mordanting effect.
J. Cell Biol., 70, 608-621
- Sire, M.F., Lutton, C., Vernier, J.M., 1981
New views on intestinal absorption of lipids in teleostean fishes: an ultrastructural and biochemical study in the rainbow trout.
J. of lipid res., 22, 81-94.
- Sire, M.F., Vernier, J.M., 1979
Formation de VLDL intestinales endogènes. Etude ultrastructurale sur un nouveau modèle, l'embryon et l'adulte, à jeun, de Truite.
Biol. Cellulaire, 35, 271-280.

- Sire, M.F., Vernier, J.M., 1981
 Etude ultrastructurale de la synthèse de chylomicrons au cours de l'absorption intestinale des lipides chez la Truite. Influence de la nature des acides gras ingérés.
 Biol. Cell, 40, 47-62.
- Skwarzec, B., Kentzer-Baczewska, A., Styczynska-Jurewicz, E., Neugebauer, E., 1984
 Influence of Accumulation of Cadmium on the Content of Other Microelements of Two Species of Black Sea Decapods.
 Bull. Environ. Contam. Toxicol., 32, 93-101.
- Solcia, E., Capella, G., Vassallo, G., Buffa, R., 1975
 Endocrine cells of the gastric mucosa.
 Int. Rev. Cytol., 42, 223-286.
- Sollaud, E., 1939
 Sur un Palaemonetes endémiques P. zariquieyi, n.sp. localisé dans la plaine littorale du golfe de Valence.
 Trav. Stat. Zool. Wimereux, 13, 635-645.
- Spurr, A.R., 1969
 A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy.
 J. Ultrastr. Res., 26, 36-43.
- Stanier, J.E., Woodhouse, M.A., Griffin, R.L., 1968
 The fine structure of the hepatopancreas of Carcinus maenas (L) (Decapoda, Brachyura).
 Crustaceana, 14, 56-66.
- Stevenson, J.R., 1961
 Polyphenol oxidase in the tegmental glands in relation to the molting cycle of the isopod Crustacean Armadillidium vulgare.
 Biol Bull, 121, 554-560
- Storch, 1987
 Microscopic anatomy and ultrastructure of the stomach of Porcellio scaber (Crustacea, Isopoda).
 Zoomorphology, 106, 301-311.
- Stroband, J.W.H., Debets, F.M.H., 1978
 The ultrastructure and renewal of the intestinal epithelium of the juvenile grass carp, Ctenopharyngodon idella (Val.).
 Cell Tissue. Res., 187, 181-200.
- Takahashi, Y., Mizunuma, T., 1984
 Cytochemical of fat absorption.
 Int Rev of Cytology, 89, 115-135

- Tanoue, S., 1962
Electron microscopy of the hepatopancreas in the crayfish.
Procambarus clarkii.
Kumamoto J. Sci. Ser. B 6, 1-12.
- Tchernigovtzeff, C., 1965
Multiplication cellulaire et régénération au cours du cycle
d'intermue des Crustacés Décapodes.
Arch. Zoo. exp. gen., 106 (3), 377-497.
- Thiéry, J.P., 1967
Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique.
J. Microsc., 6, 987-1018.
- Thorndyke, M.C., Bevis, P.J.R., 1978
Endocrine cells in the gut of ascidian Styela clava.
Cell Tissue Res., 187, 159-165
- Toner, P.G., 1968
Cytology of intestinal epithelial cells.
Int. Rev. Cytol., 24, 233-343.
- Travis, F., 1957
The molting cycle of the spiny lobster, Panulirus argus Latralle
M. Postecdysial histochemical changes in the hepatopancreas and
integumental tissues.
Biol. Bull., 113, 451-479.
- Trier, J.S., Moxey, P.C., 1980.
Epithelial cell proliferation in the intestine of the winter
flounder, Pseudopleuronectes americanus.
Cell Tissue Res., 206, 379-385.
- Trotter, N., 1967
Electron opaque bodies and fat droplets in mouse liver after
fasting or glucose injection.
J. Cell Biol., 34, 703-711.
- Van Noorden, S., Greenberg, J., Pearse, A.G.E., 1972
Cytochemical and immunofluorescence investigations on polypeptide
hormone localization in the pancreas and gut of larval lamprey.
Gen. comp. Endocr., 19, 192-199.
- Van Weel, P.B., 1955
Processes of secretion, restitution, and resorption in gland of
midgut (glandula media intestini) of Atya spinipes Newp.
Physiol. Zool., 28, 40-54.
- Van Weel, P.B., 1974
"Hepatopáncreas?"
Comp. Biochem. Physiol., 47A, 1-9.

- Van Warmhoudt, A., Sellos, D., 1981
Modification of synthesis and acetylation of hepatopancreas chromatin components in Palaemon serratus during the intermolt cycle.
Comp. Biochem. Physiol., 68B, 49, 56.
- Van Warmhoudt, A., 1983
Variations immunoquantitatives de l'α amylase au cours du cycle d'intermue à différentes saisons chez Palaemon serratus (Crustacea: Decapode: Natantia).
Marine Biology, 74, 127, 132.
- Vilaró, S., 1986
Lipoproteïna lipasa en fetge. Inducció, caracterització i localització.
Tesis doctoral. Universitat de Barcelona.
- Vodovar, N., Flechon, J.E., 1966
La cellule épithéliale absorbante de l'intestin grêle du pore.
Ultrastructure. Ann. Biol. anim, 6, 13-32.
- Wakayama, Y., Bonilla, E., Schotland, D.L., 1981
Lamellar bodies associated with satellite cells of human skeletal muscle.
J. electron Microsc., 30, 3, 198, 204.
- Weber, M., 1880
Über den band die tätigkeit der sog-leber der crustaceen.
Arch. mikr. Anat., 17, 385-457.
- Wigglesworth, U.B., 1972
The principles of insect physiology.
Ed. London Chapman & Hall.
- Yamamoto, T., 1966
An electron microscope study of the columnar epithelial cell in the intestine of fresh water teleosts: goldfish (Carassius auratus) and rainbow trout (Salmo irideus).
Z. Zellforsch, 72, 66-87.
- Yamamoto, T., 1982
Ultrastructural basis of intestinal absorption.
Arch. histol. jap., 45, 1, 1-22.
- Yonge, C.M., 1924
Studies on the comparative physiology of digestion. II. The mechanism of feeding, digestion and assimilation in Nephrops norvegicus.
J. Exp. Biol., 1, 343-389.

- Youson, J.H., Connelly, K.L., 1978
Development of longitudinal mucosal folds in the intestine of the anadromous sea lamprey Petromyzon marinus (L.) during metamorphosis.
Can. J. Zool., 56, 2364-2371.
- Youson, J.H., Langille, R.M., 1981
Proliferation and renewal of the epithelium in the intestine of young adult anadromous sea lampreys, Petromyzon marinus L.
Canadian Journal of Zoology, 59, 12, 2341-2349.
- Youson, J.H., Horbert, W.R., 1982
Transformation of the intestinal epithelium of the larvae anadromous sea lamprey Petromyzon marinus L., during metamorphosis.
J. of Morphology, 171, 89-117.
- Youson, J.H., Sargent, P.A., Sidon, E.W., 1983.
Iron loading in the liver of parasitic adult lampreys, Petromyzon marinus L.
Am. J. Anat., 168, 37-49.
- Zariquey, R., 1968
Crustáceos decápodos ibéricos.
Investigación pesquera, 32, 171.
- Zaviacic, M., Brozman, M., Jakubovsky, J., 1976
Influence of fasting and stimulation on the rat gastric endocrine cells. Histochemie, 49, 315-326.
- Zeligs, J.D., Wollman, S.H., 1979
Mitosis in rat thyroid epithelial cells in vivo. III Cytokinesis.
J. Ultrastr. Res., 66, 97-108.

ICONOGRAFIA

ABREVIATURES

Complex de Golgi: G
Bàrbules: B
Cavitat dorsal: CD
Cèl.lula fagocítica: I
Cèl.lula proliferativa: E
Cèl.lula absorbent: R
Cèl.lula fibril·lar: F
Cèl.lula vacuolada: B
Cons: asterisc
Cossos densos: cd
Cromosomes: c
Cutícula: C
Epiteli ventral: EV
Epiteli dorsal: ED
Esòfag: E
Fibra muscular: fm
Granulòcits: II
Hepatopàncreas: H
Intesti: I
Invaginacions basals: Iv
Làmina basal: Lb
Lípid: L
Lisosoma: I
Membrana externa: ME
Microvillis: Mv
Mitocondri: M
Nucli: N
Partícules lipoproteiques: V₁
Reticle endoplasmàtic: RE
Rostre del cefalotòrax: R
Sedes: S
Testicle: T
Unió estreta: ZA
Vasos hemolinfàtics: V
Vesícules de transició: vt

LAMINA 0:

FIG. 1.- Mètode convencional: contrastat amb acetat d'urànil i citrat de plom. Regió apical d'una cèl.lula R. Microvillis (Mv); cos dens amb sistema membranos interconnectat (fletxa); mitocondris (M). (6.300x).

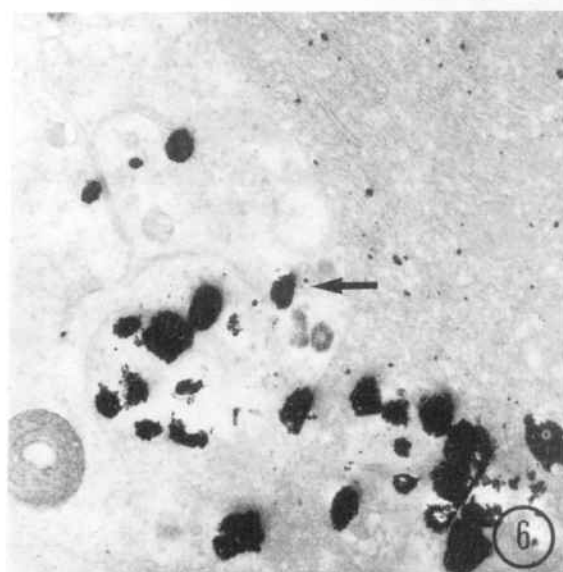
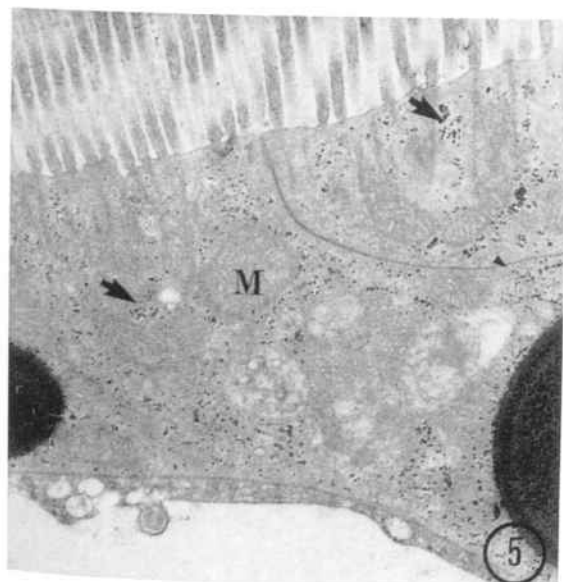
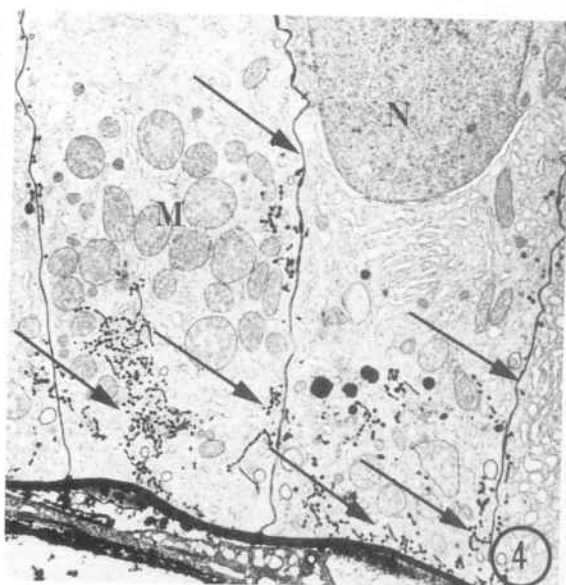
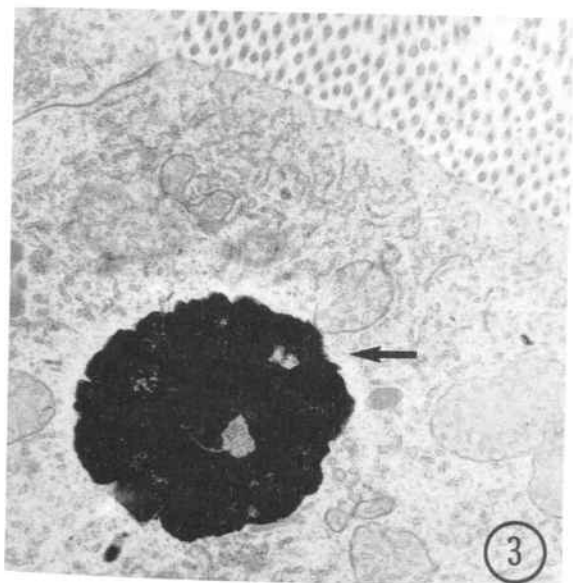
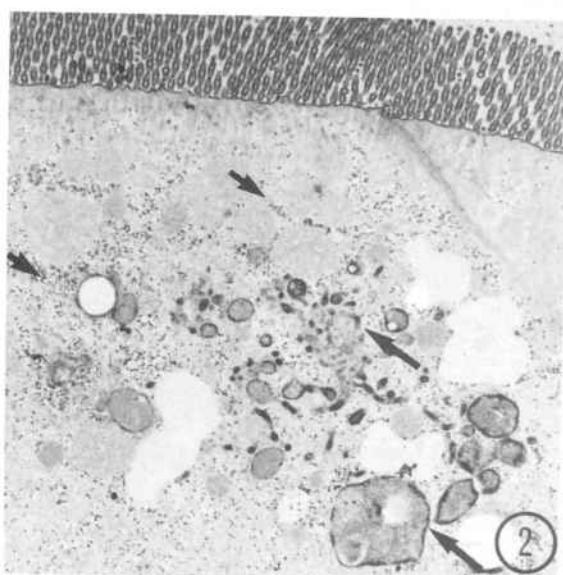
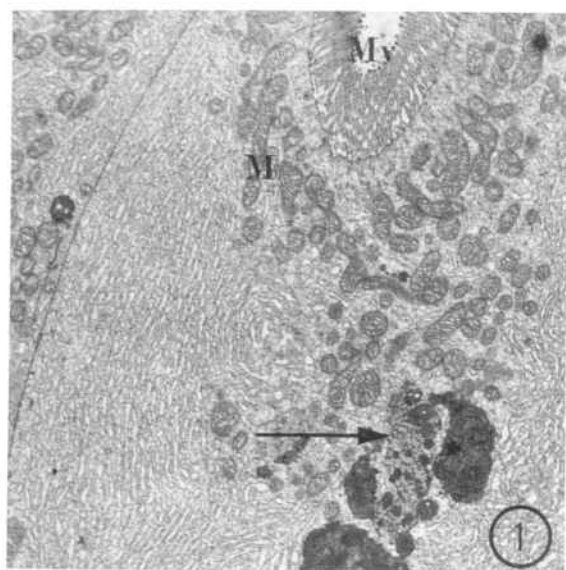
FIG. 2.- Tècnica del P.T.A. (àcid fosfotúngstic). Es pot veure els grànuls de glicogen (fletxa), els microvillis i els cossos densos (fletxa grossa) marcats per aquesta tècnica específica per a les glicoproteïnes i els glúcids. (8.700x).

FIG. 3.- Tècnica del piroantimoniàt. Util per determinar la presència d'ions Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} . Es pot veure com en els cossos densos hi ha positivitat a la tècnica (fletxa). (11.400x).

FIG. 4.- Tècnica de l'àcid tànnic. Tècnica utilitzada per a marcar l'espai intercel.lular (fletxa). Es poden veure les invaginacions de la membrana lateral i basal d'una cèl.lula R. Es veuen també amb més contrats la làmina basal i les miofibrilles de les fibres musculars. Nucli (N), mitocondris (M).(4.200x).

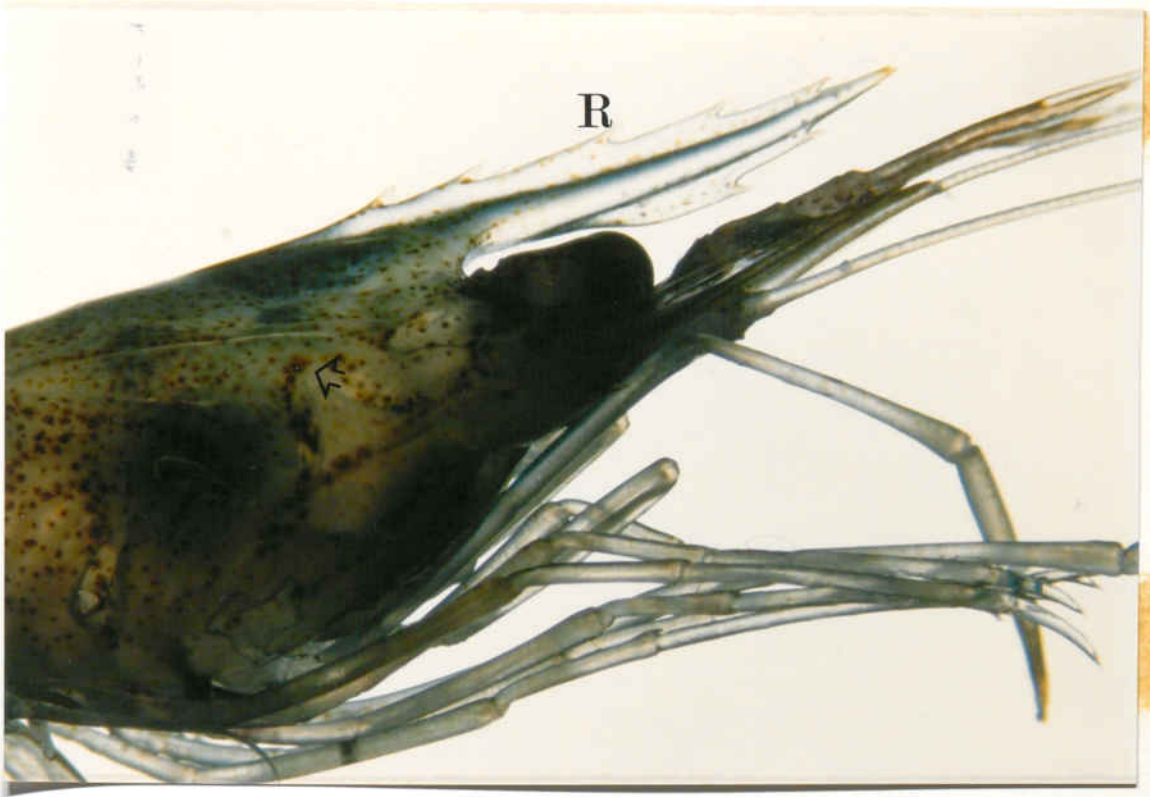
FIG. 5.- Tècnica de Thiéry. Amb aquesta tècnica es posa de manifest el material glucídic de les cèl.lules, es pot veure marcat específicament el glicogen (fletxa) present en les cèl.lules R. (19.500x).

FIG. 6.- Tècnica de la fosfatasa àcida, mètode Gomori. Tècnica per determinar activitat de l'enzim fosfatasa àcida (fletxa), localitzat en els lisosomes de les cèl.lules R. (23.220x).



LAMINA I:

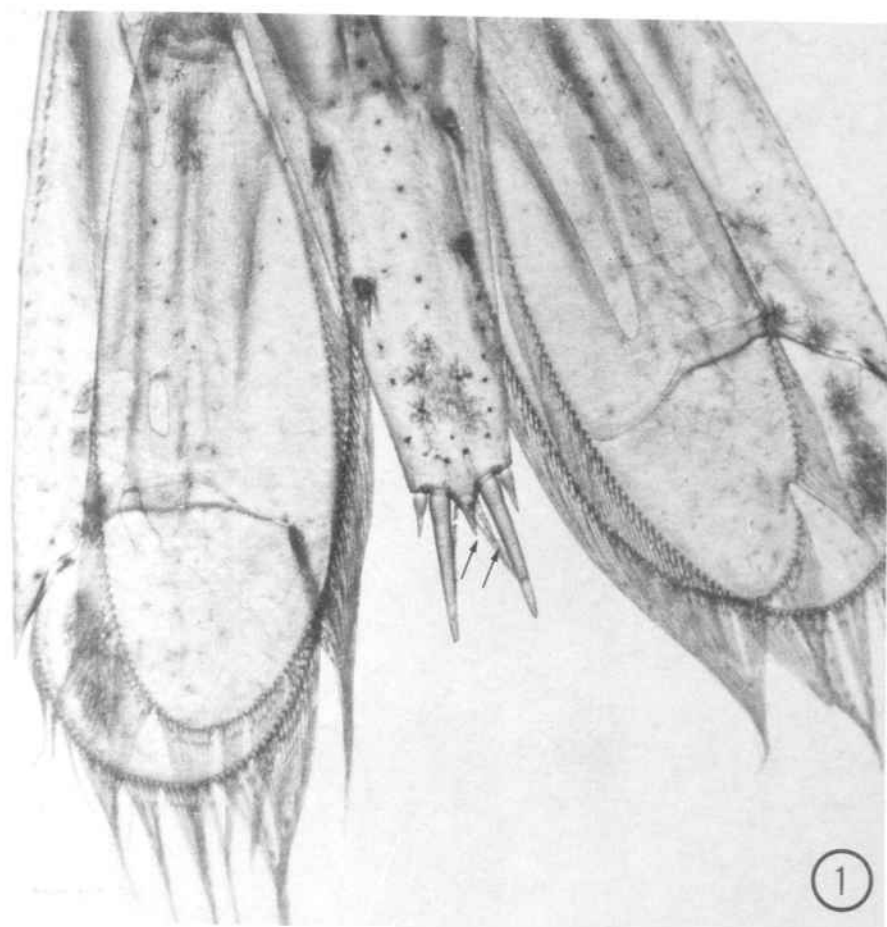
FIG. 1.- Cefalotòrax de *Palaemonetes zariquieyi*. Es pot observar el rostre (R) característic de l'espècie; els cromatòfars de la cutícula (fletxa), i, per transparència, la glàndula digestiva (H). (10x).



LAMINA II:

FIG. 1.- Telsi i uropodi de Palaemonetes zariquieyi. s'observa les furques i sedes característiques de l'espècie (fletxes). (25x).

FIG. 2.- Segon pleopodi modificat d'un mascle de Palaemonetes zariquieyi. (473x).

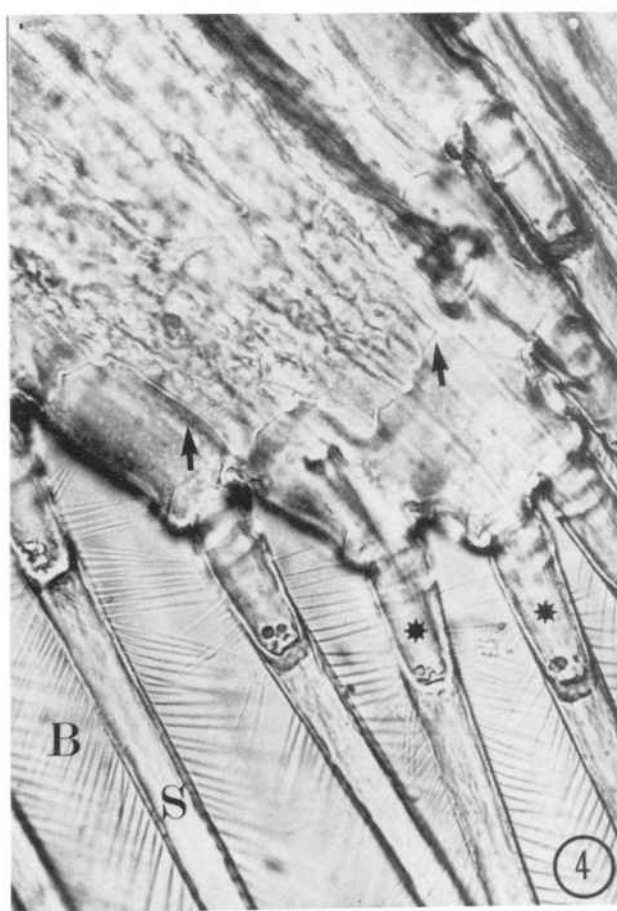
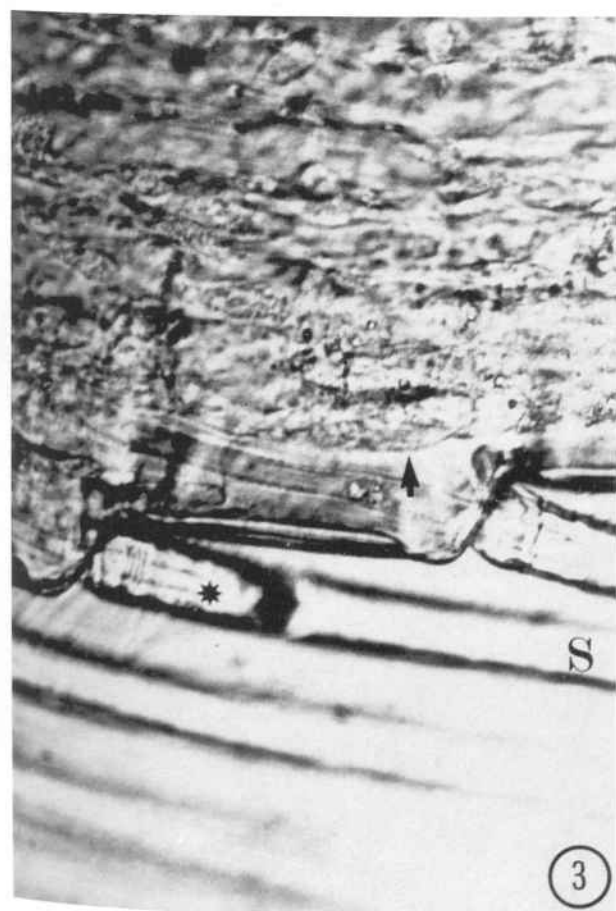
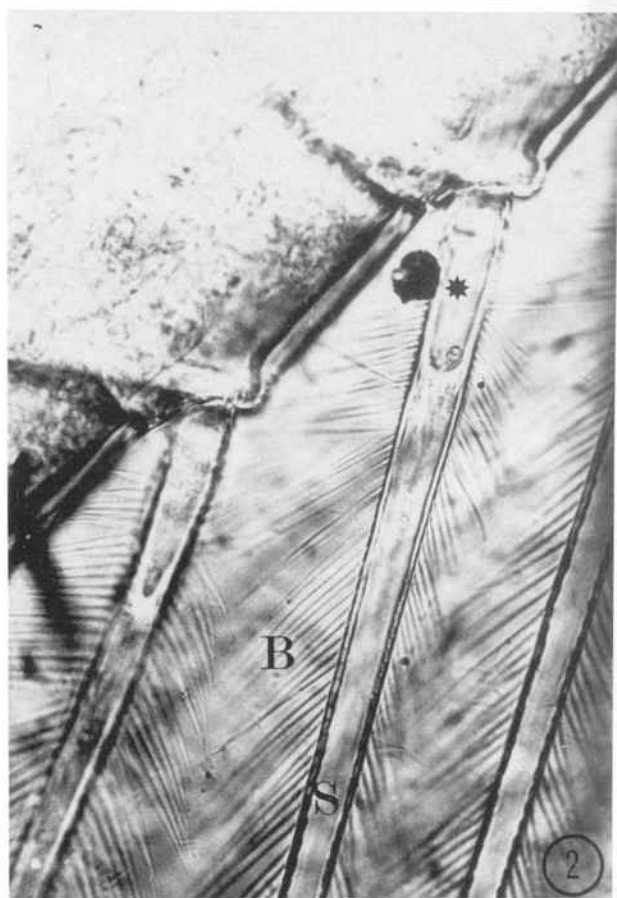
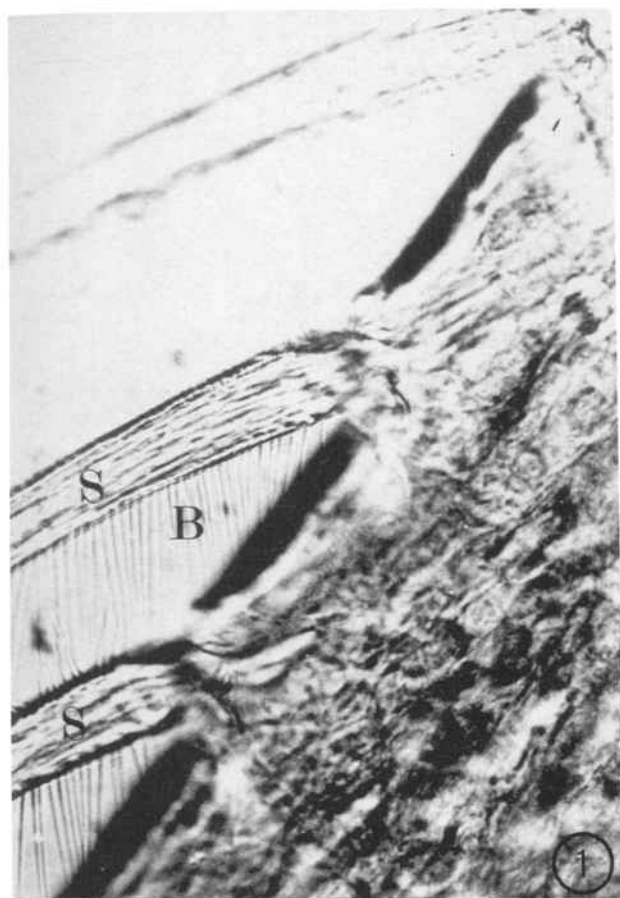


LAMINA III:

FIG. 1.- Pleopodi de *Palaemonetes zariquieyi* en estadi de postmuda: període A. Destaquen les sedes (S) que s'observen plenes i en aquest estadi del cicle de muda no tenen con. Bàrbules (B). (473x).

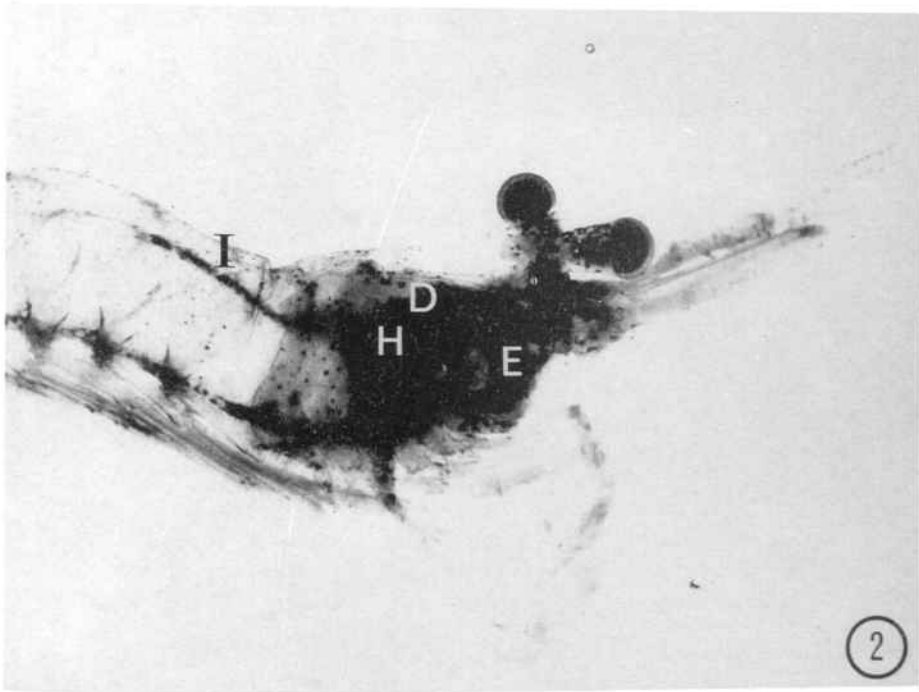
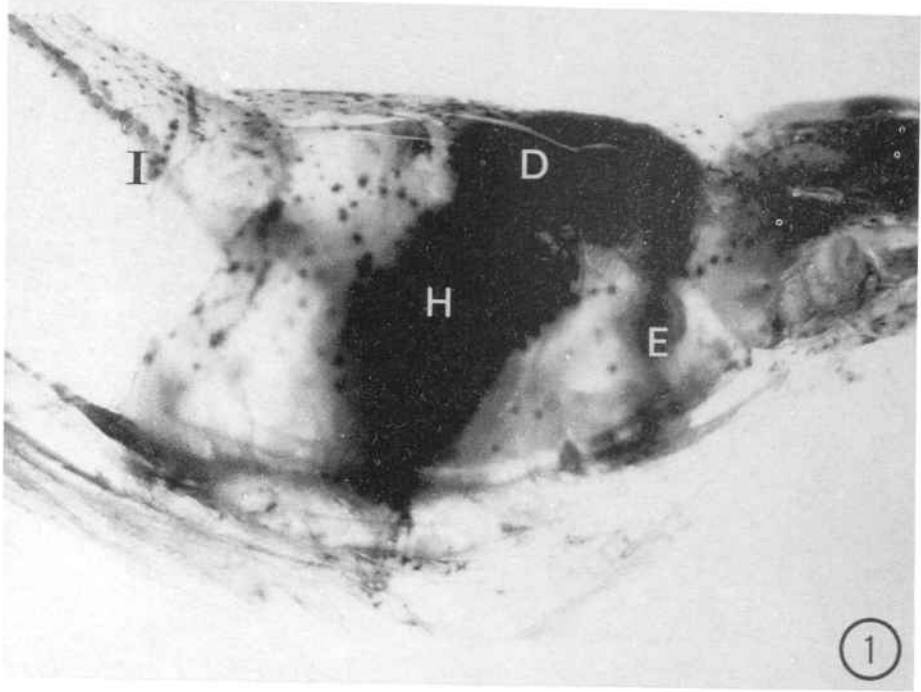
FIG. 2.- Pleopodi en estadi d'intermuda: període C. Vegeu a la base de les sedes el característic con (asterisc). Sedes (S); bàrbules (B). (473x).

FIG. 3 i 4.- Pleopodis en estadi de premuda: període D. Vegeu com per sota de la cutícula s'observa la presència d'una nova cutícula (fletxa). Con (asterisc); sedes (S); bàrbules (B). (473x).



LAMINA IV:

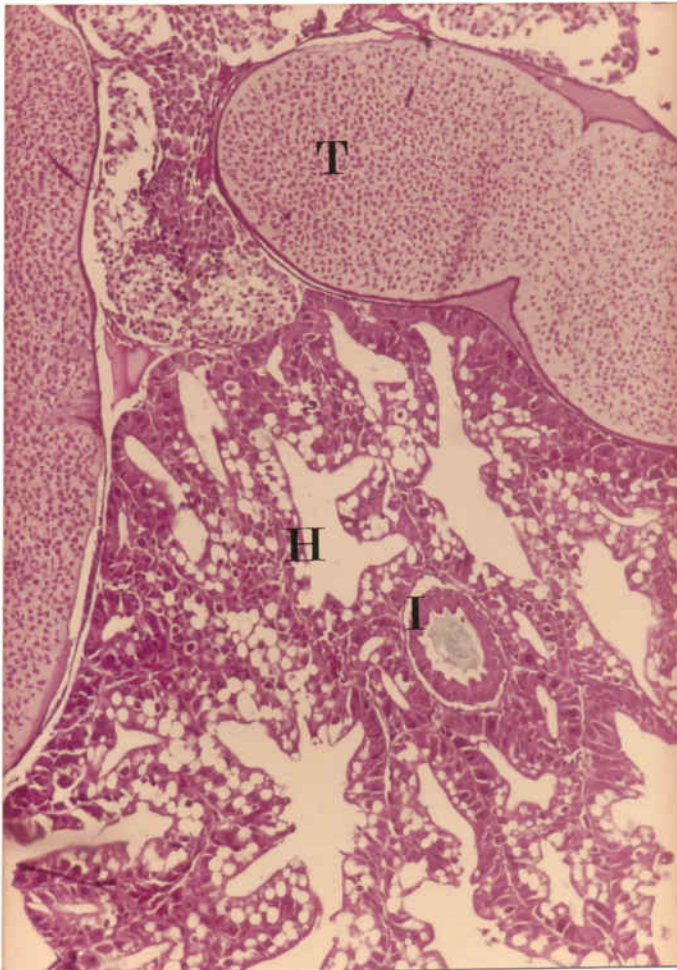
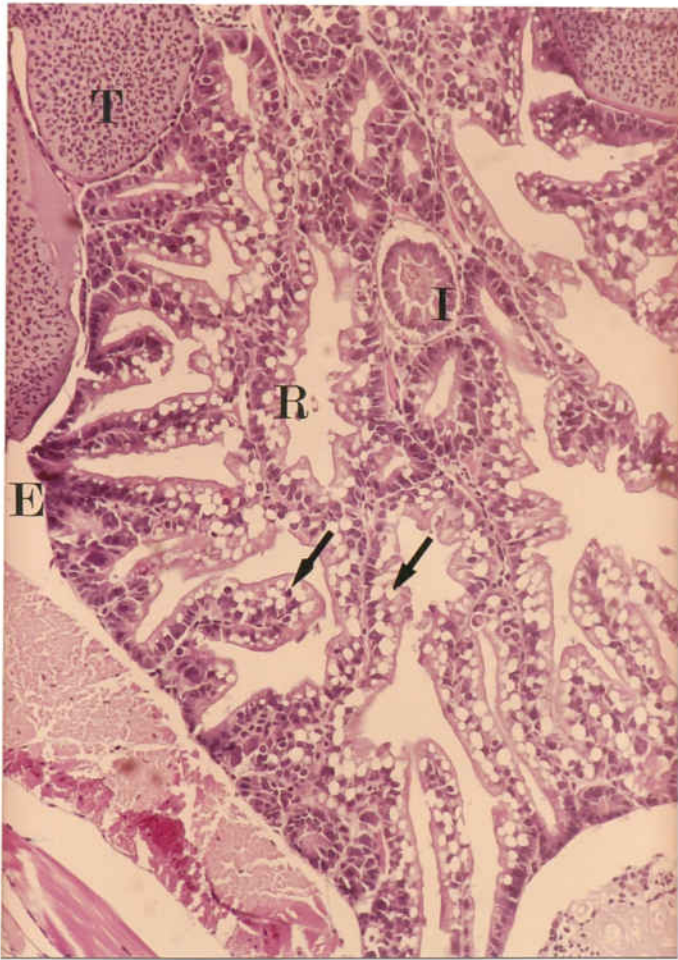
FIG. 1 i 2.- Anatomia del tracte digestiu de Palaemonetes zariquieyi. Després de tenir l'animal amb aigua que contenia partícules de carbó actiu, es diferencia millor el tracte digestiu. Esòfag (E); diverticle dorsal (D), hepatopàncreas (H); íntestí (I). **FIG. 1:** animal mantingut 3 hores amb aigua amb partícules de carbó actiu. (5x). **FIG. 2:** a les 24 hores, vegeu com les partícules de carbó arriben a l'intestí. (2x).



LAMINA V:

FIG. 1.- *Imatge general de l'hepatopàncreas. S'observa la regió terminal dels túbuls constituïda per cèl.lules E (E) i la regió més proximal rica en cèl.lules absorbents (R), que contenen inclusions lipídiques (fletxa). Testicle (T); intestí (I). Parafina, hematoxilina-eosina. (75x).*

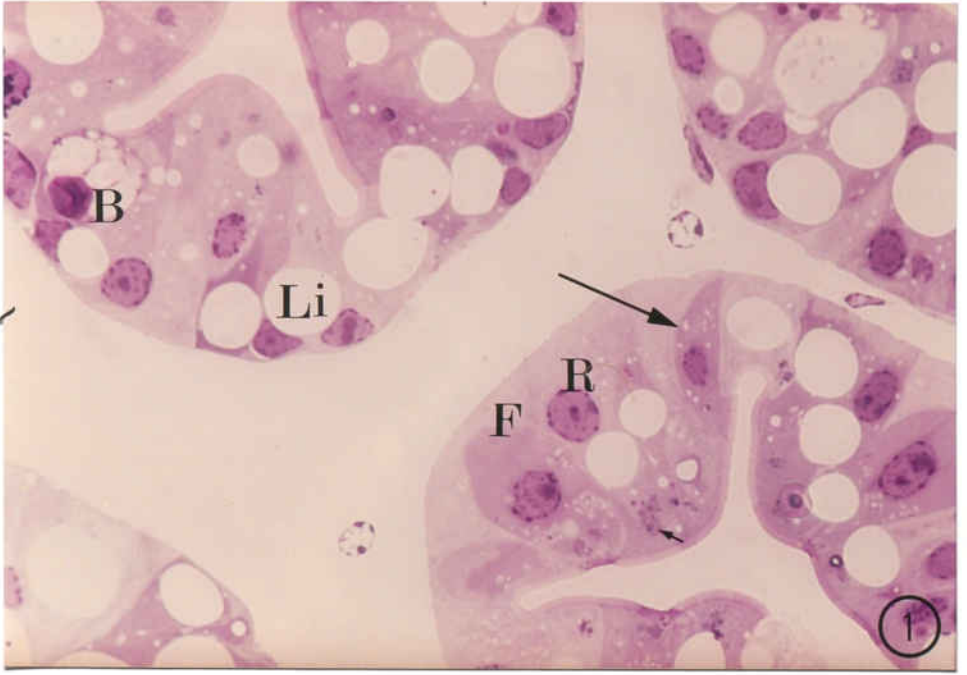
FIG. 2.- *Visió general de l'hepatopàncreas. En l'interior de l'intestí (I) s'observa reacció positiva a la tècnica utilitzada, per determinar presència de ferro. Hepatopàncreas (H); testicle (T). Parafina, tècnica de P.E.R.L.S.. (75x).*



LAMINA VI:

FIG. 1.- *Túbuls de l'hepatopàncreas, s'observen tres tipus cel·lulars: cèl·lula absorbent (R) amb lípids (Li) i cossos densos (fletxa); cèl·lula fibril·lar (F) amb el citoplasma més basòfil i Golgis dilatats (fletxa grossa); cèl·lula vacuolada (B) amb el citoplasma vacuolitzat. Spurr, coloració Flores. (1.100x).*

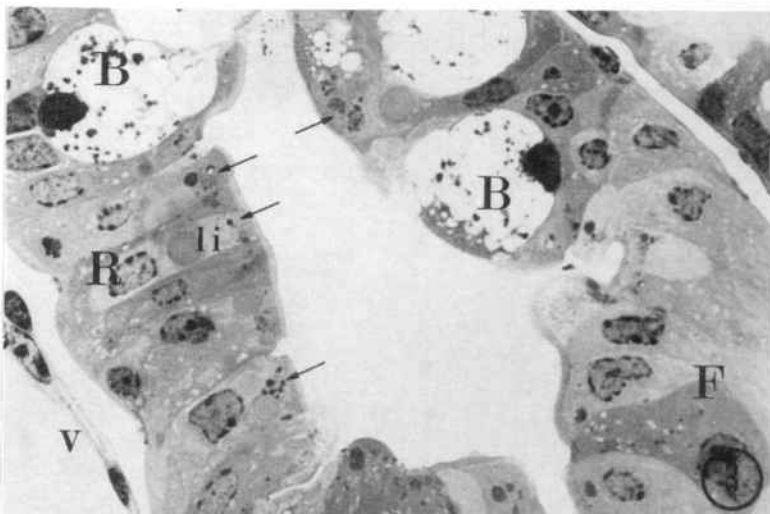
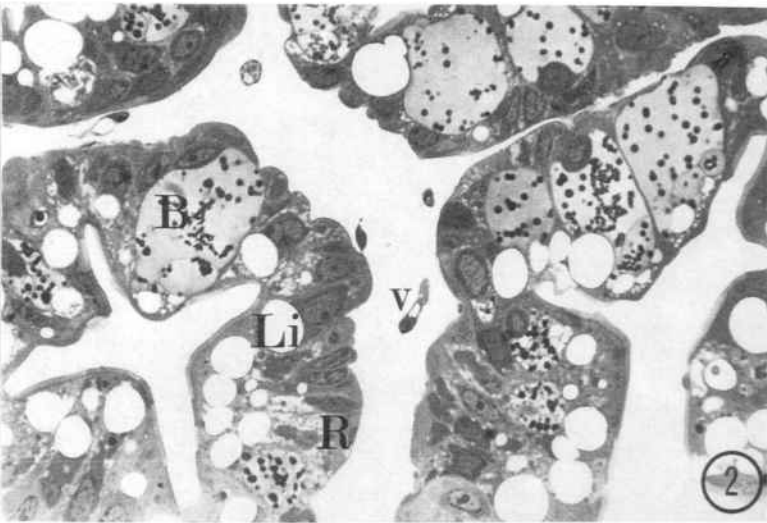
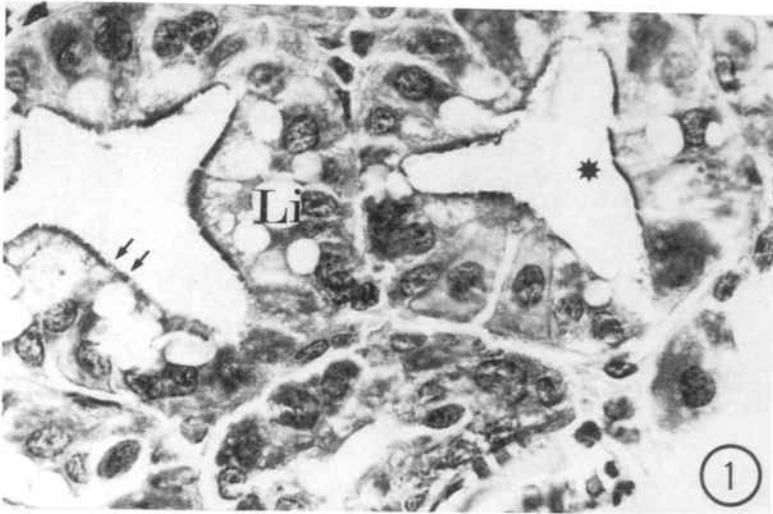
FIG. 2.- *Hepatopàncreas i molinet gàstric. S'observa la presència de calci en la cutícula del molinet gàstric (fletxa grossa). Parafina, Roig d'alizarina. (1.100x).*



LAMINA VII:

FIG. 1.- Secció transversal dels túbuls de l'hepatopàncreas. Llum dels túbuls (asterisc), xapa (fletxes), gotes lipídiques (Li). Parafina, hematoxilina-eosina. (550x).

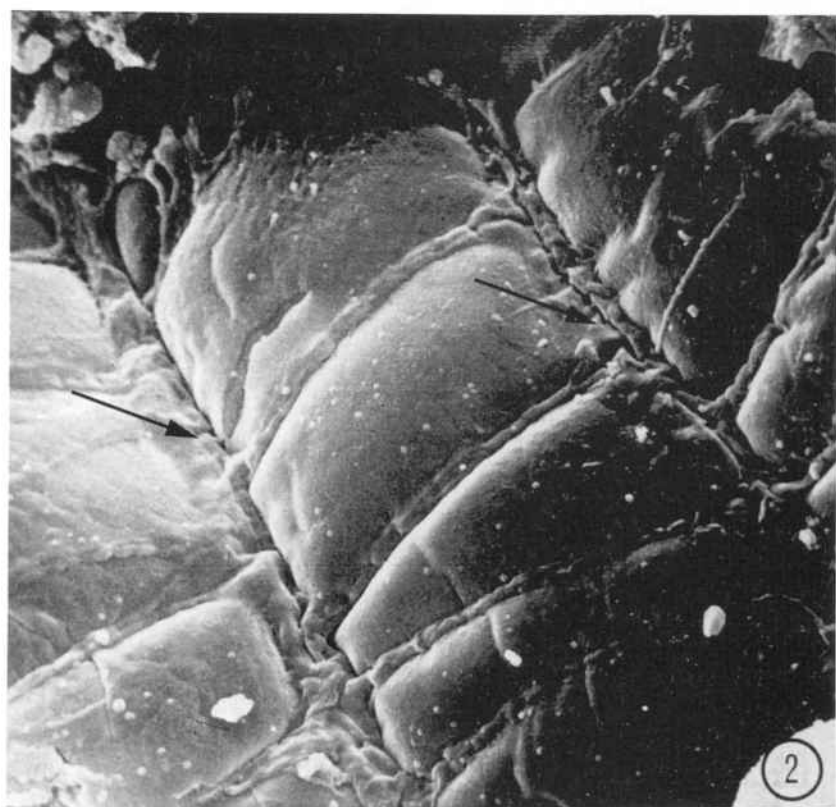
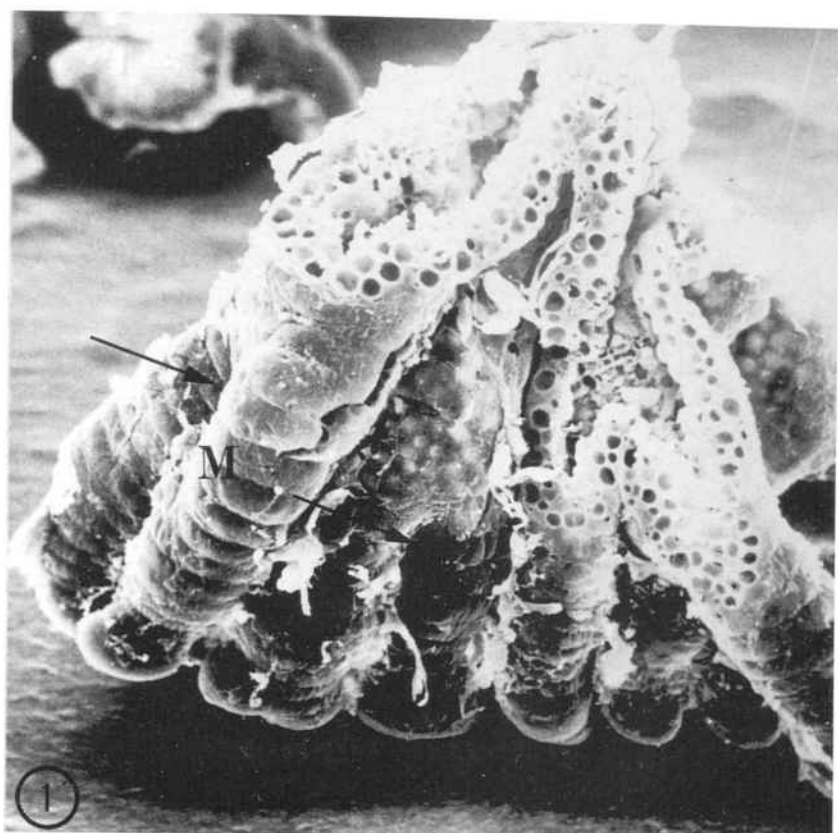
FIG. 2 i 3.- Secció transversal dels túbuls de l'hepatopàncreas. Es poden distingir els tres tipus cel·lulars: absorbent (R) amb gotes lipídiques (Li) i cossos densos a la regió apical (fletxa); cel·lules fibril·lar (F) amb citoplasma basòfil; cel·lules vacuolades (B) amb el citoplasma molt vacuolat. Entre els túbuls s'observen vasos hemolinfàtics (V). Spurr, blau de metilè. (550x).



LAMINA VIII:

FIG. 1.- *L'aspecte tubular de l'hepatopàncreas queda patent en aquesta imatge obtinguda amb el microscopi electrònic de rastreig: s'observa la bifurcació dels túbuls (fletxa), la disposició anular i periòdica de la musculatura (M) i com els túbuls glandulars acaben cecs. Microscopi electrònic de rastreig. (147x).*

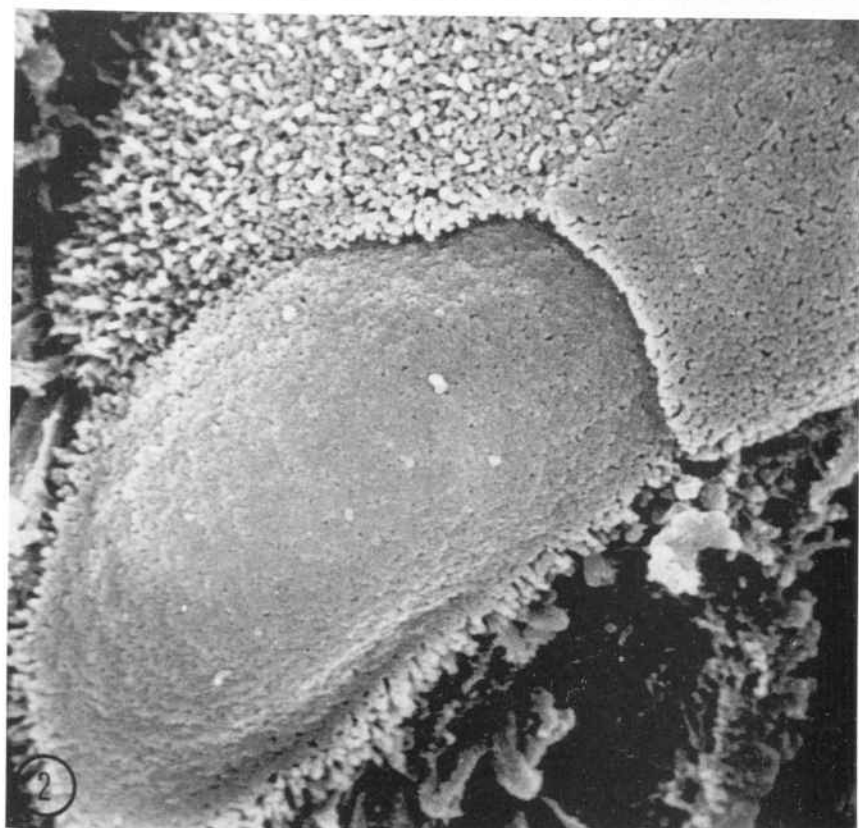
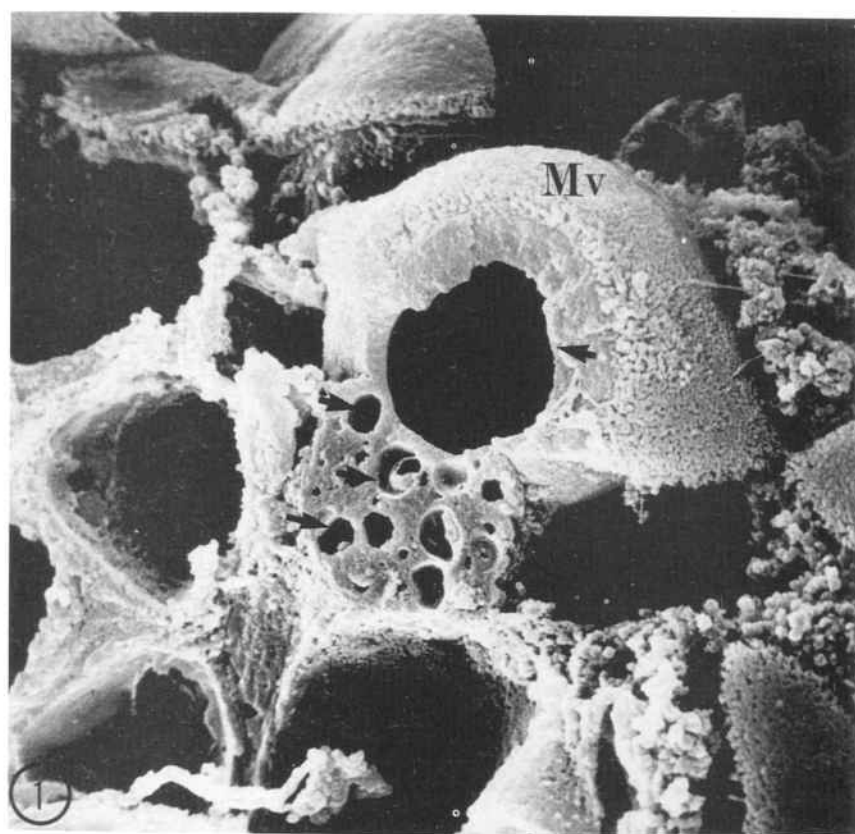
FIG. 2.- *Imatge de la musculatura en l'hepatopàncreas de Palaemonetes zariquieyi, que periòdicament envolta els túbuls glandulars de l'hepatopàncreas (fletxa) . Microscopi electrònic de rastreig. (1.961x).*



LAMINA IX:

FIG. 1.- Cèl.lula B (vacuolada): es poden distingir els vacuols que caracteritzen aquest tipus cel.lular (fletxa). Microvillis (Mv). Microscopi electrònic de rastreig. (1.993x).

FIG. 2.- Microvillis de les cèl.lules epitelials de l'hepatopàncreas, podem veure una diferent morfologia segons el tipus cel.lular. Microscopi electrònic de rastreig. (4.929x).



LAMINA X:

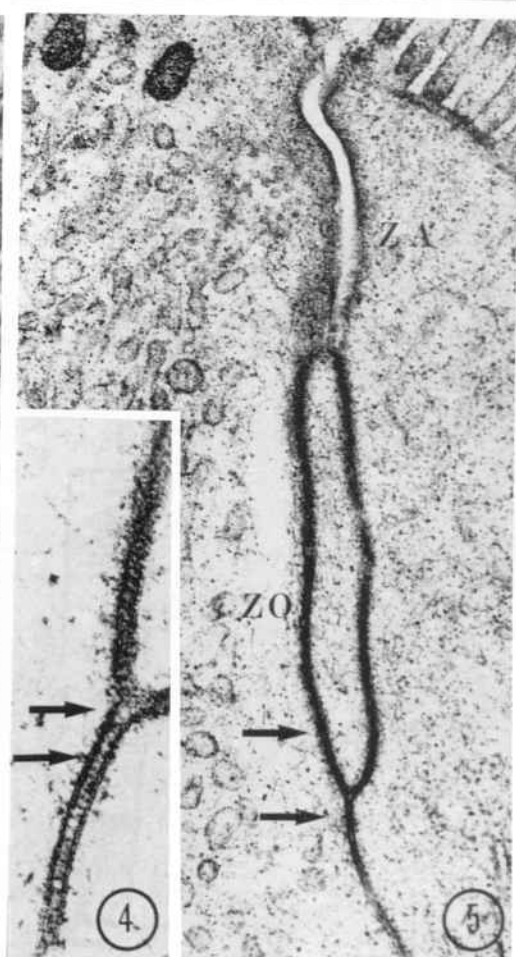
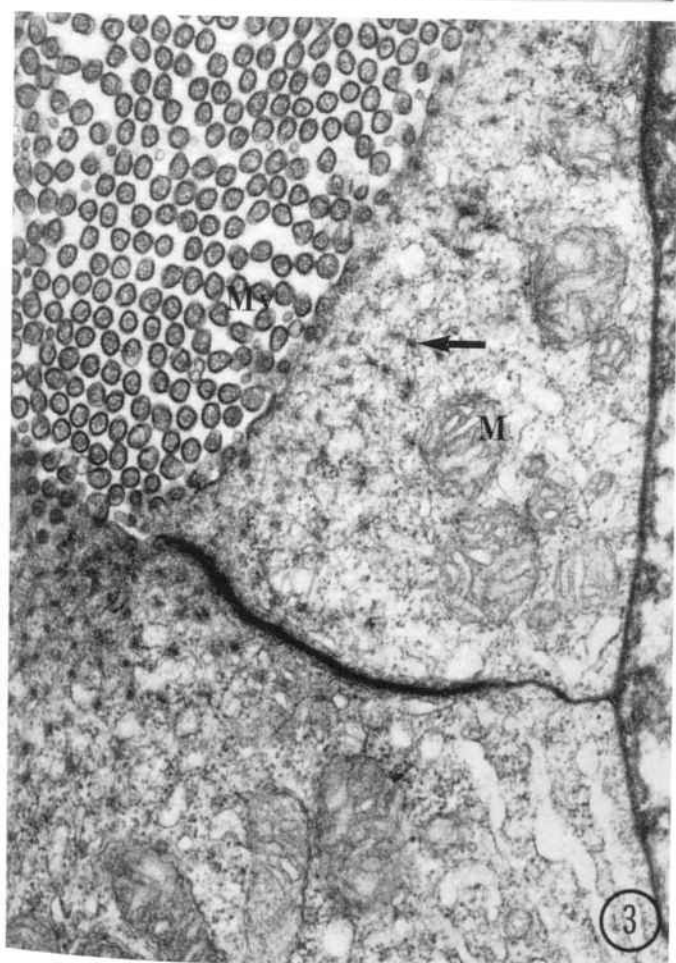
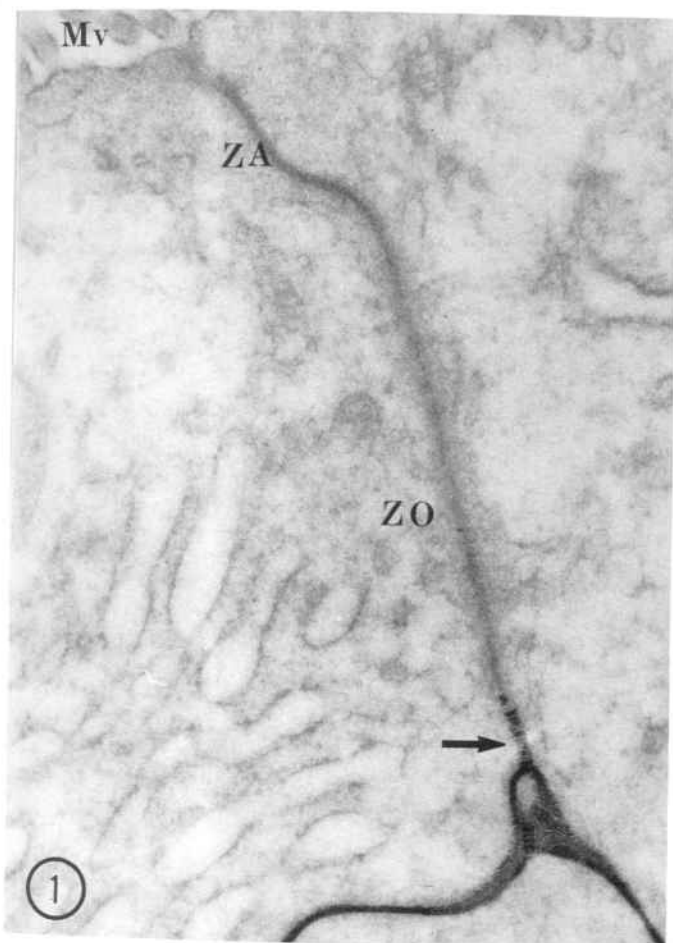
FIG. 1.- Zona d'unió. Utilitzant la tècnica del nitrat de lantà s'observen els septes presents a l'unió de tipus septat llis, i com aquest traçador no ha penetrat en tota l'unió. Microvillis (Mv); zonula adherens (ZA); regió on no ha penetrat el nitrat de lantà (ZO); unió septada de tipus llis (fletxa). Nitrat de lantà. (47.400x).

FIG. 2.- Detall de l'anterior: el contacte septat de tipus llis en una regió de contacte tricel.lular. S'observa el recorregut sinuós dels septes. Nitrat de lantà. (61.740x).

FIG. 3.- Zones d'unió entre les cèl.lules del hepatopàncreas. Zonula adherens, s'observa la presència de material electrodens en l'espai intercel.lular i en la cara interna de la membrana cel.lular. Microvillis (Mv); mitocondri (M); arrels microviliars (fletxa). AUR. (25.920x).

FIG. 4.- Detall d'unió septada (detall de Fig. 5). AUR. (116.100x).

FIG. 5.- Zona d'unió entre les cèl.lules epitelials de l'hepatopàncreas: la zonula adherens (ZA), unió del tipus septat (fletxa). AUR. (38.250x).

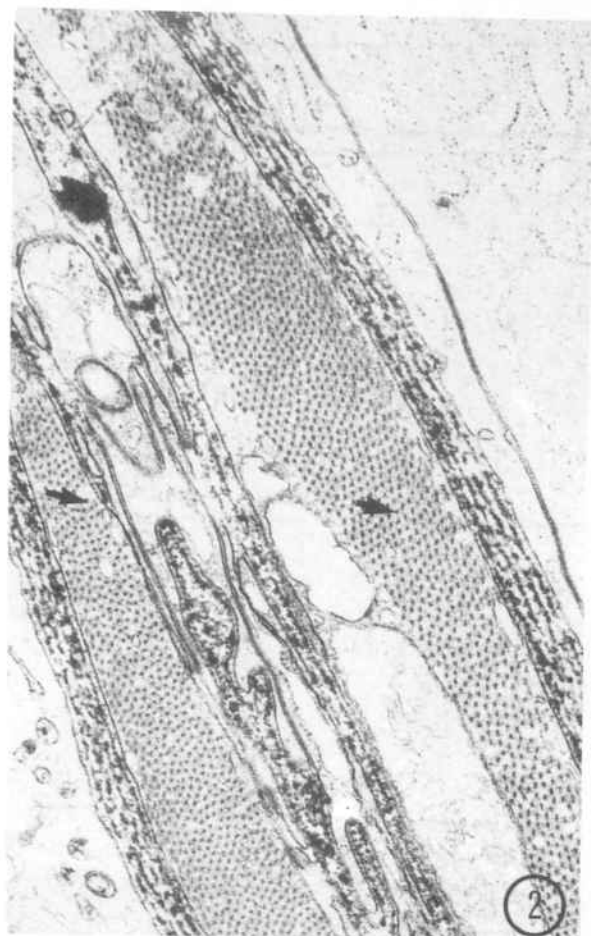


LAMINA XI:

FIG. 1.- Nucli d'una cèl.lula muscular (N) amb una disposició perifèrica de la heterocromatina i presència d'alguns grumolls en el nucleoplasma. Resaltem la disposició de les miofibril·les (fletxa) pròximes a la làmina basal (Lb) de l'hepatopàncreas. (10.810x).

FIG. 2.- Fibres musculars. Les miofibril·les (fletxa) queden altament contrastades a l'utilitzar àcid tànnic durant la fixació. Tècnica àcid tànnic. (22.140x).

FIG. 3.- Fibra muscular, tallada transversalment. S'observa la disposició ròmbica de les miofibril·les. Làmina basal (Lb), mitocondri (M). Tècnica O.T.O. (29.250x).



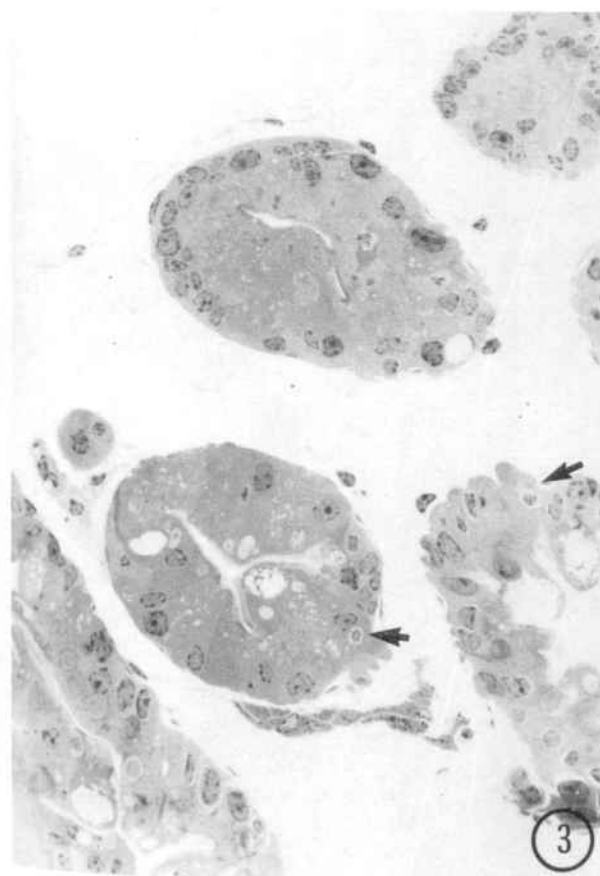
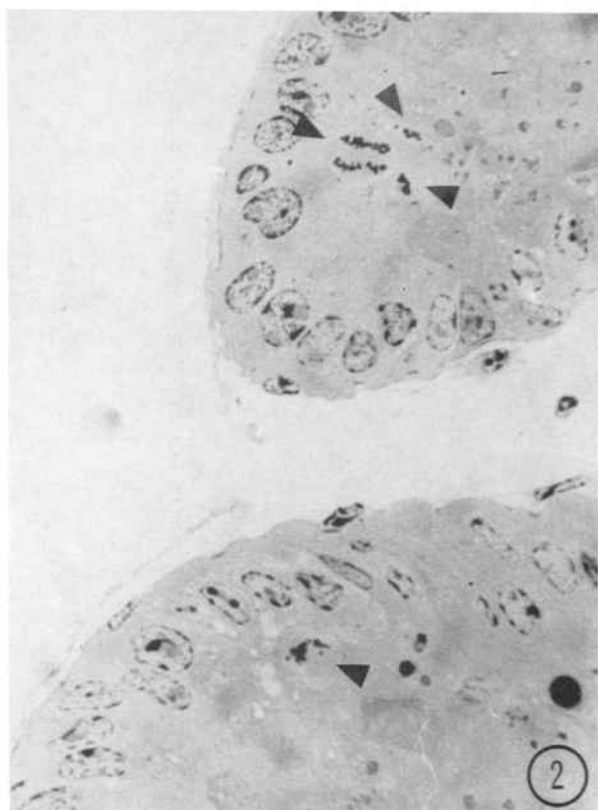
LAMINA XII:

FIG. 1.- Zona terminal del túbul de l'hepatopàncreas. En aquesta regió es localitzen les cèl.lules E, i figures de mitosi (caps de fletxa). Spurr, blau de metilè. (450x).

FIG. 2.- Regió terminal del túbul de l'hepatopàncreas. S'observa la distribució característica de l'heterocromatina de les cèl.lules E, així com cèl.lules en divisió (caps de fletxa). Spurr, blau de metilè. (450x).

FIG. 3.- Cèl.lules endocrines. Observeu la presència de cèl.lules endocrines (fletxa) en els túbuls de l'hepatopàncreas. Spurr, blau de metilè. (180x).

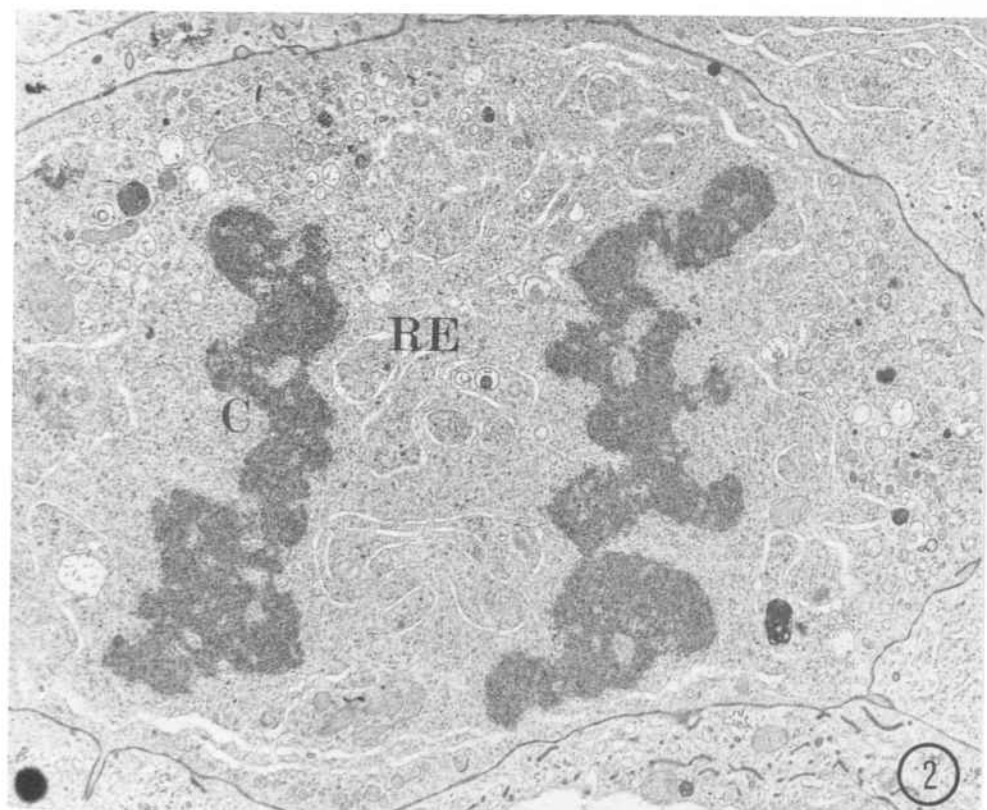
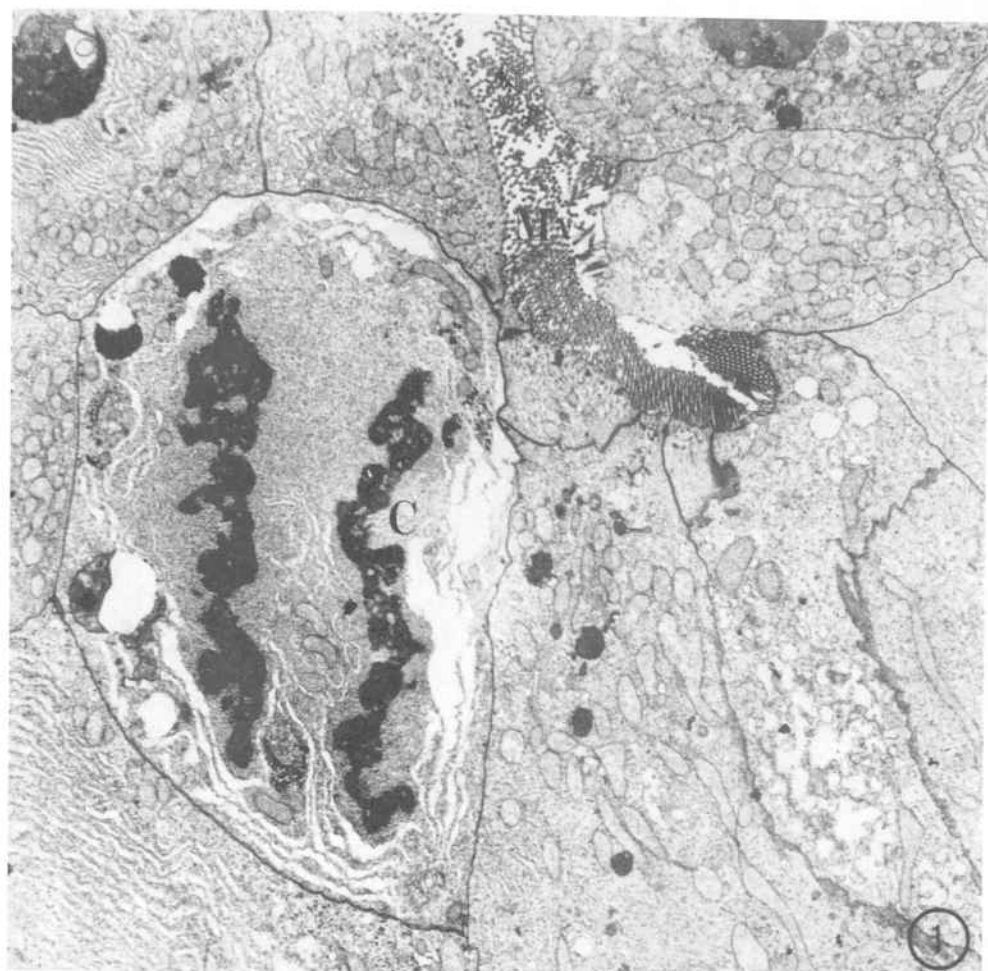
FIG. 4.- Cèl.lules E (E), s'observen cèl.lules en divisió (cap de fletxa). Musculatura tallada transversalment (fletxa). Microscopi electrònic de rastreig, ratjos dispersats, semifilamentari. Spurr. (1.400x).



LAMINA XIII:

FIG. 1.- *Cèl.lula en mitosi, s'observen els cromosomes (C) en anafase. Microvillis (Mv). (6.300x).*

FIG. 2.- *Cèl.lula en divisió. En destaquem les curtes vesícules de reticle endoplasmàtic (RE) i la seva disposició concèntrica. Cromosomes (C). (7.920x).*



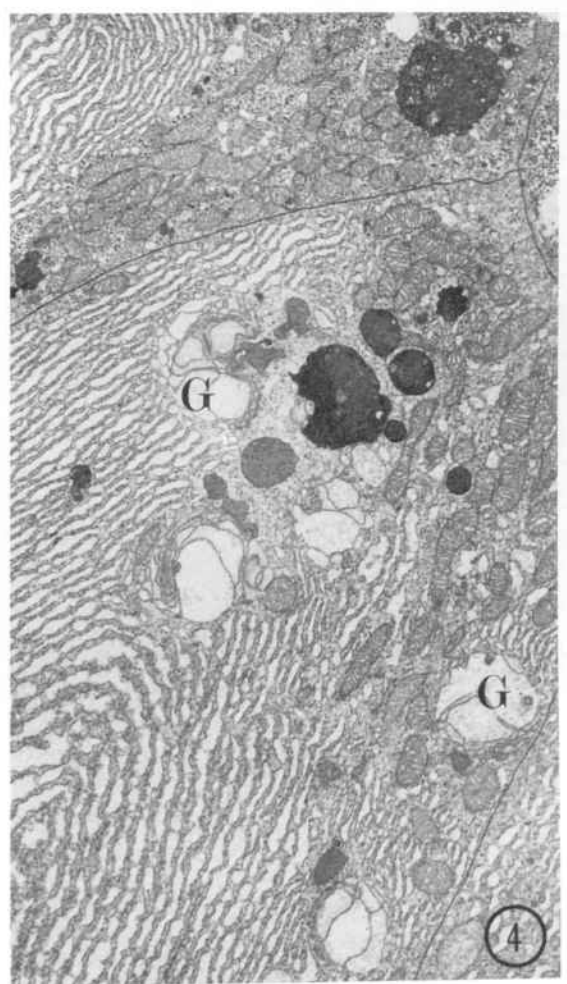
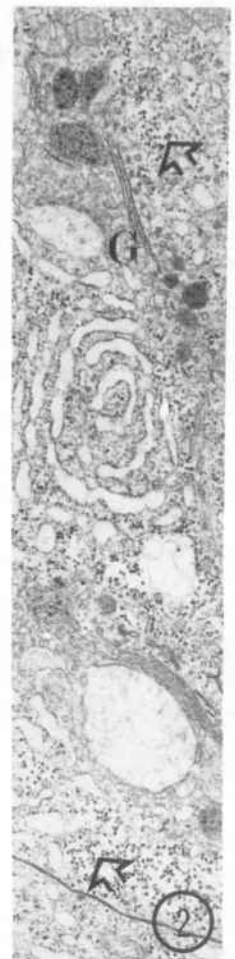
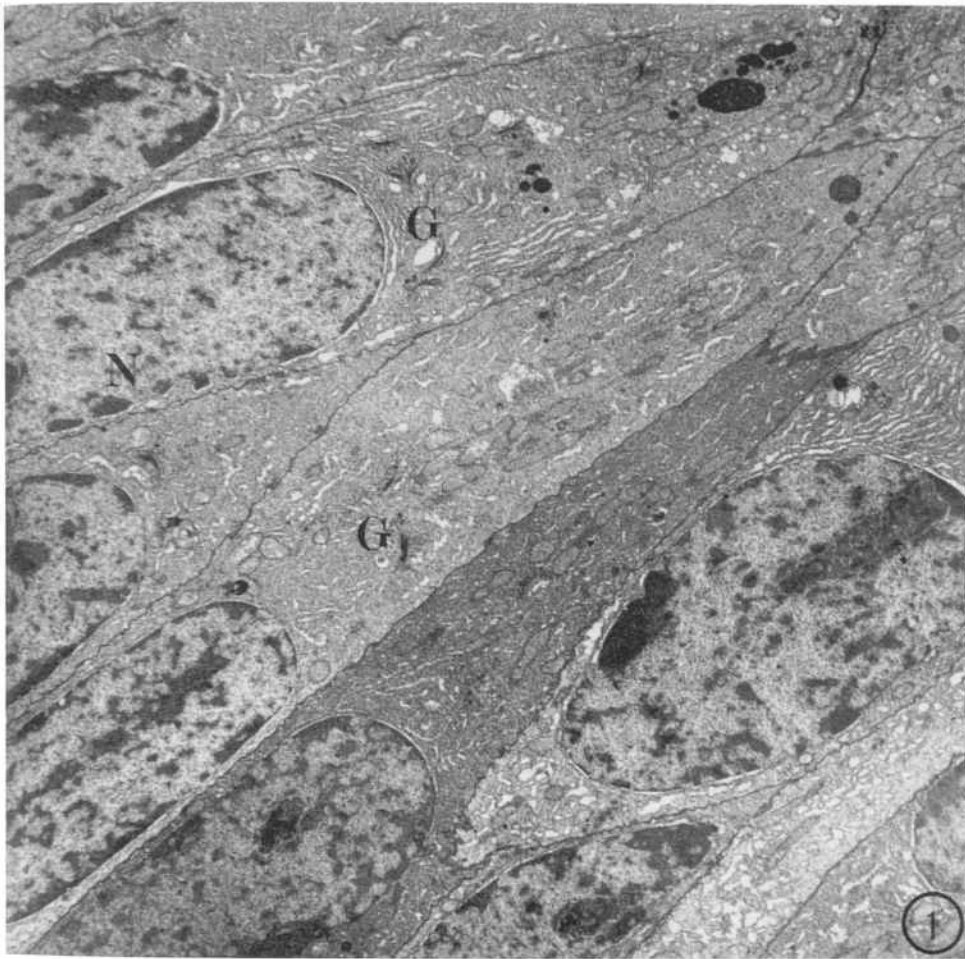
LAMINA XIV:

FIG. 1.- Cèl.lules E, destaca el nucli, (N), ovalat i amb heterocromatina dispersa, observeu que les característiques citoplasmàtiques permeten preveure una diferenciació cap a cèl.lules tipus absorbent (cèl.lules R) o fibril·lar (cèl.lules F). Aparell de Golgi (G). (3.010x).

FIG. 2.- Aparell de Golgi d'una cèl.lula E, (G), les seves característiques són semblants a les d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R). Glicogen (fletxa). (16.340x).

FIG. 3.- Detall d'un dictiosoma (G) d'una cèl.lula E en divisió. Cromosoma (C). (37.050x).

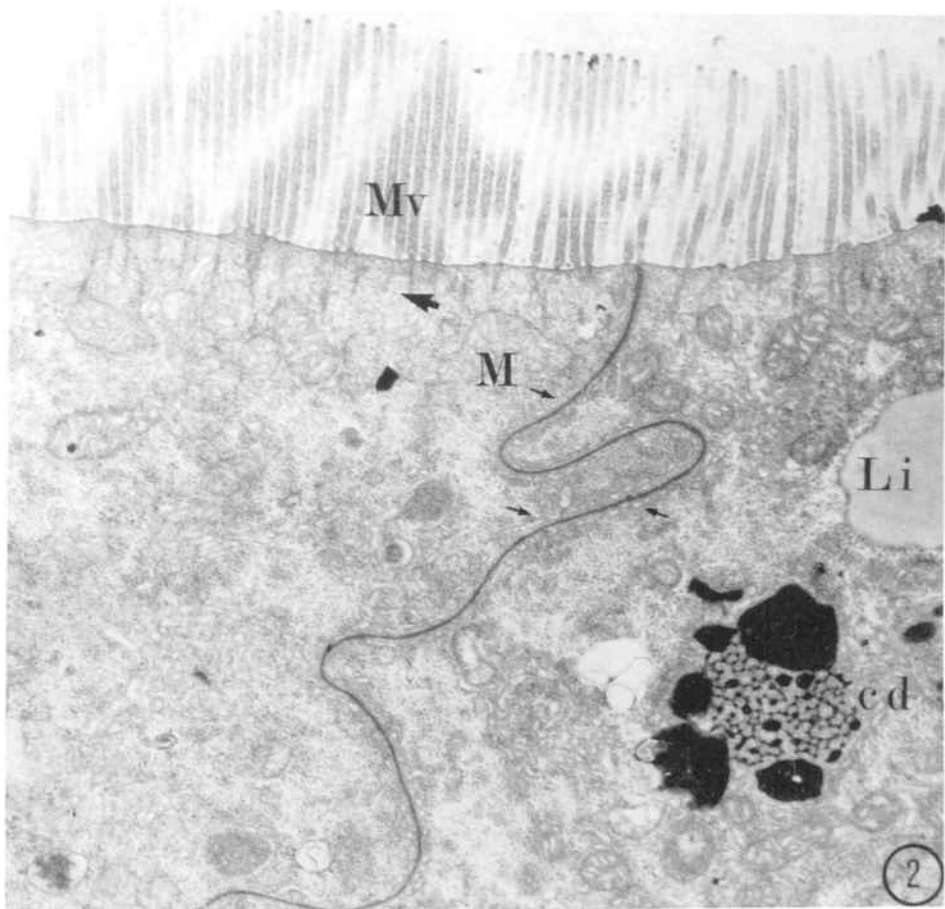
FIG. 4.- Diversos dictiosomes (G) d'una cèl.lula E, les seves característiques, en aquest cas, són semblants a les d'una cèl.lula F. (6.020x).



LAMINA XV:

FIG. 1.- *Característiques generals de les cèl·lules absorbents (cèl·lula R). Microvillis (Mv); lípid (Li); cossos densos (cd) ; mitocondris (M); vesícules amb lipoproteïnes (fletxa); invaginacions de la membrana lateral (caps de fletxa); nucli (N); làmina basal (Lb). (4.200x).*

FIG. 2.- *Regió apical d'una cèl·lula absorbent (cèl·lula R). Tècnica de l'àcid tànnic. Destaca la connexió entre els cossos densos (cd), vegeu la disposició paral·lela de les vesícules del reticle endoplasmàtic (fletxa) a les membranes laterals. Microvillis (Mv); arrels dels microvillis (fletxa) molt pròximes als mitocondris (M); lípid (Li). (14.500x).*

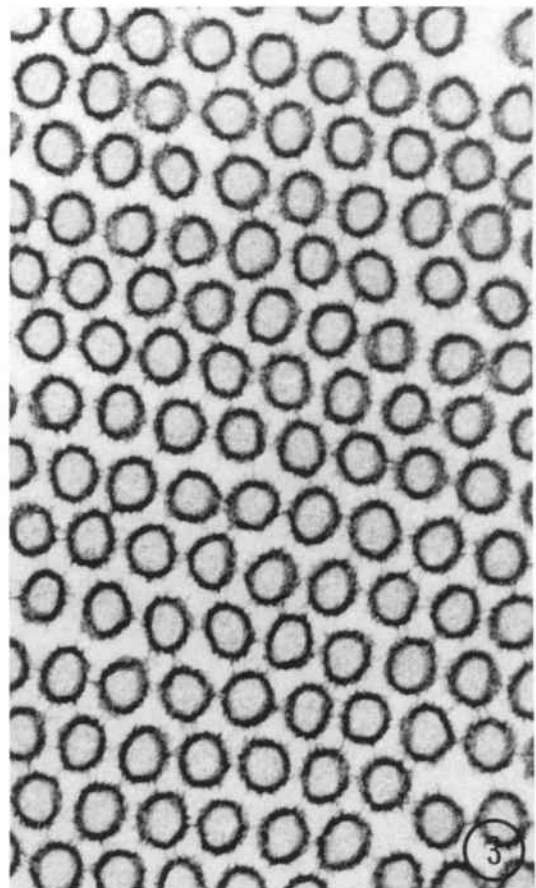
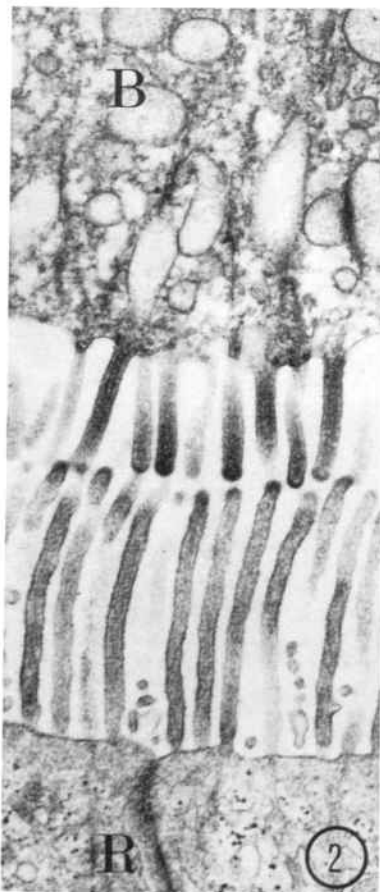
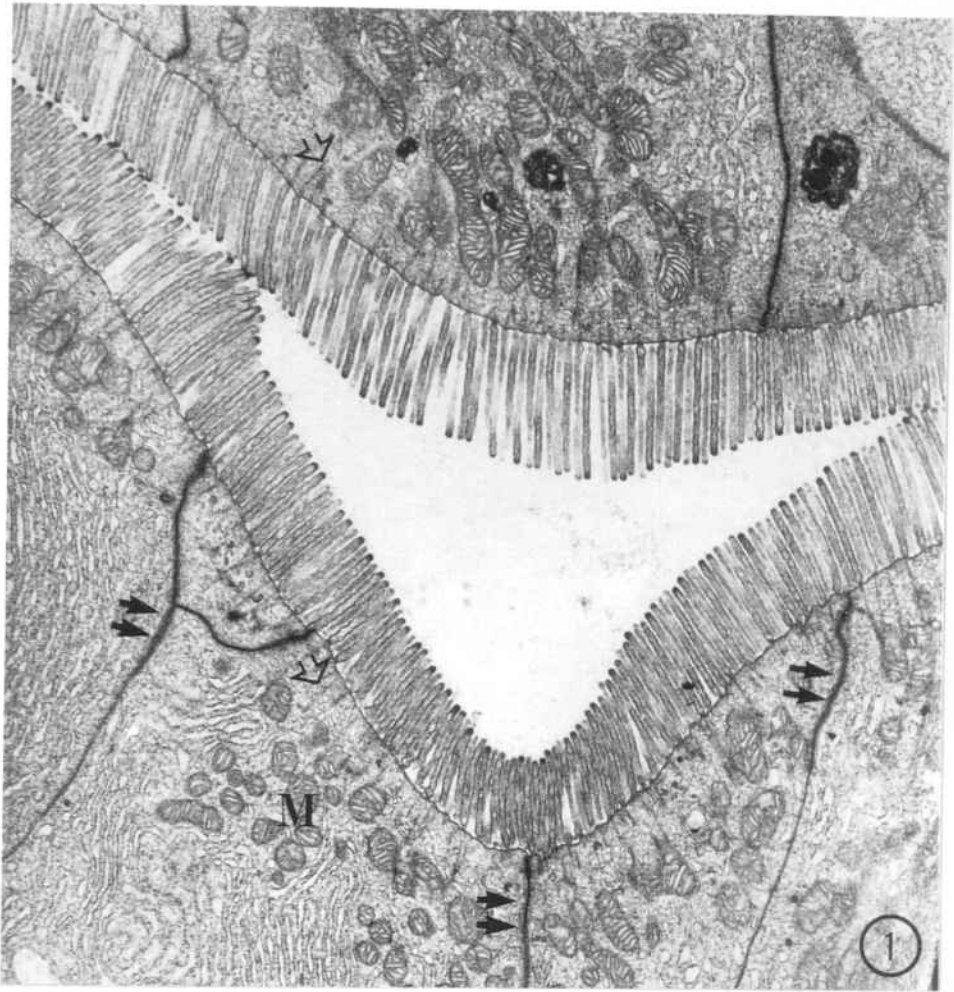


LAMINA XVI:

FIG. 1.- *Regió apical de les cèl.lules absorbents (cèl.lules R). Els microvillis (Mv) presenten un característic aspecte de rosari. Vegeu les arrels microviliars (fletxa) i la franja de mitocondris en situació apical (M). Zones d'unió (doble fletxa). (9.960x).*

FIG. 2.- *Detall dels microvillis d'una cèl.lula absorbent (R) i d'una cèl.lula vacuolada (B). Destaca la diferent alçada i amplada dels microvillis d'aquests dos tipus cel.lulars. (21.660x).*

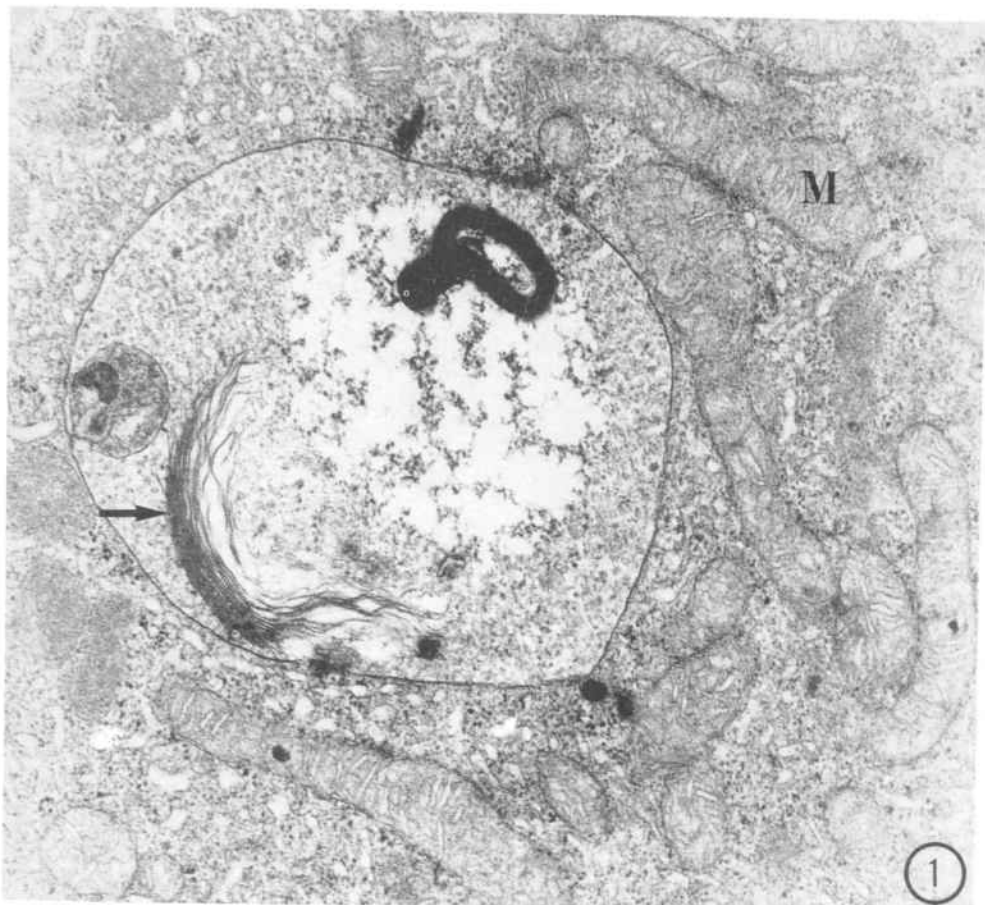
FIG. 3.- *Microvillis d'una cèl.lula del tipus R (absorbent). Tècnica del P.T.A. (àcid fosfotúngstic). S'observa com el contrastat només afecta el glicocalze. (69.090x).*



LAMINA XVII:

FIG. 1.- *Cos residual de contingut mitjanament dens als electrons, amb restes membranoses en el seu interior (fletxa). Mitochondri (M). (25.500x).*

FIG. 2.- *Detecció enzimàtica de la fosfatasa àcida. S'observa activitat enzimàtica (fletxa) en els lisosomes presents en les cèl.lules R (absorbents). Mètode de Gomori. (24.300x).*



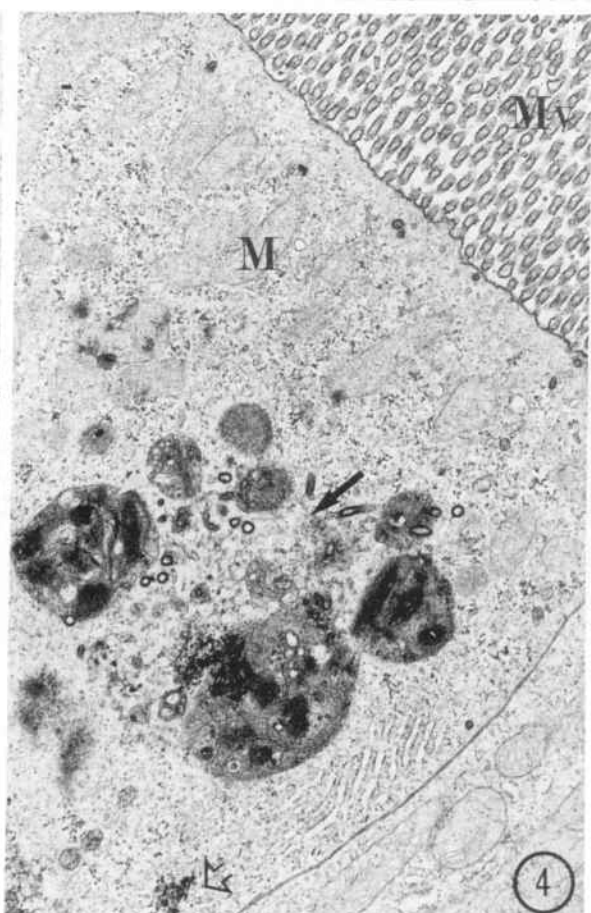
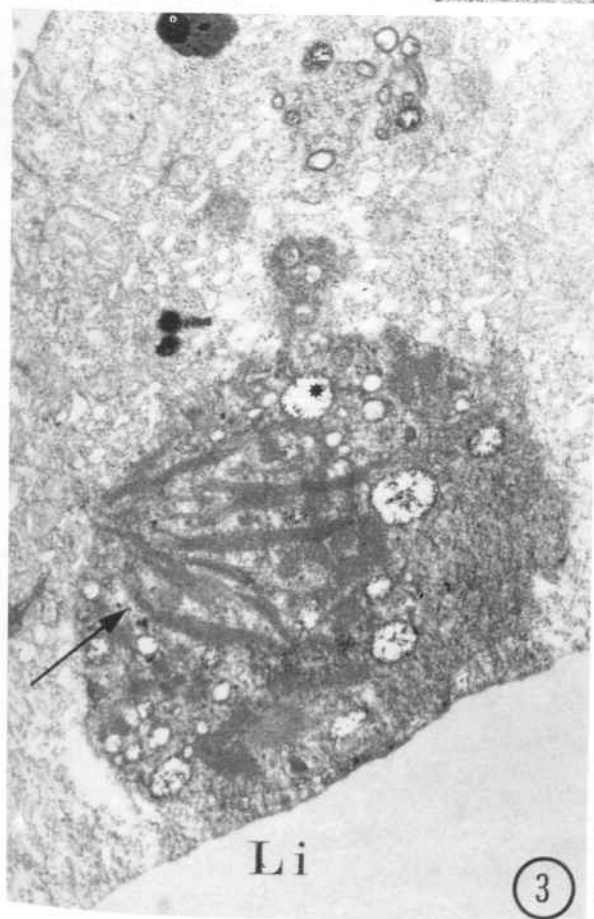
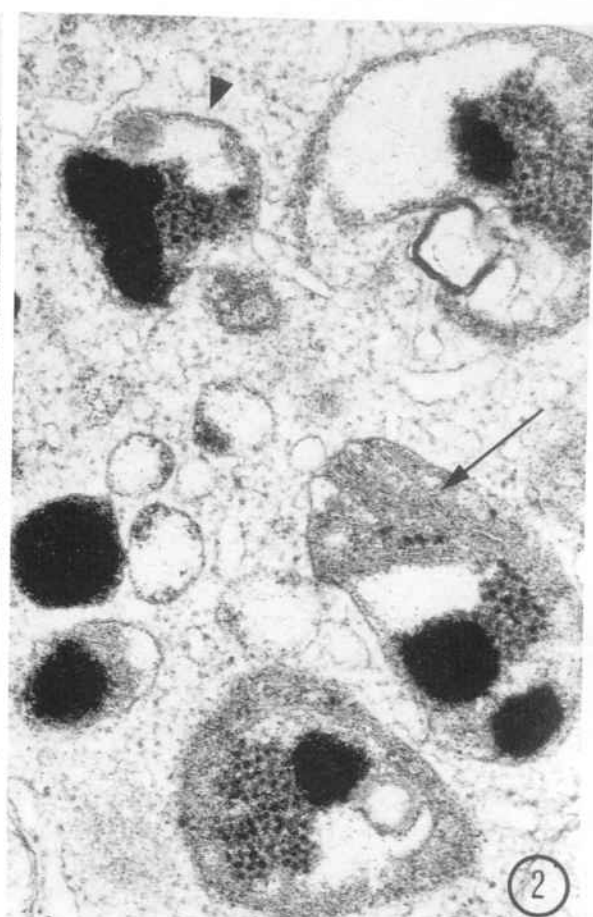
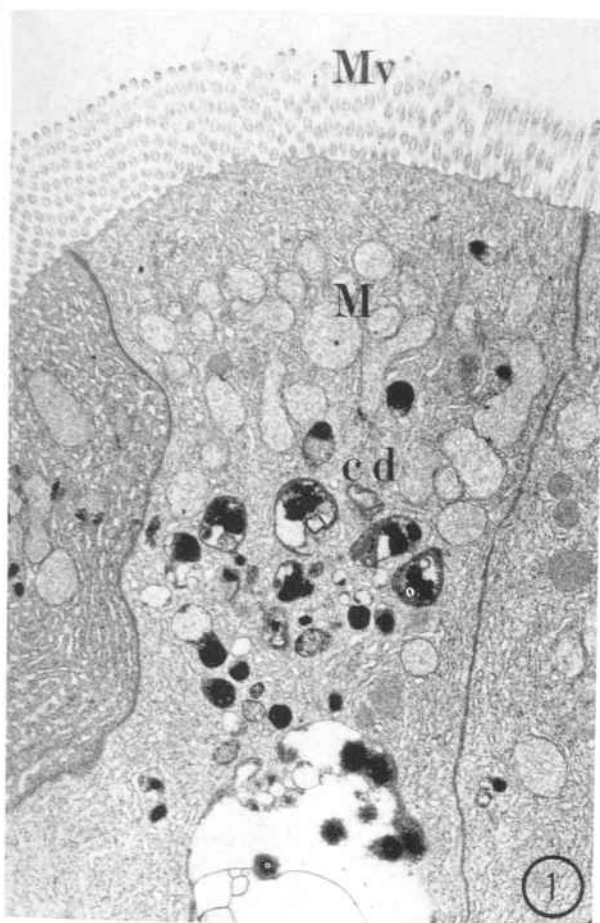
LAMINA XVIII:

FIG. 1.- *Regió apical d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R). En aquests cas es veuen vesícules del reticle endoplasmàtic a la regió terminal de la cèl.lula, destaquen també la morfologia dels mitocondris (M) que presenten nombroses crestes d'aspecte tubular. Microvillis (Mv); cossos densos (cd). (12.180x).*

FIG. 2.- *Detall de l'anterior. Els cossos densos presenten una doble membrana (punta fletxa) en l'interior es pot distingir restes de membrana (fletxa) i regions denses i granulars. Pot pensar-se en mitocondris en fase degenerativa. (61.740x).*

FIG. 3.- *Cos dens als electrons, de naturalesa lisosòmica, en les proximitats d'una gota lipídica (Li). En l'interior hi veiem restes de membrana disposades paralelament (fletxa), i regions amb material granular (asterisc). (18.240x).*

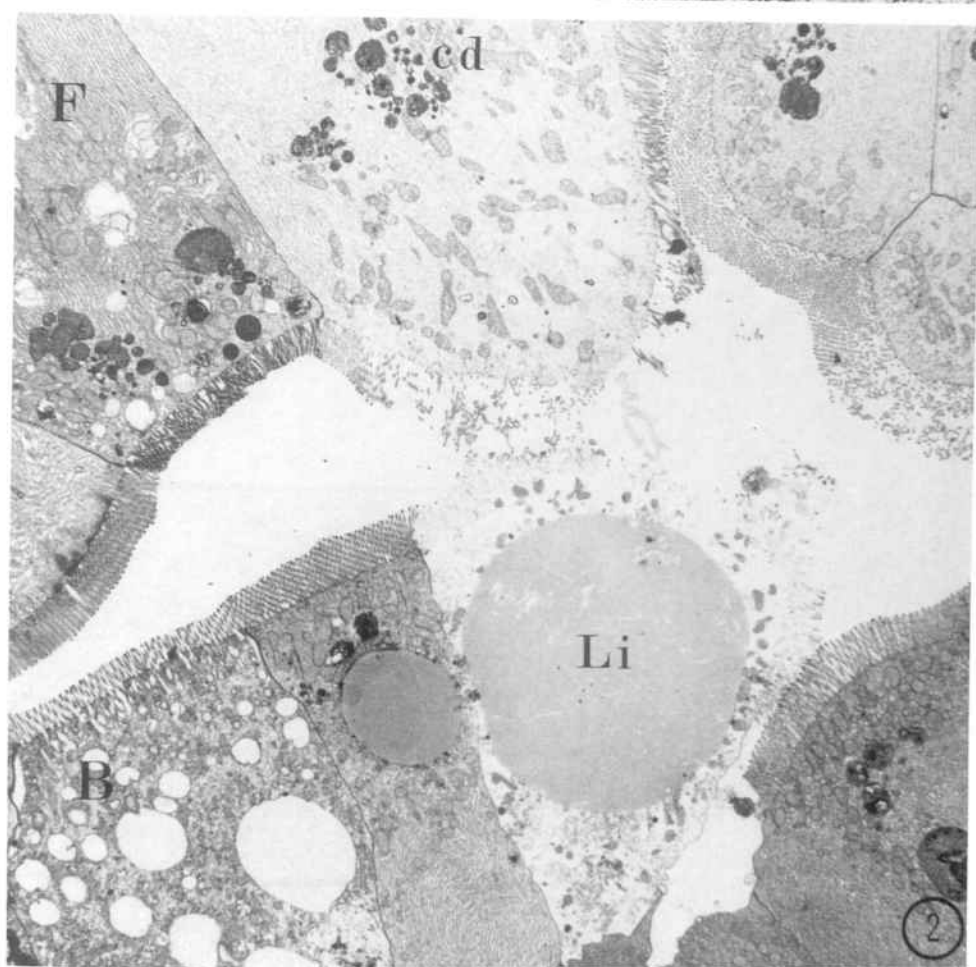
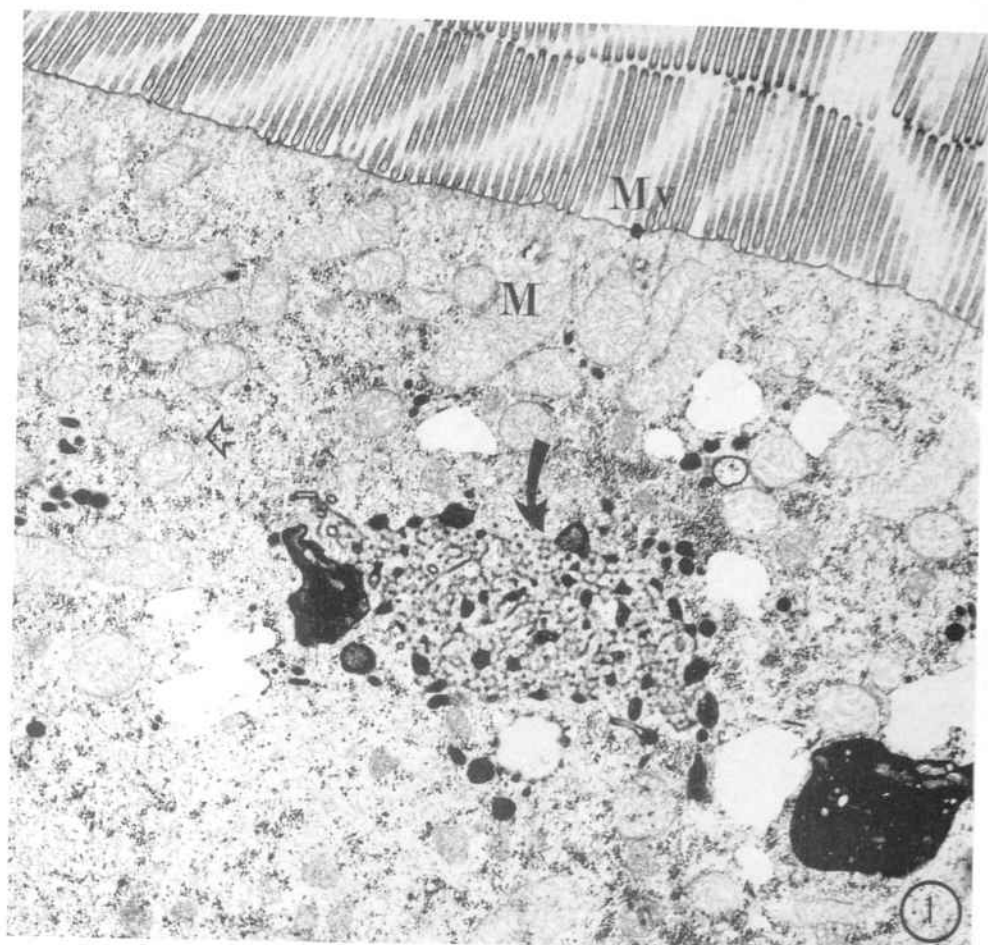
FIG. 4.- *Regió apical d'una cèl.lula R. Es distingeix la malla de connexió (fletxa) entre els cossos densos situats en aquesta regió de la cèl.lula. Observeu com a l'interior dels cossos densos hi ha restes de membrana (fletxa blanca). Mitocondris (M); microvillis (Mv); glicogen (fletxa clara); vesícules (v). (13.620x).*



LAMINA IXX:

FIG. 1.- *Regió apical d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R). Veiem la malla de connexió (fletxa) entre els cossos densos situats en aquesta regió de la cèl.lula. Mitochondris (M); microvillis (Mv); glicogen (fletxa clara). (13.630x).*

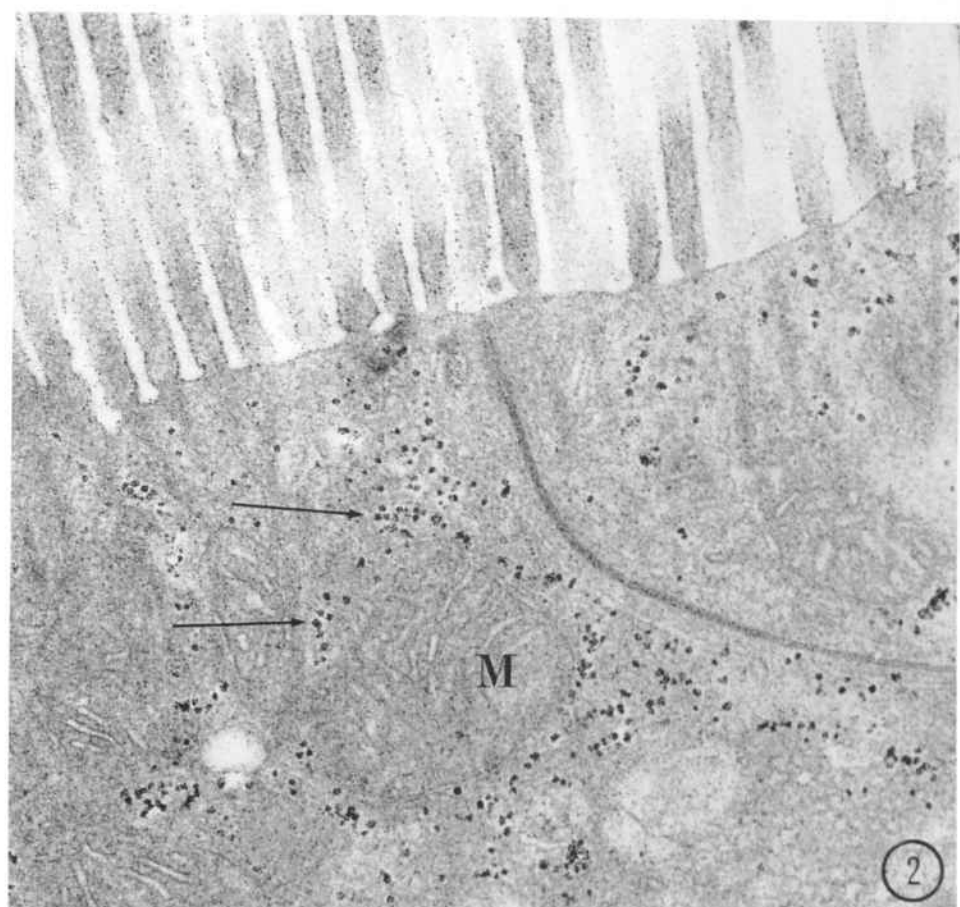
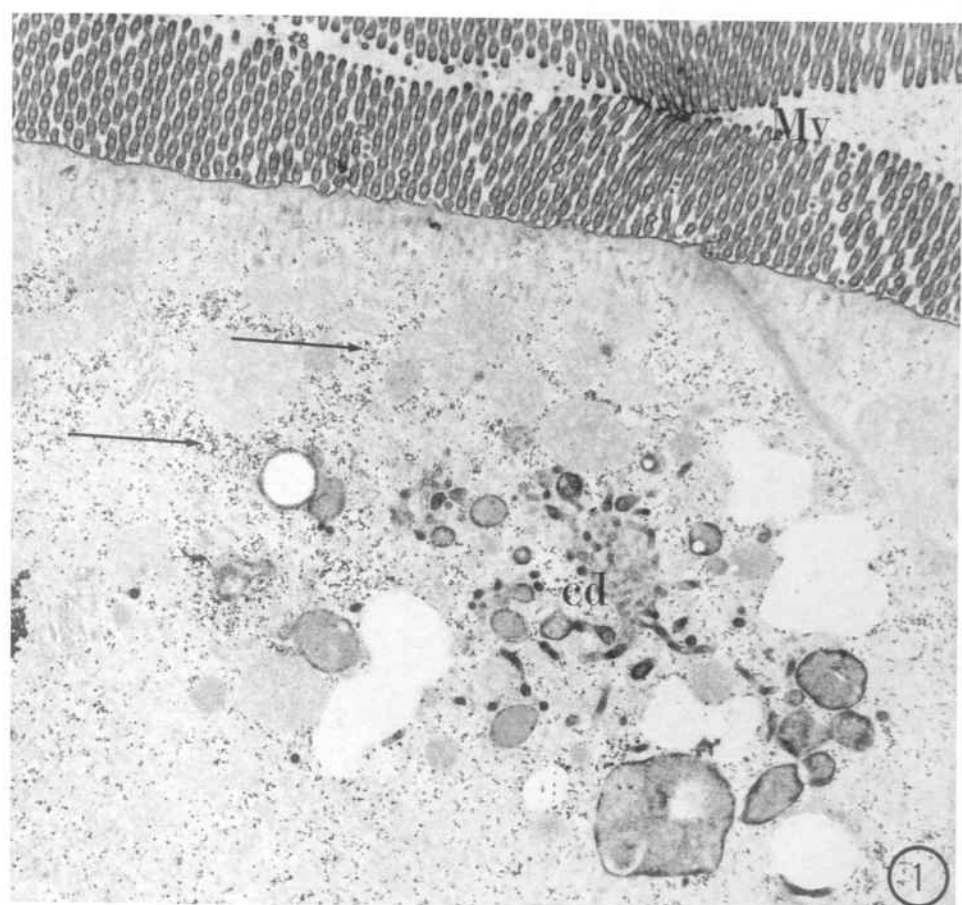
FIG. 2.- *Trencament d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R) que lliura el seu contingut a l'interior de la llum del túbul. Cossos densos (cd); lípid (Li); cèl.lula vacuolada (B); cèl.lula fibril.lar (F). (3.010x).*



LAMINA XX:

FIG. 1.- *Regió apical d'una cèl.lula del tipus R (absorbent). Tècnica del P.T.A. (àcid fosfotúngstic). Destaquen les marques positives en la membrana dels microvillis (Mv), en els grànuls de β glicogen (fletxa) així com en la regió perifèrica dels cossos densos (cd). (12.470x).*

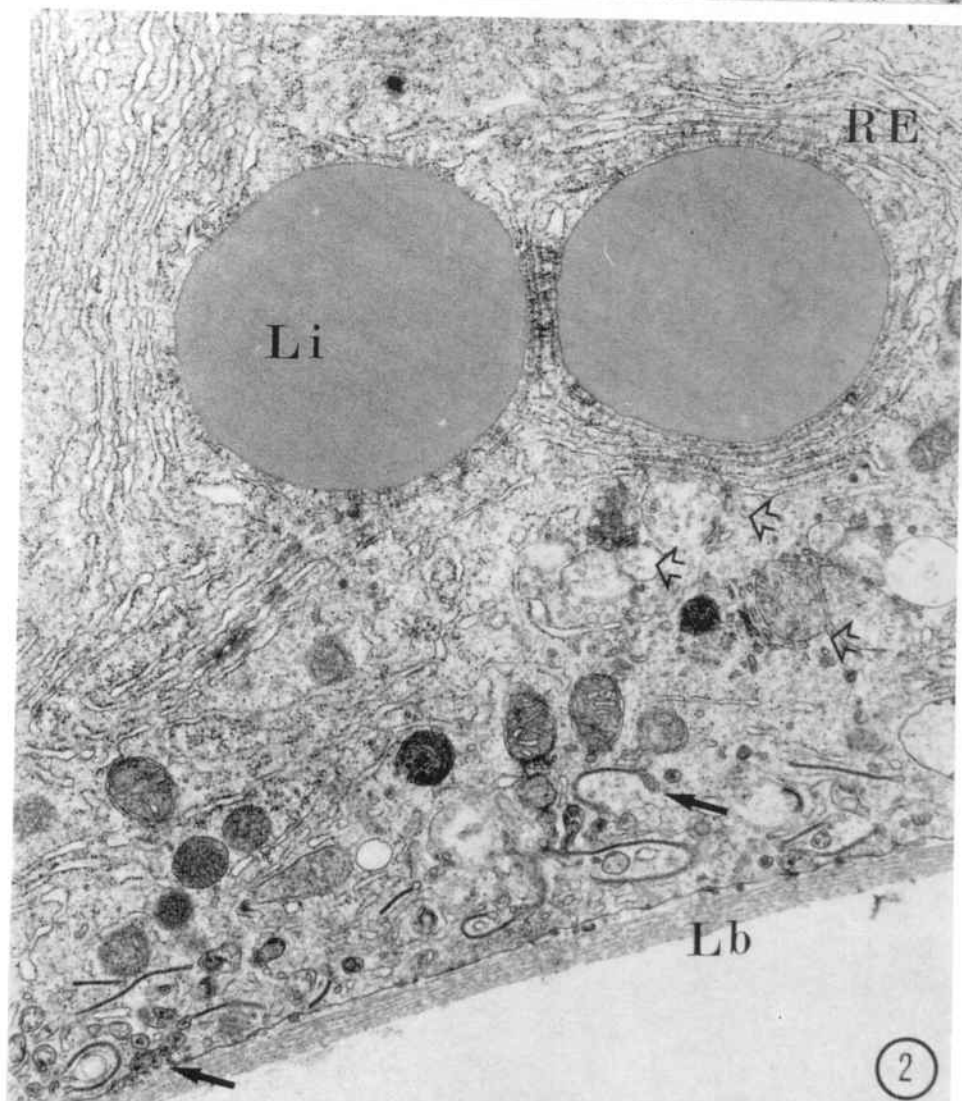
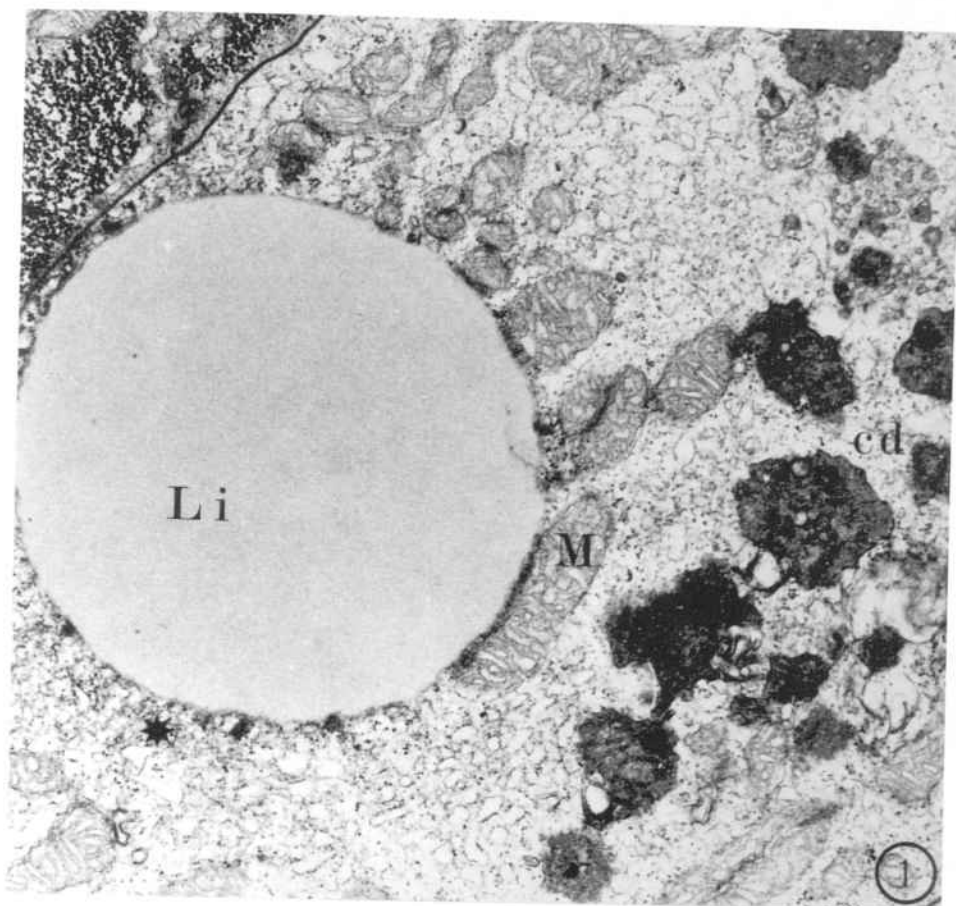
FIG. 2.- *Regió apical d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R). Tècnica de Thiery. Destaquen els grànuls de β glicogen (fletxa) marcats positivament per aquesta tècnica. Mitochondri (M). (87.750x).*



LAMINA XXI:

FIG. 1.- Inclusions lipídiques (Li) de les cèl·lules absorbents (cèl·lules R), s'hi distingeixen grànuls de β glicogen (asterisc) i mitocondris (M), en les seves proximitats. Cossos densos (cd). (19.000x).

FIG. 2.- Inclusions lipídiques. Vegeu la relació topogràfica entre les inclusions lipídiques (Li) i les vesícules de reticle endoplasmàtic (RE). També hi destaquen els vacuols o vesícules que contenen partícules de lipoproteïnes (fletxes clares) i les invaginacions de la membrana basal, on existeixen fenòmens d'exocitosi (fletxa). Lb: làmina basal. (16.530x).



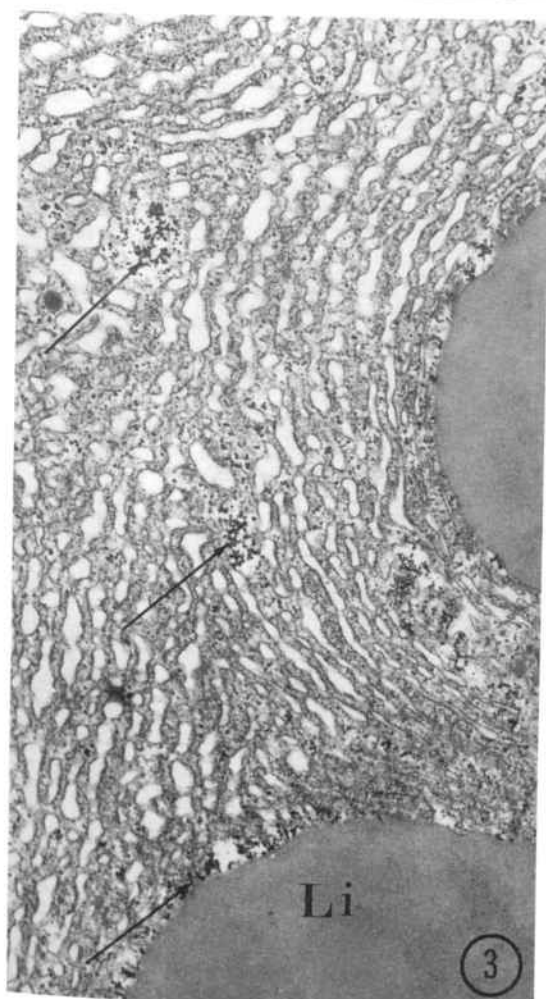
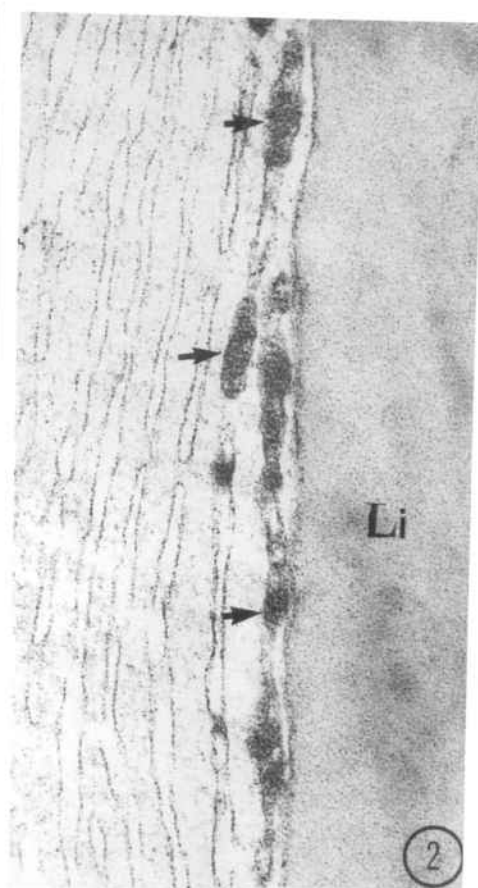
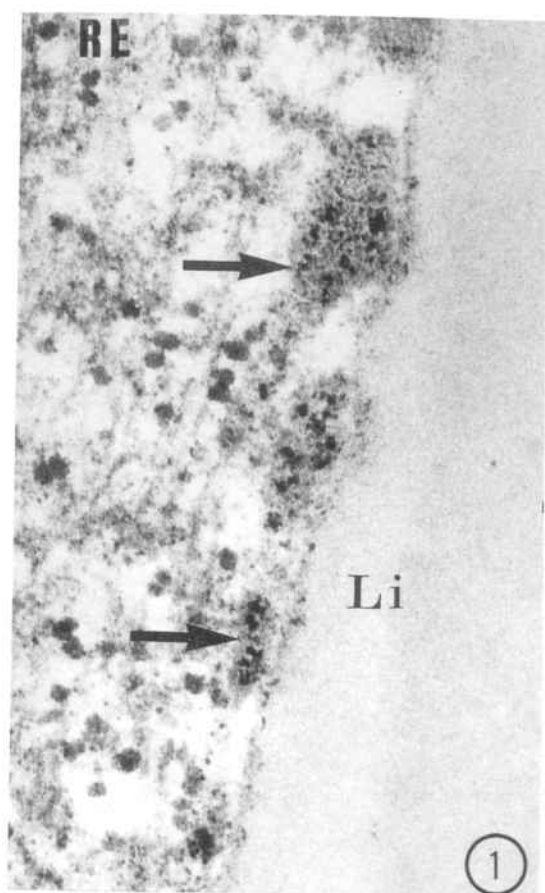
LAMINA XXII:

FIG. 1.- *Inclusió lipídica' (Li) rodejada de reticle endoplasmàtic, en l'interior de les seves vesícules es veu un material granulós electrodens. (110.580x).*

FIG. 2.- *Reacció positiva a la tècnica de Thièry del contingut granulós de les vesícules de reticle endoplasmàtic (fletxes) al voltant dels lípids (Li). Metode de Thièry. (87.300x).*

FIG. 3.- *Inclusions lipídiques (Li) i grànuls de glicogen (fletxa) d'una cèl.lula R. Reticle endoplasmàtic (RE). (17.480x).*

FIG. 4.- *Detecció d'activitat enzimàtica de fosfatasa àcida (fletxa) al voltant d'una gota lipídica (Li). Metode Gomori. (50.400x).*

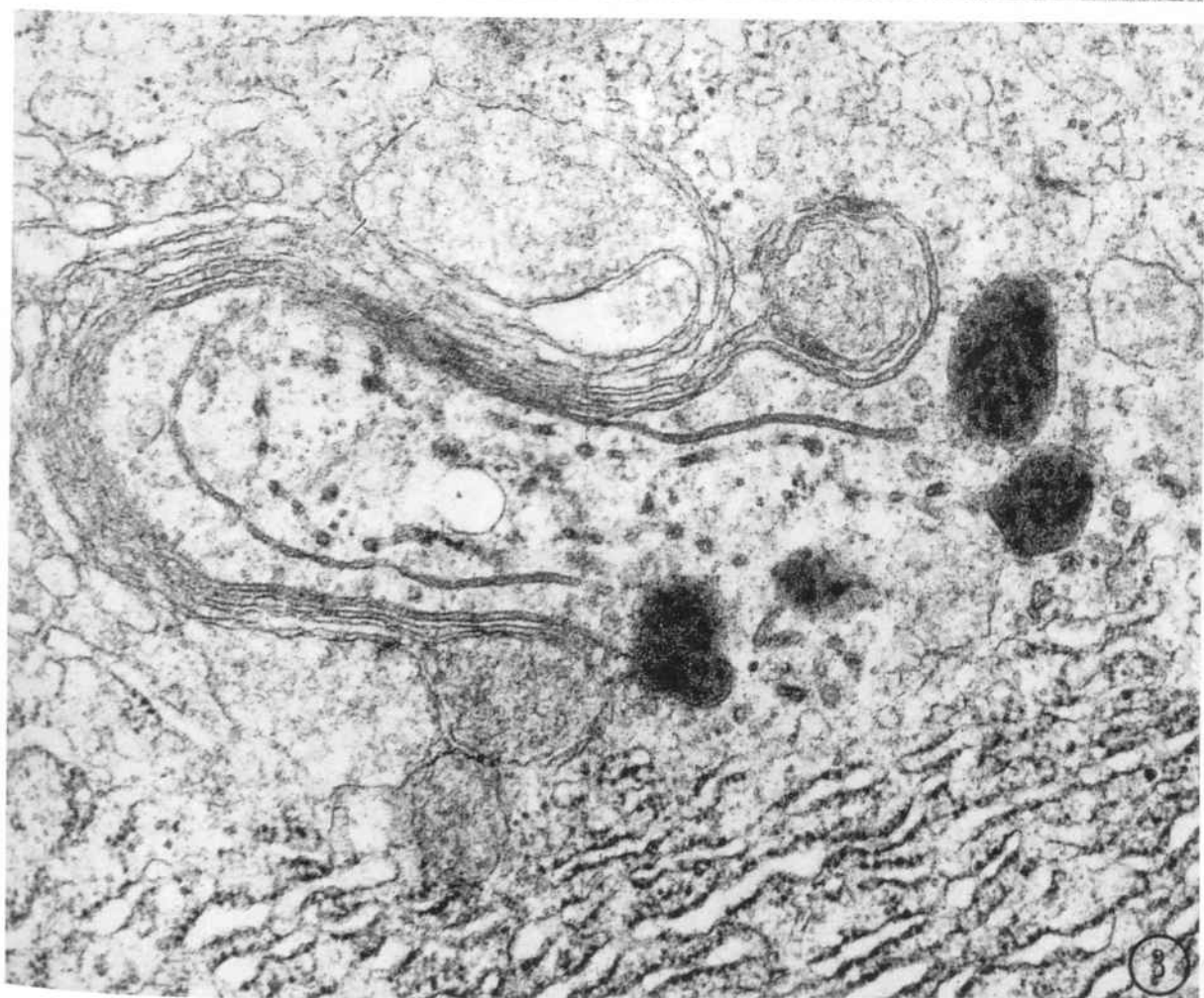
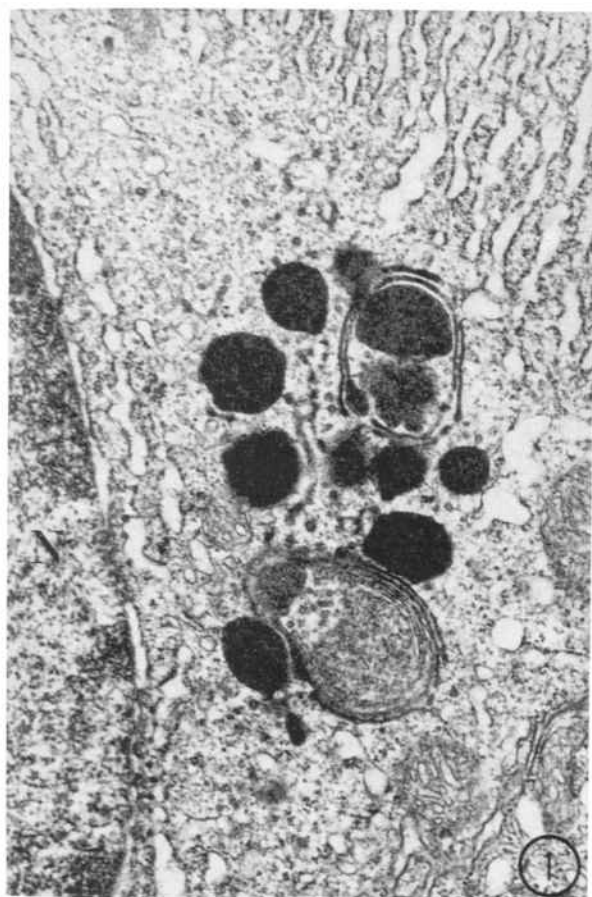


LAMINA XXIII:

FIG. 1.- Dictiosoma en la regió perinuclear d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R). En aquest cas veiem la cara trans i la formació de grànuls densos. Nucli (N). (24.300x).

FIG. 2.- Complex de Golgi de les cèl.lules R (absorbents). Destaca, en aquest cas, gran quantitat de dictiosomes al costat d'un desenvolupament important del condrioma. Mitochondris (M); lípid (Li); cossos densos (cd). (6.000x).

FIG. 3.- Dictiosoma d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R). S'observa regions de diferent electrodensitat en els grànuls de secreció. (45.360x).



LAMINA XXIV:

FIG. 1.- *Dictiosoma* d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R). S'hi observen vesícules de transició (vt) en la cara CIS. Microtúbul (punta fletxa). (88.400x).



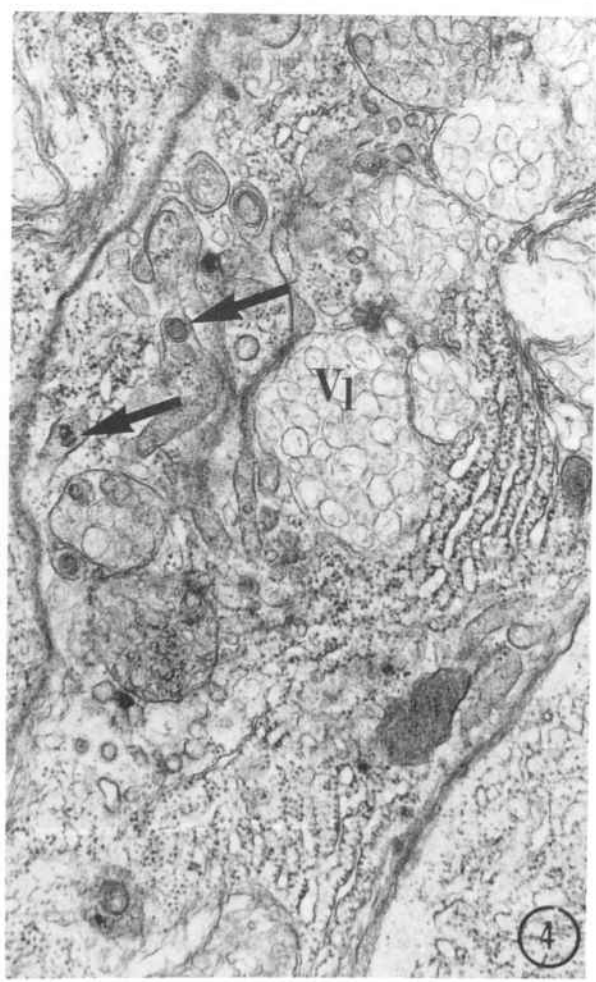
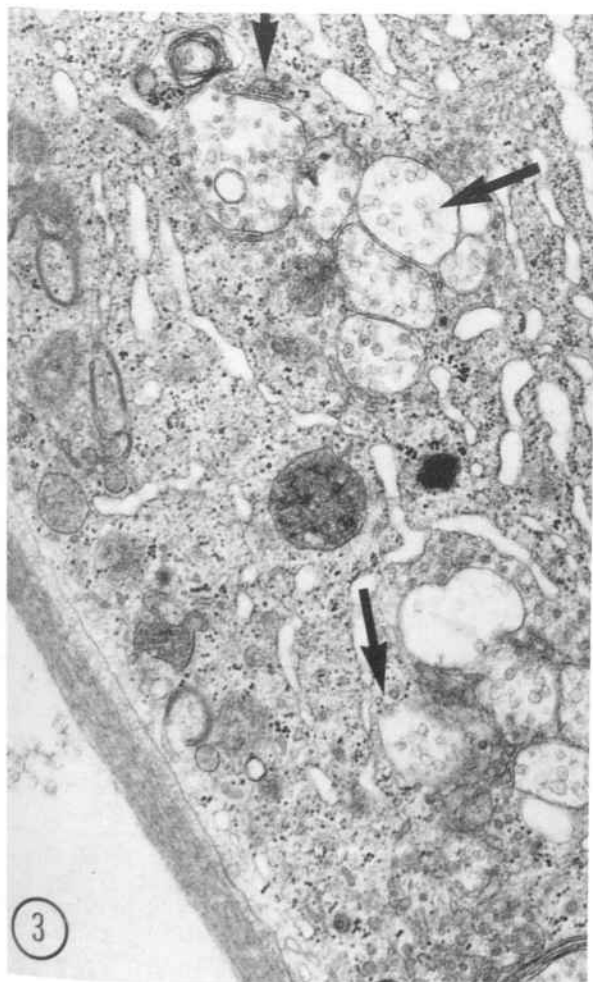
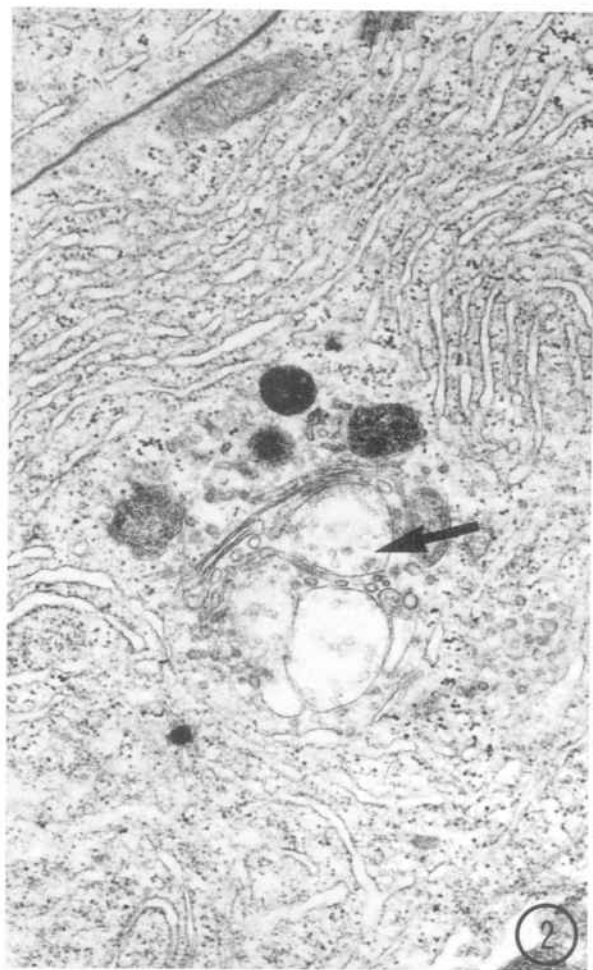
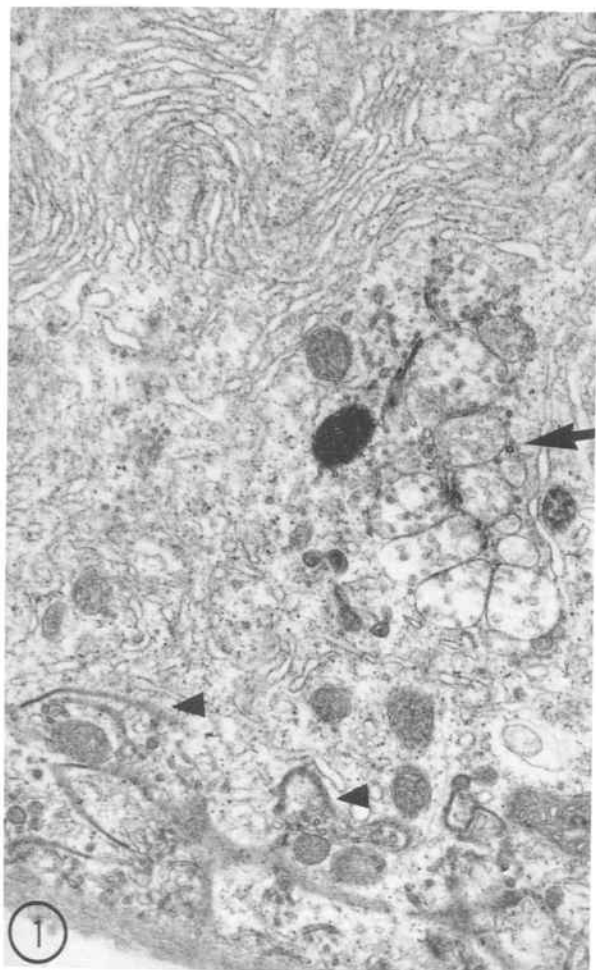
LAMINA XXV:

FIG. 1.- *Complex de Golgi d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R). Els seus sàculs una mica dilatats, presenten un contingut vesiculós (fletxa) que recorda l'aspecte de les lipoproteïnes presents en cèl.lules absorbents de mamífers. Làmina basal (Lb); invaginacions de la membrana basal (punta fletxa); glicogen (asterisc). (13.110x).*

FIG. 2.- *Dictiosoma d'una cèl.lula R, on podem veure sàculs dilatats plens de partícules de naturalesa lipoprotèica (fletxa). (21.660x).*

FIG. 3.- *Vesícules a la regió basal de la cèl.lula absorbent (cèl.lula R), que contenen lipoproteïnes (fletxa). Làmina basal (Lb); invaginacions basals (Ib). (21.660x).*

FIG. 4.- *Vesícules amb partícules de lipoproteïnes (V₁), es veu la presència de lipoproteïnes en l'interior d'invaginacions de la membrana lateral (fletxa). Tècnica d'OTO. (33.800x).*

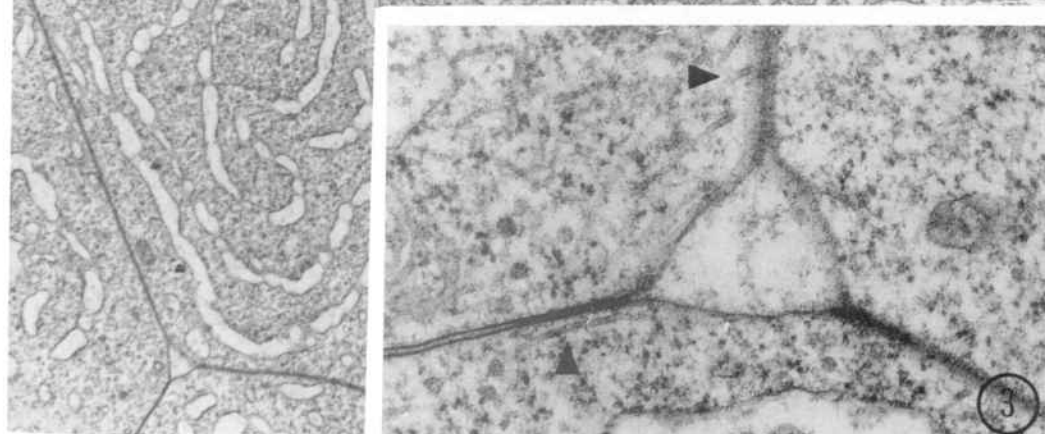
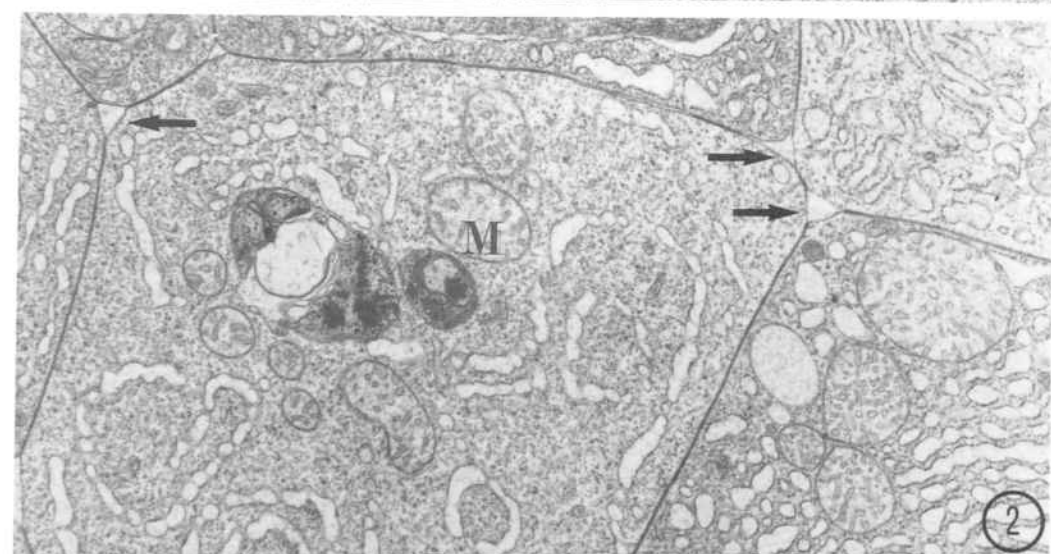
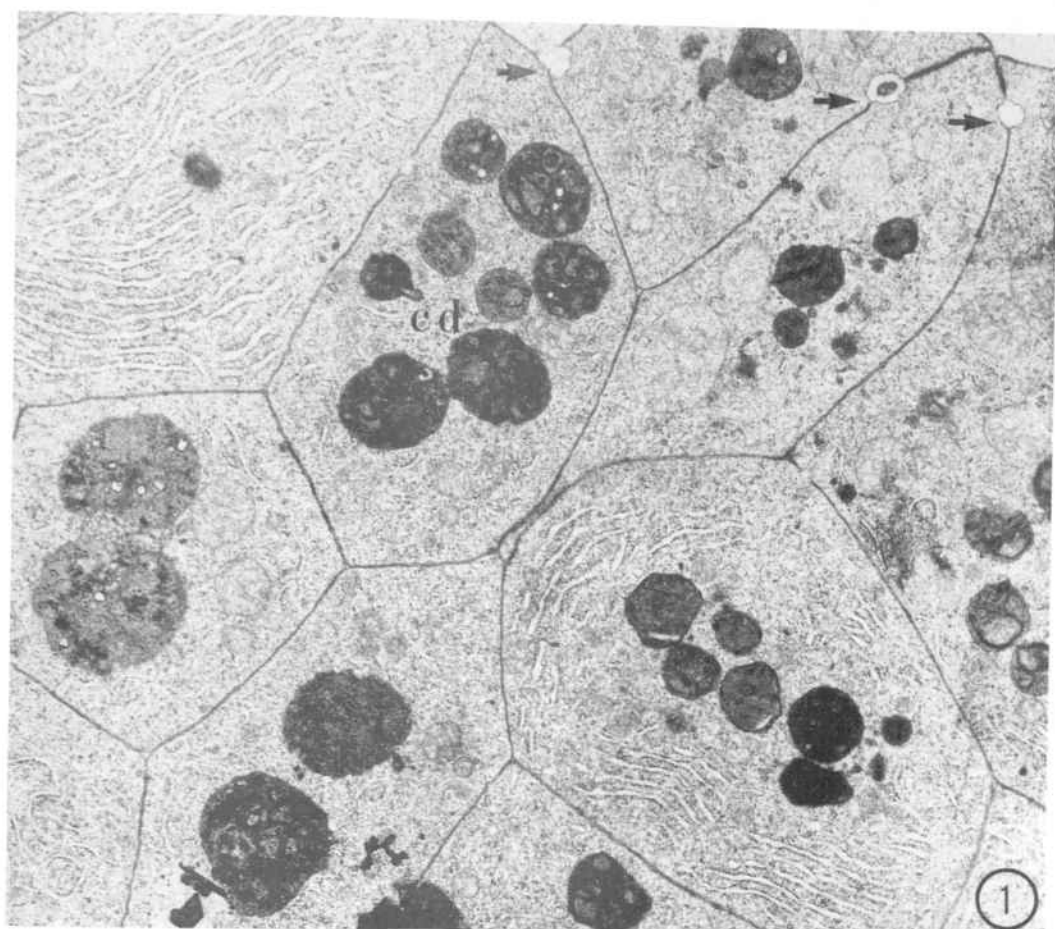


LAMINA XXVI:

FIG. 1.- Dilatacions de l'espai intercel.lular (fletxa). Vegeu la secció estrellada i el seu aspecte clar als electrons. Cossos densos (cd). (10.500x).

FIG. 2.- Zones de contacte tricel.lular (fletxa), en aquesta secció transversal es pot veure la petita dilatació de l'espai intercel.lular en les zones de contacte tricel.lular. Mitochondris (M). (30.400x).

FIG. 3.- Detall de contacte tricel.lular, on s'hi distingeixen microtúbuls (punta fletxa). (120.450x).



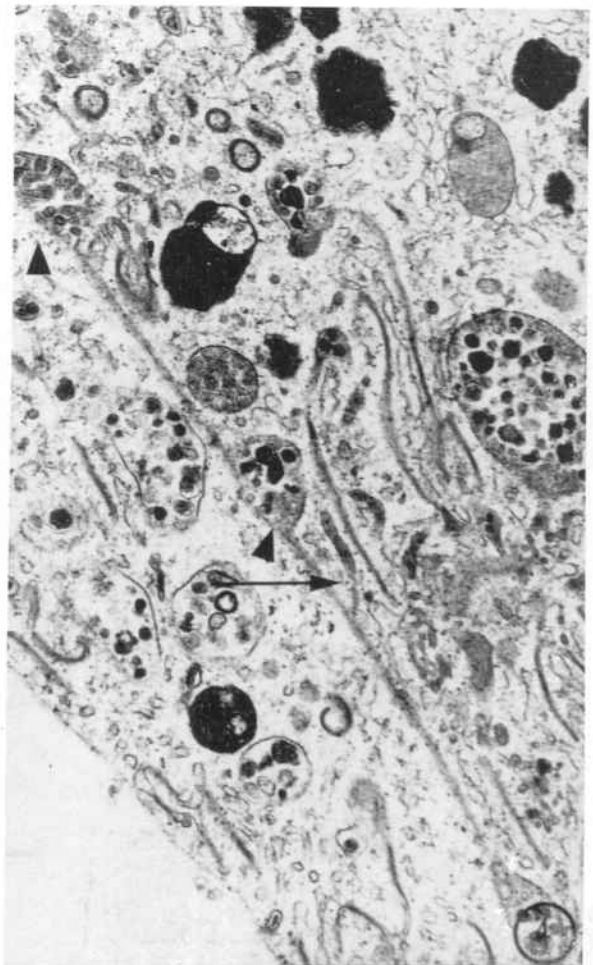
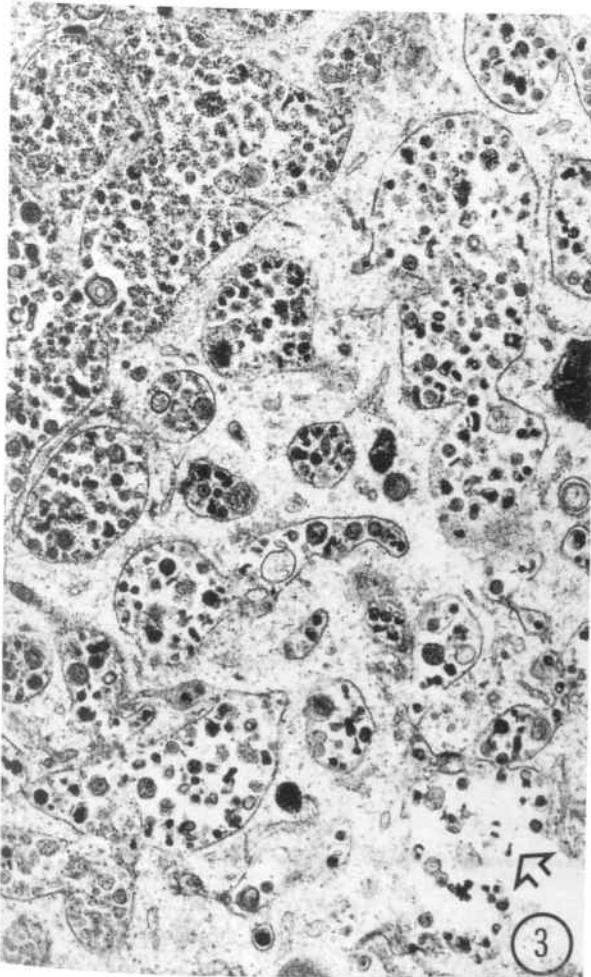
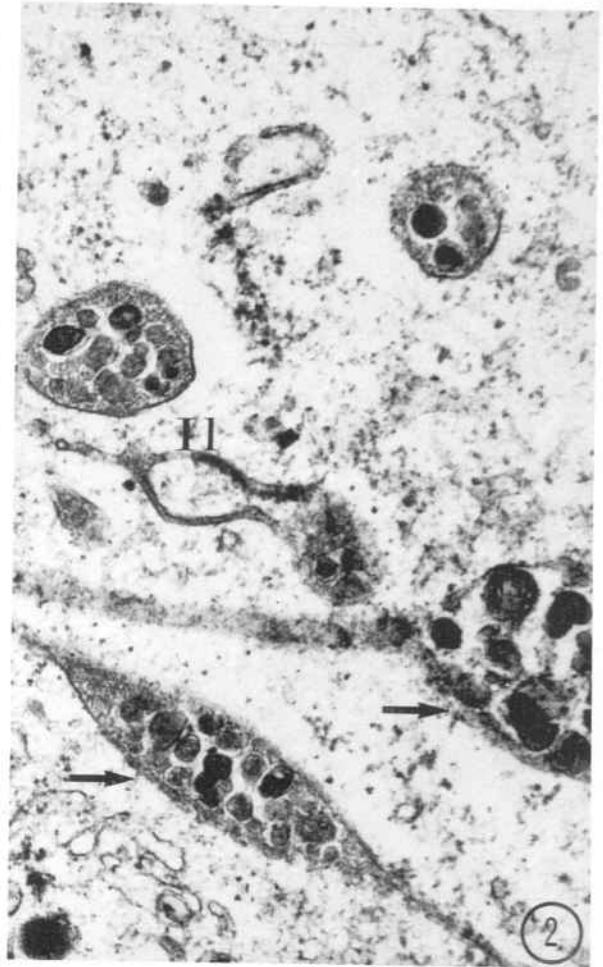
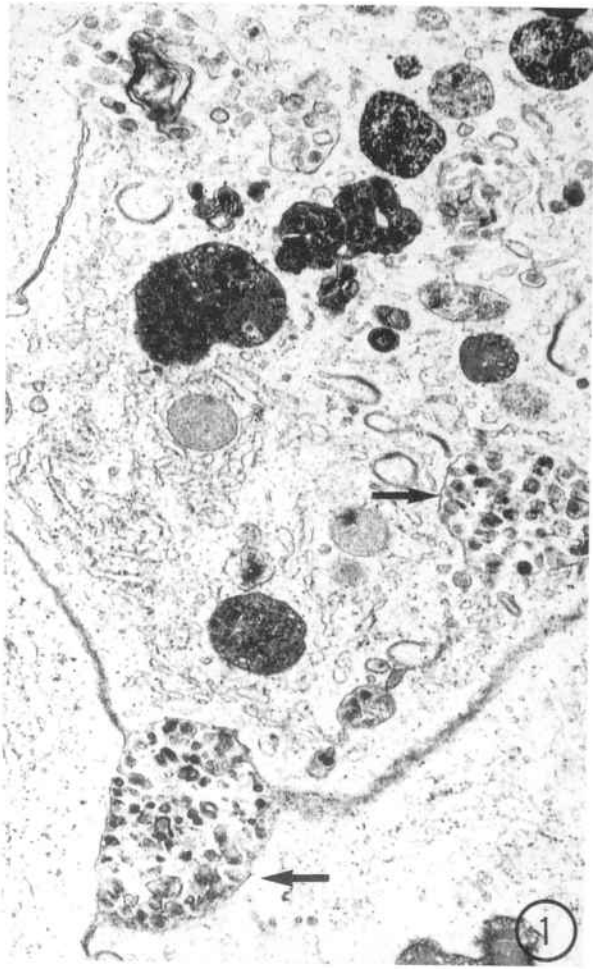
LAMINA XXVII:

FIG. 1.- Dilatacions de l'espai intercel.lular (fletxa) en l'interior dels quals, hi podem veure un contingut vesicular electrodens. (23.760x).

FIG. 2.- Detall de les dilatacions de l'espai intercel.lular amb un contingut vesiculós i electrodens (fletxa) . Podem també veure-hi invaginacions de la membrana lateral (II). (49.280x).

FIG. 3.- Regió basal d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R) on es pot veure també una dilatació de l'espai intercel.lular en les invaginacions laminars que presenten en aquesta regió les membranes laterals i basals de la cèl.lula. Vegeu el lliurament de partícules (fletxa clara). (16.720x).

FIG. 4.- Dilatacions de l'espai intercel.lular (punta fletxa). Destaquen també invaginacions de la membrana lateral de les cèl.lules (fletxa) la qual cosa possibilita la visualització de l'espai intercel.lular en la regió interna del citoplasma. Vegeu la continuïtat d'aquestes estructures amb la membrana lateral (fletxa). (23.760x).

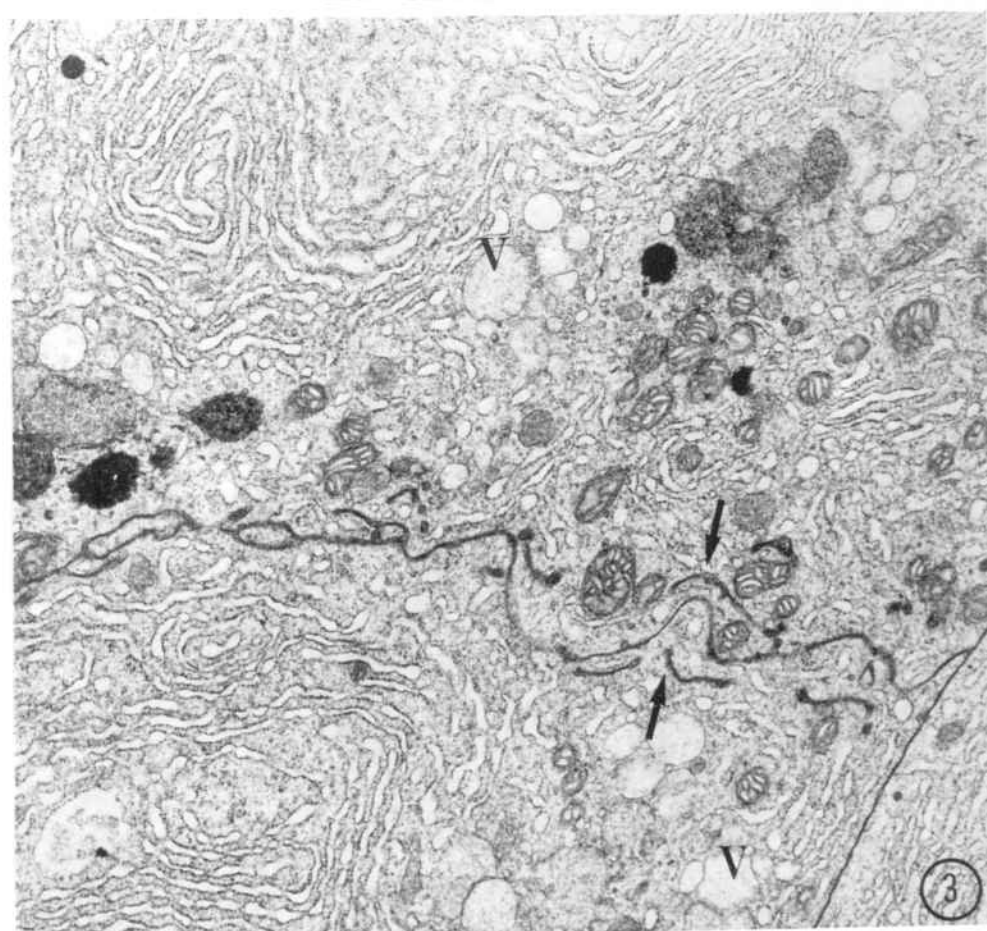
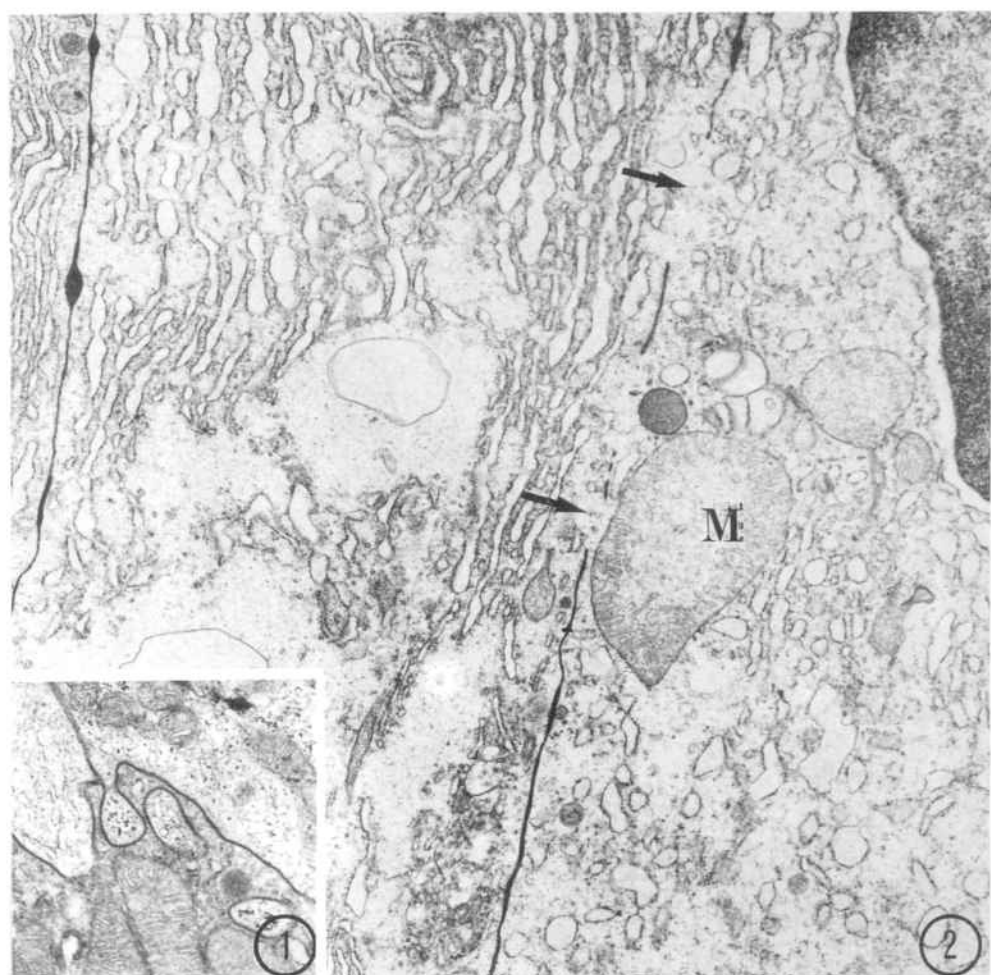


LAMINA XXVIII:

FIG. 1.- *Recorregut sinuós de la membrana lateral.(13.340x).*

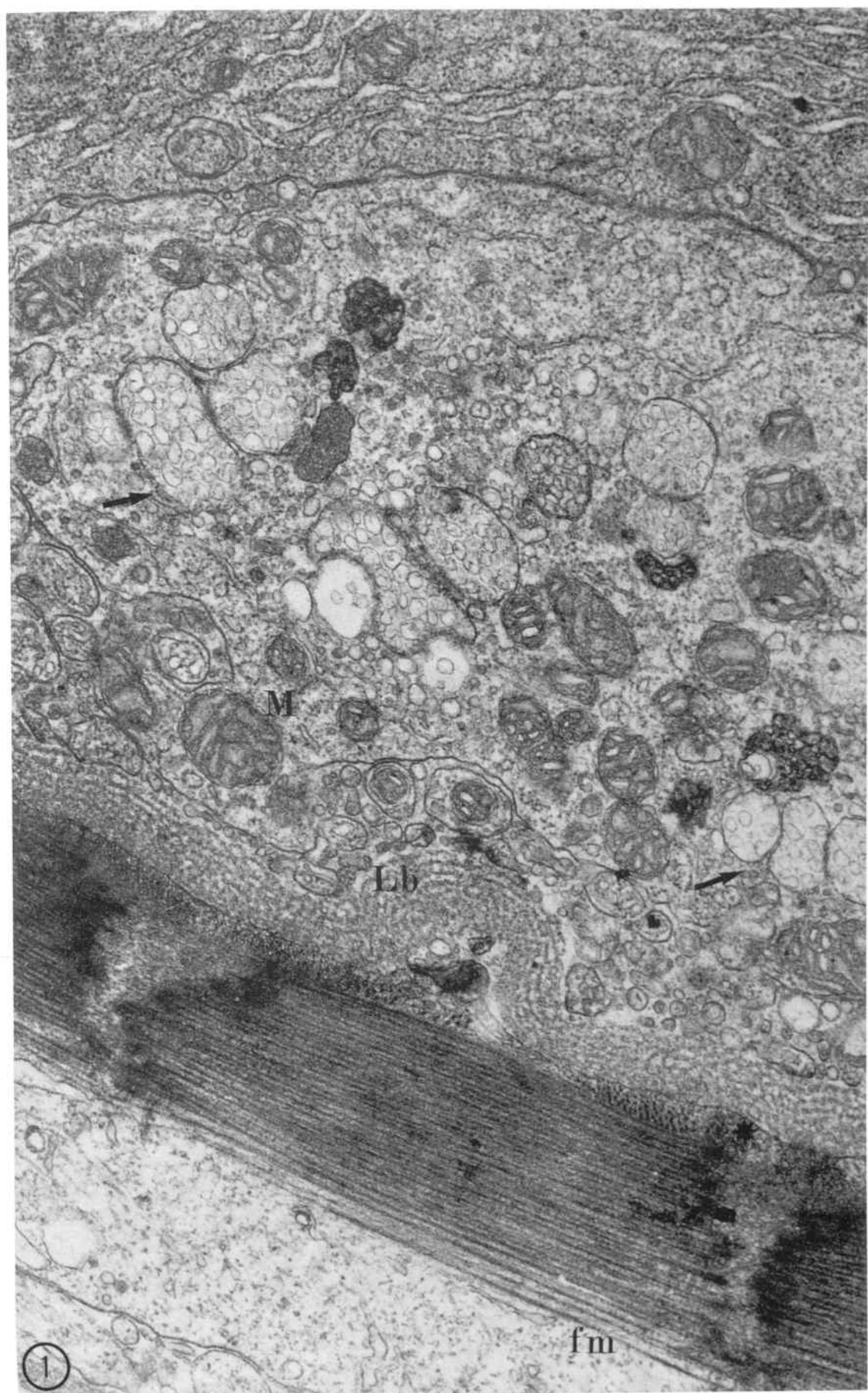
FIG. 2.- *Discontinuitats de la membrana lateral de les cèl.lules, motivat per llur recorregut sinuós, posades de manifest utilitzant la Tècnica del nitrat de lantà com a marcador de l'espai intercel.lular (fletxa). Mitochondri (M). (10.580x).*

FIG. 3.- *Invaginacions de la membrana lateral (fletxa). Vesícules amb un contingut lipoproteic (V) de les cèl.lules R. (15.960x).*



LAMINA XXIX:

FIG. 1.- *Regió basal d'una cèl.lula R. Destaquen les vesícules amb partícules lipoproteiques (fletxa) i en aquest cas l'absència d'invaginacions de la membrana basal. Mitochondris (M); fibra muscular (fm) amb miofibril·les disposades ortogonalment unes respecte a les altres (asterisc). (34.200x).*



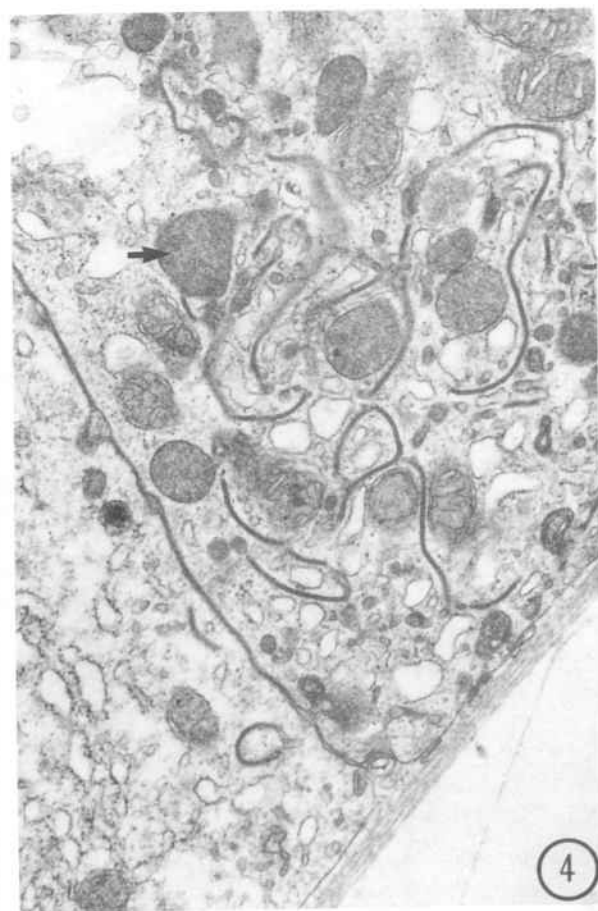
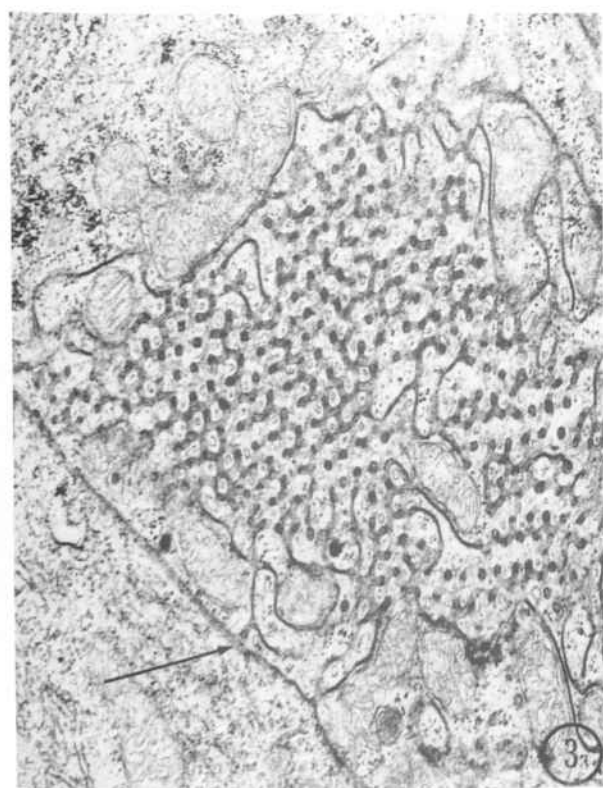
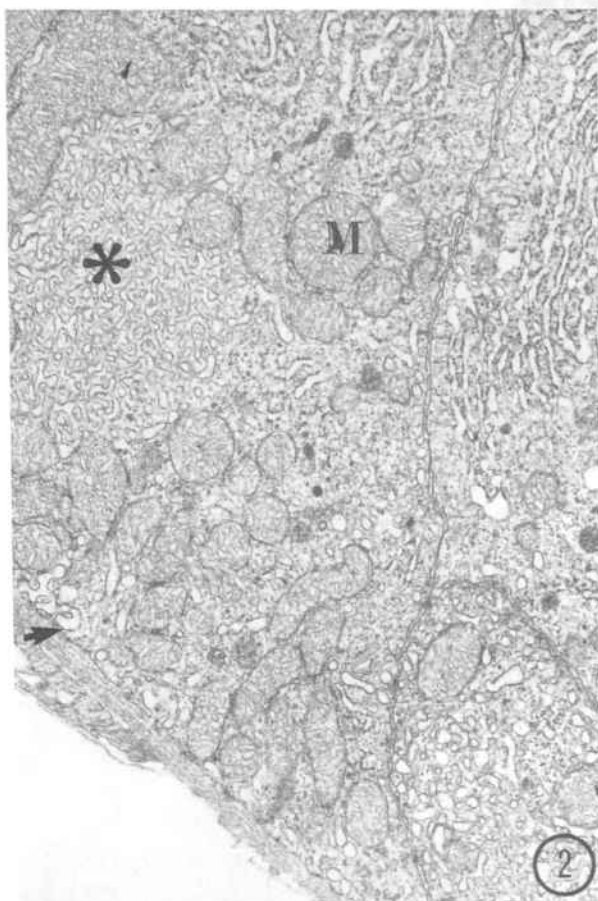
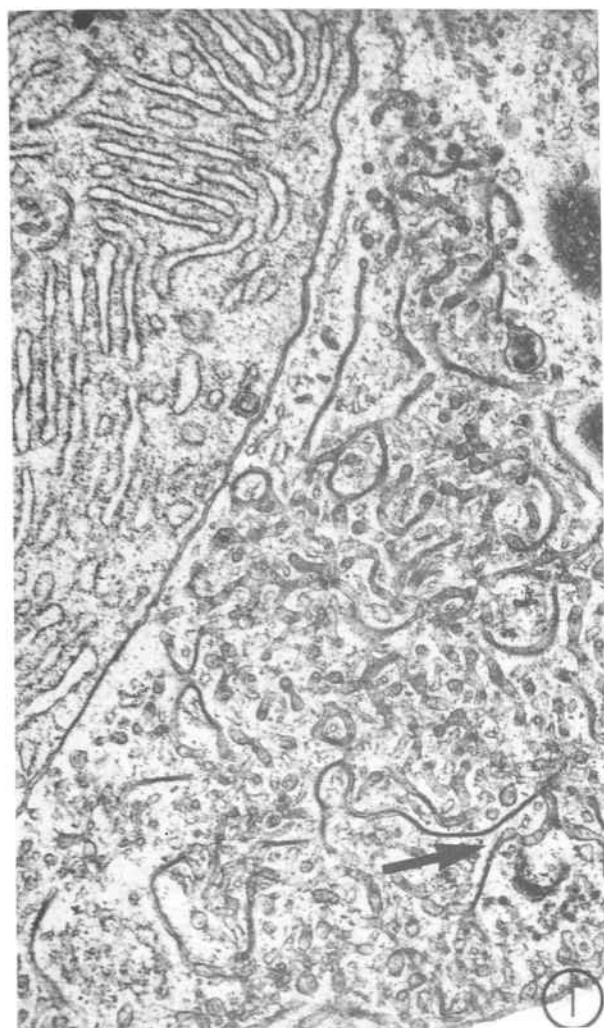
LAMINA XXX:

FIG. 1.- *Invaginacions de la membrana basal i lateral de les cèl.lules R. Noteu el recorregut sinuós i ramificat de les mateixes (fletxa). (17.100x).*

FIG. 2.- *Regió basal d'una cèl.lula R. En aquest cas hi destaca un gran desenvolupament del reticle endoplàsmatic llis (asterisc), junt amb un condriome ben desenvolupat (M). Destaquem la continuïtat d'aquest sistema membranos amb la membrana basal (fletxa). (12.420x).*

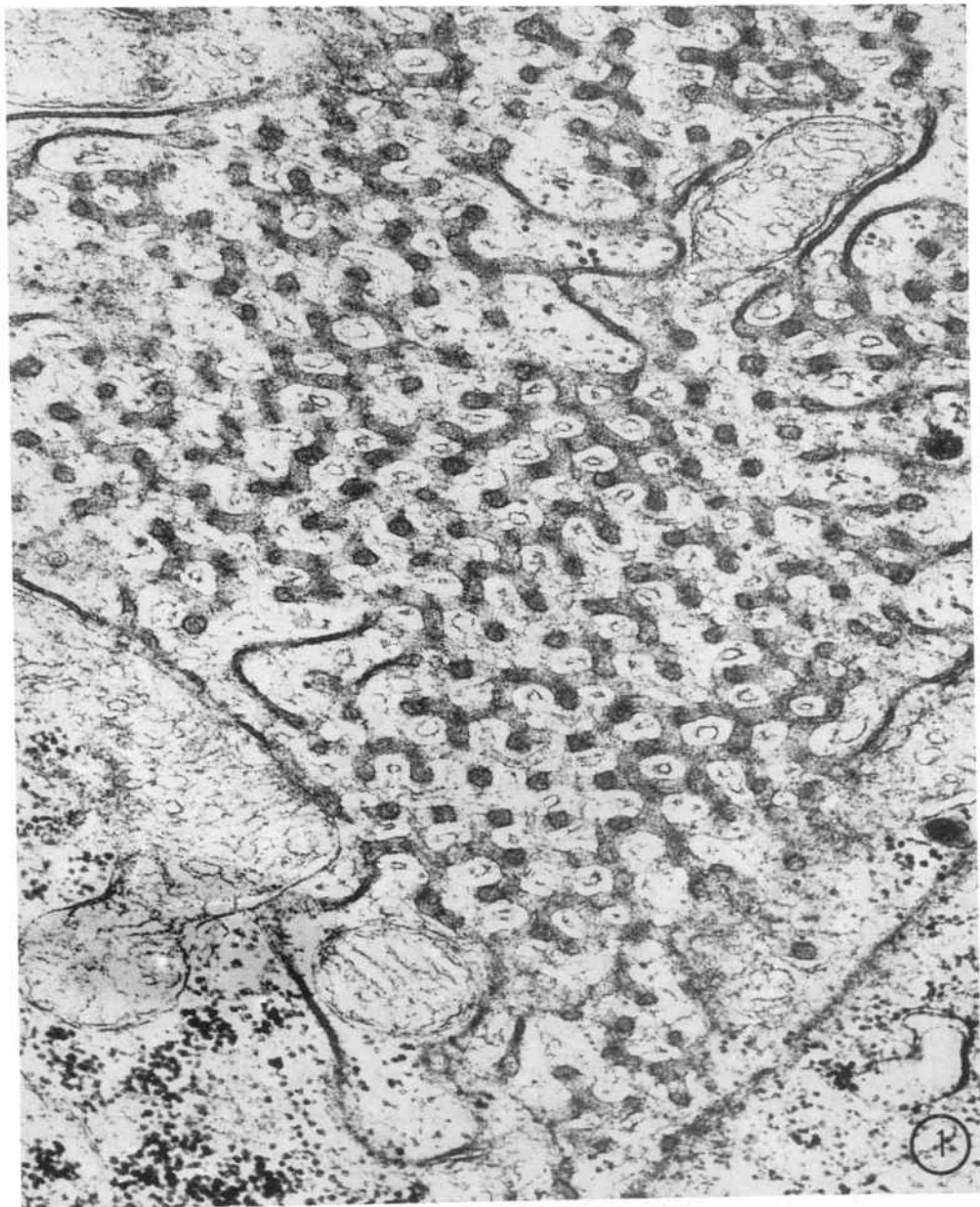
FIG. 3.- *Invaginacions laminars a partir, en aquest cas de la membrana lateral (fletxa) pròxima a la basal d'una cèl.lula R. Destaca llur disposició reticular pentagonal. (15.960x).*

FIG. 4.- *Invaginacions basals, la sinuositat de les quals permet veure l'espai intermembrana (fletxa). (13.110x).*



LAMINA XXXI:

FIG. 1.- *Invaginacions de la làmina basal i lateral de les cèl.lules R. El seu aspecte recorda força el trofospongi descrit per Garnier en cèl.lules nervioses. Observeu la disposició pentagonal del sistema membranós i com en el seu interior s'observa un altre sistema membranós amb la matriu clara als electrons. (49.100x).*

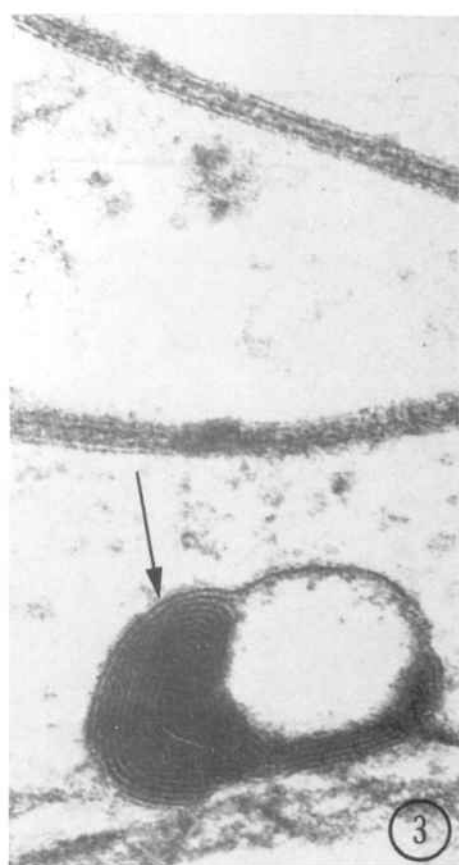
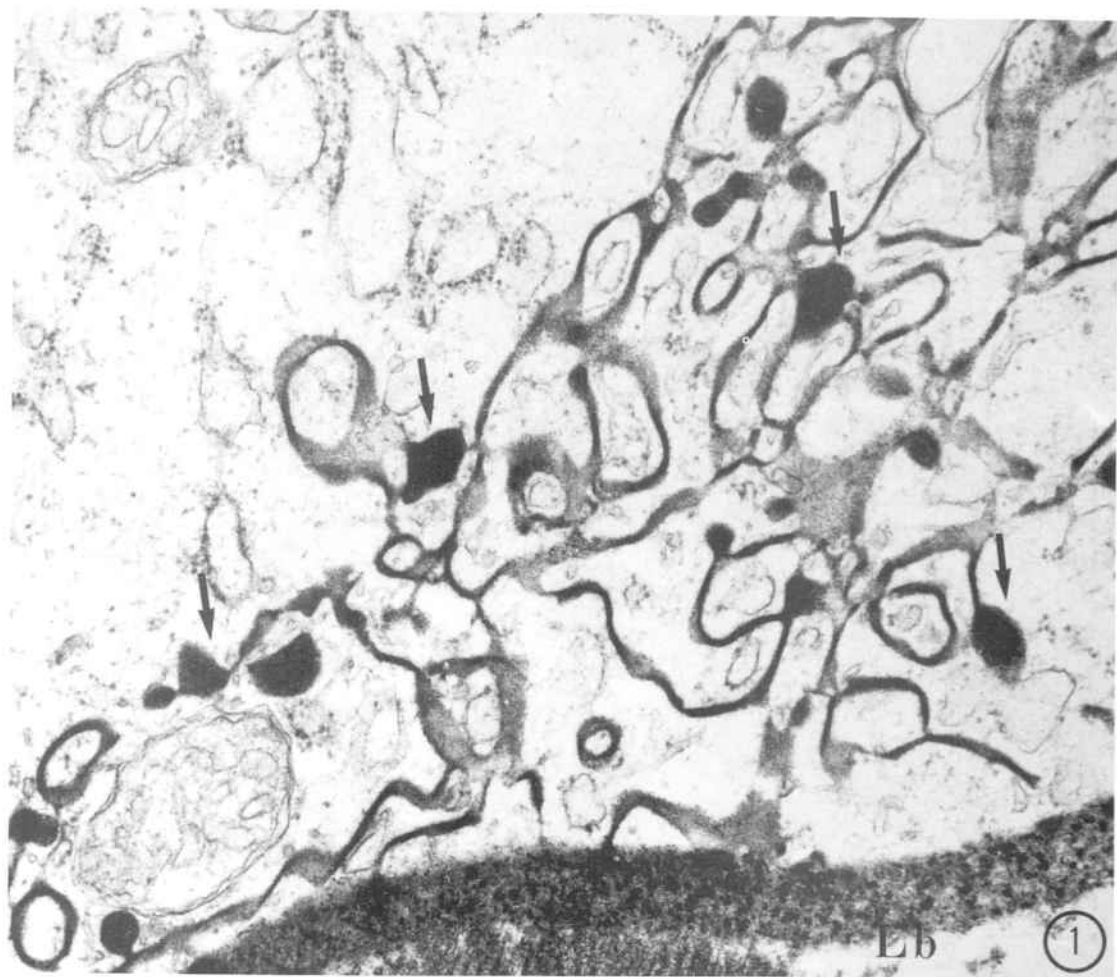


LAMINA XXXII:

FIG. 1.- *Invaginacions de les membranes basals i laterals de les cèl·lules absorbents (cèl·lules R), motivat per llur recorregut sinuós es veuen regions de l'espai intercel·lular (fletxa). Làmina basal (Lb). Tècnica del nitrat de lantà. (45.900x).*

FIG. 2.- *Invaginacions de la membrana basal de les cèl·lules R, en aquest cas s'observen molt contrastades a l'utilitzar àcid tànnic en la fixació. Làmina basal (Lb); nucli (N). Tècnica de l'àcid tànnic. (8.100x).*

FIG. 3.- *Tècnica de l'àcid tànnic. Podem distingir amb aquesta tècnica zones lamelars concèntriques (fletxa). (188.340x).*

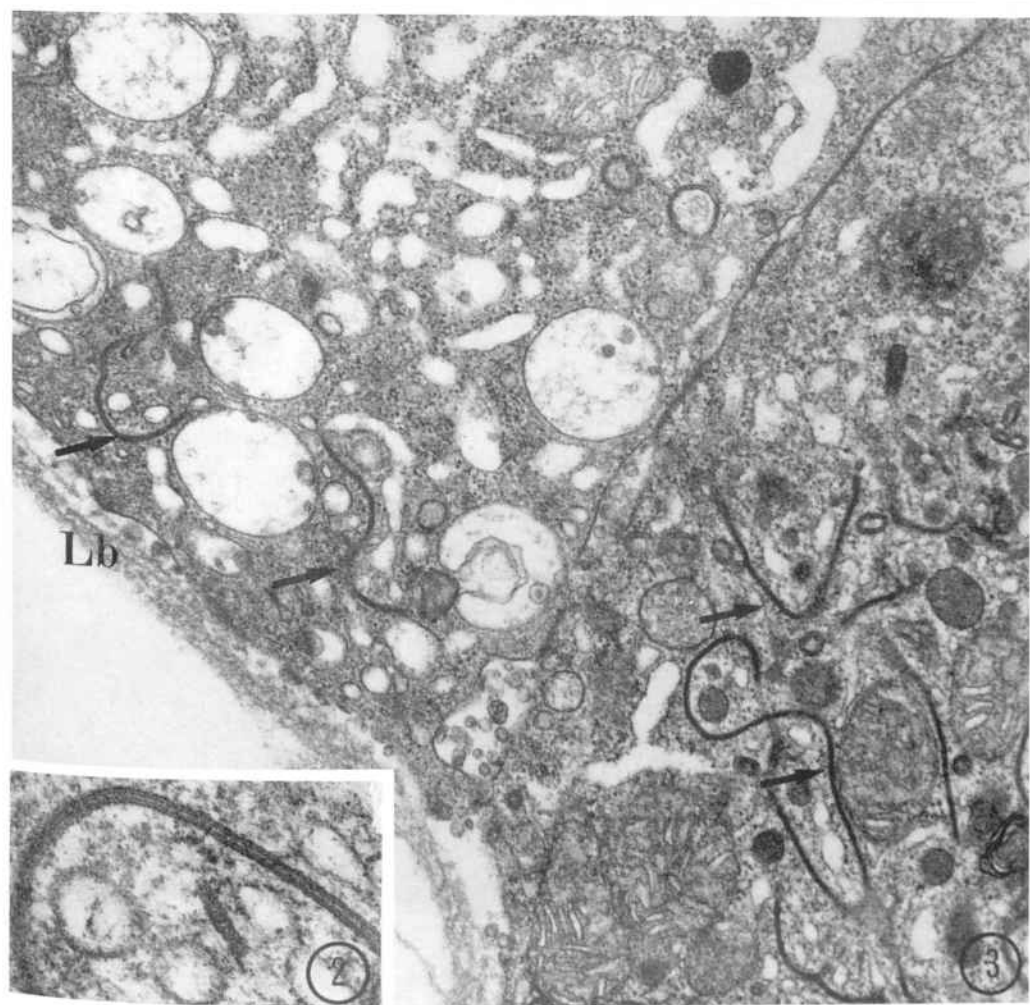
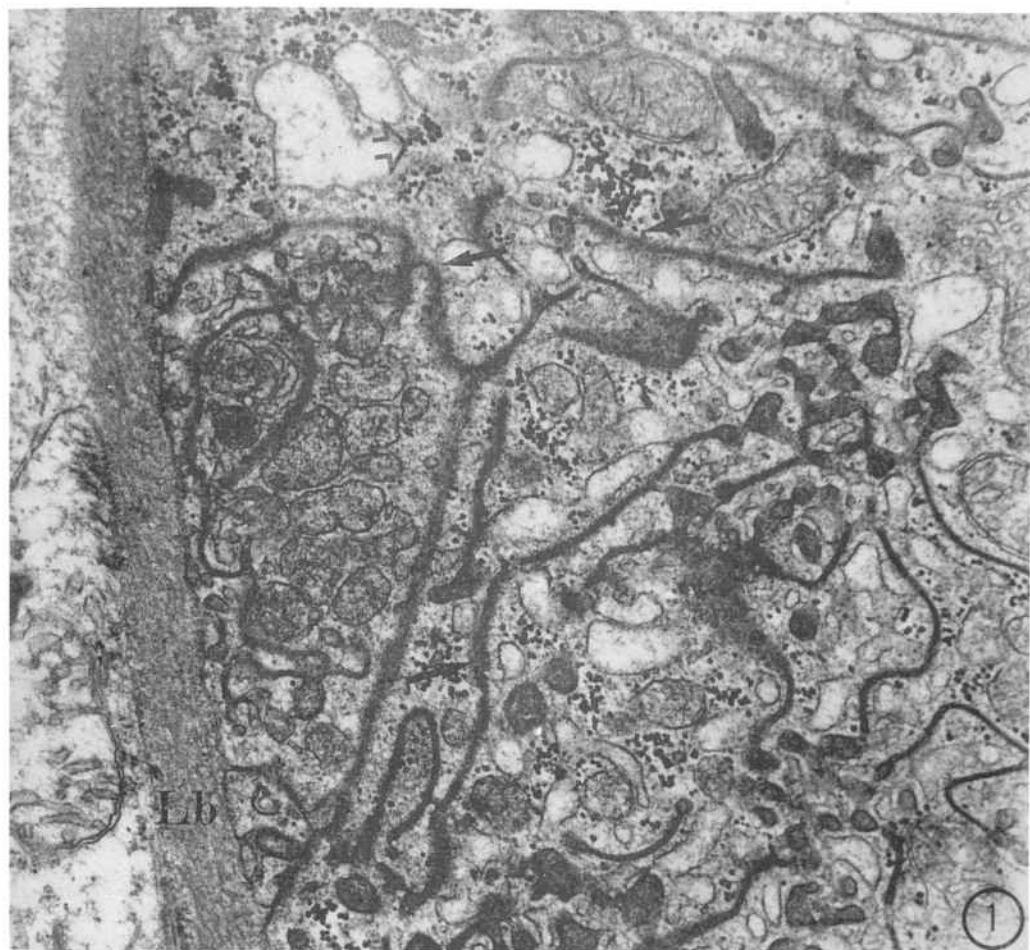


LAMINA XXXIII:

FIG. 1.- *Invaginacions de la membrana basal (fletxa) en les cèl.lules R. S'observa una dilatació de les cisternes del reticle endoplasmàtic. Làmina basal (Lb); glicogen (fletxa clara).* (31.100x).

FIG. 2.- *Detall d'un contacte septat en la regió basal.* (88.200x)

FIG. 3.- *Invaginacions de la membrana basal (fletxa), en aquest cas destaca la vacuolització entre elles.* (29.850x).



LAMINA XXXIV:

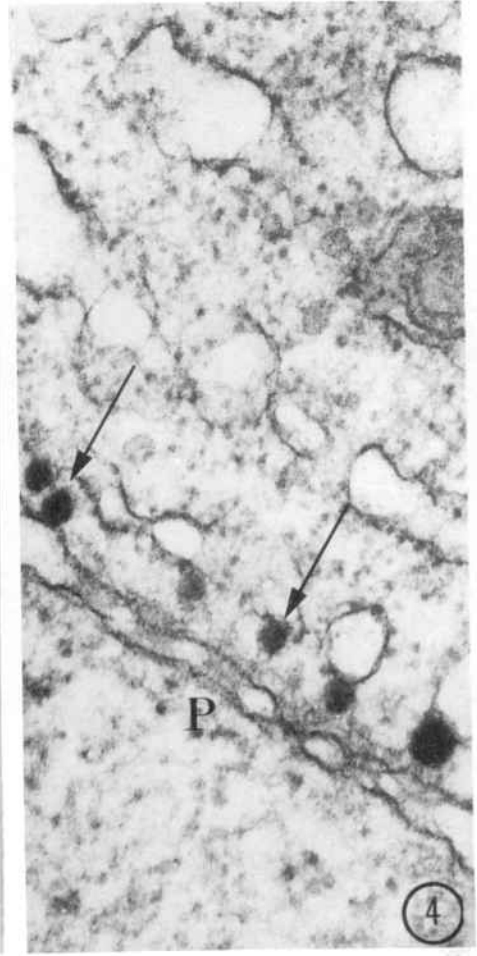
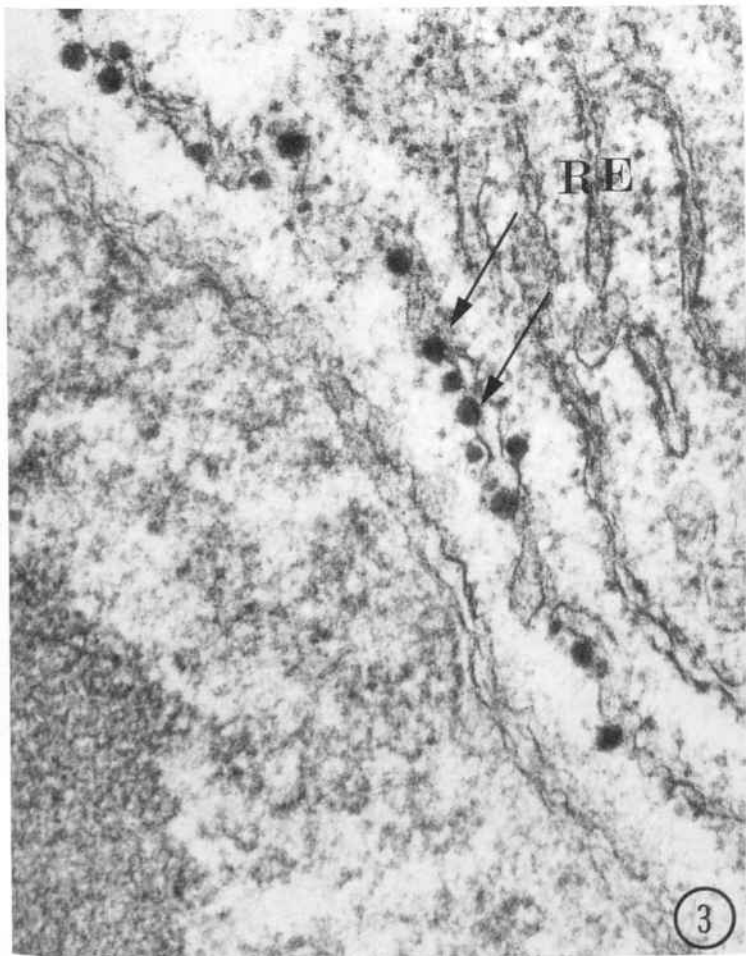
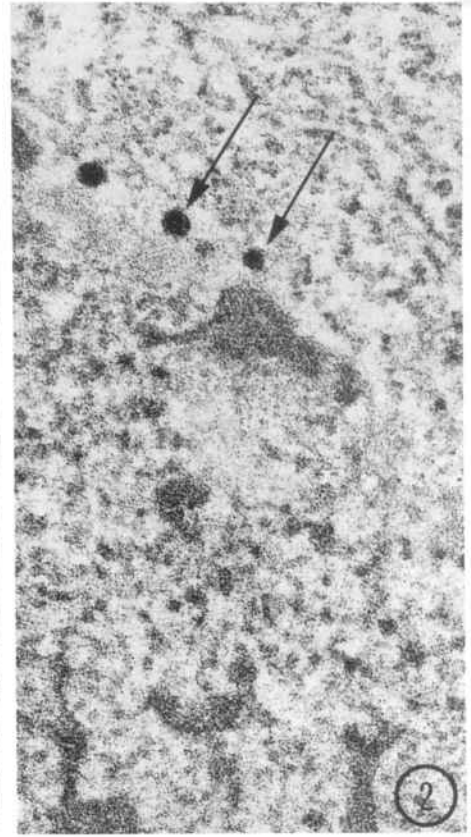
FIG. 1; 2; 3; 4.- *En front dels porus nuclears s'observen unes masses de material electrodens de caire ribonucleoproteic i positius a la tècnica de Bernhard. Porus nuclears (P).*

FIG. 1: Tècnica de l'àcid tànnic. (9.890x).

FIG. 2: Fixació Karnovsky, tècnica de Bernhard. (55.250x).

FIG. 3: Tècnica de l'àcid tànnic.(63.210x).

FIG. 4: Tècnica de l'àcid tànnic.(83.420x).



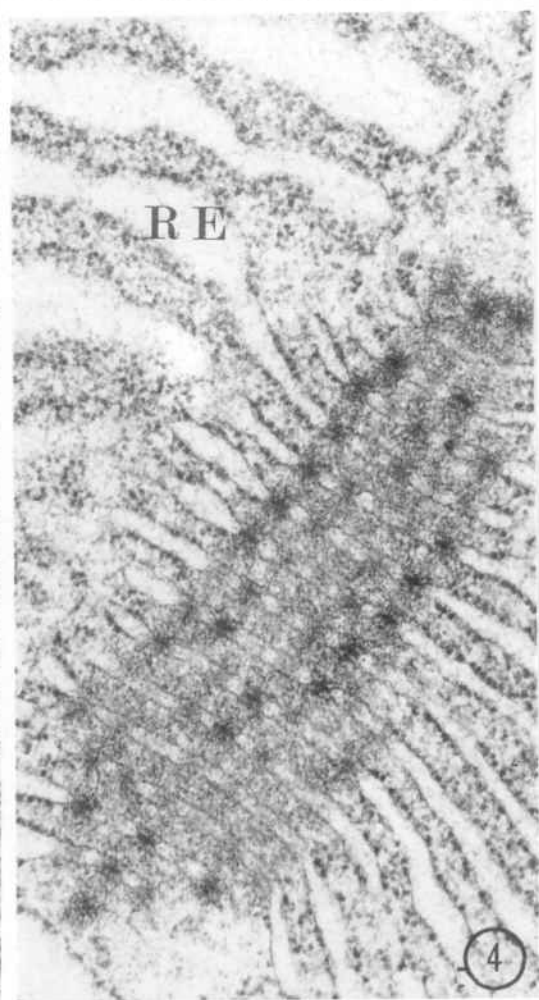
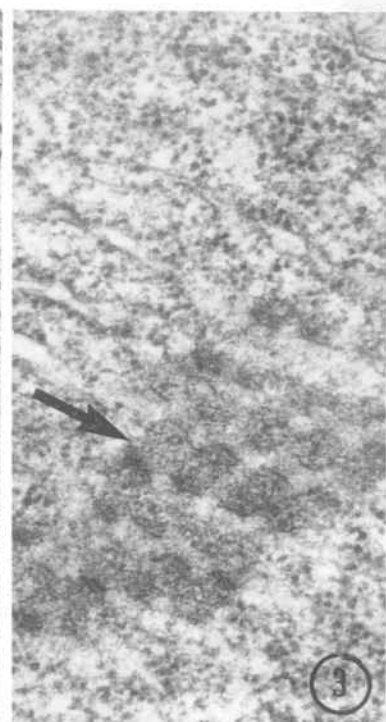
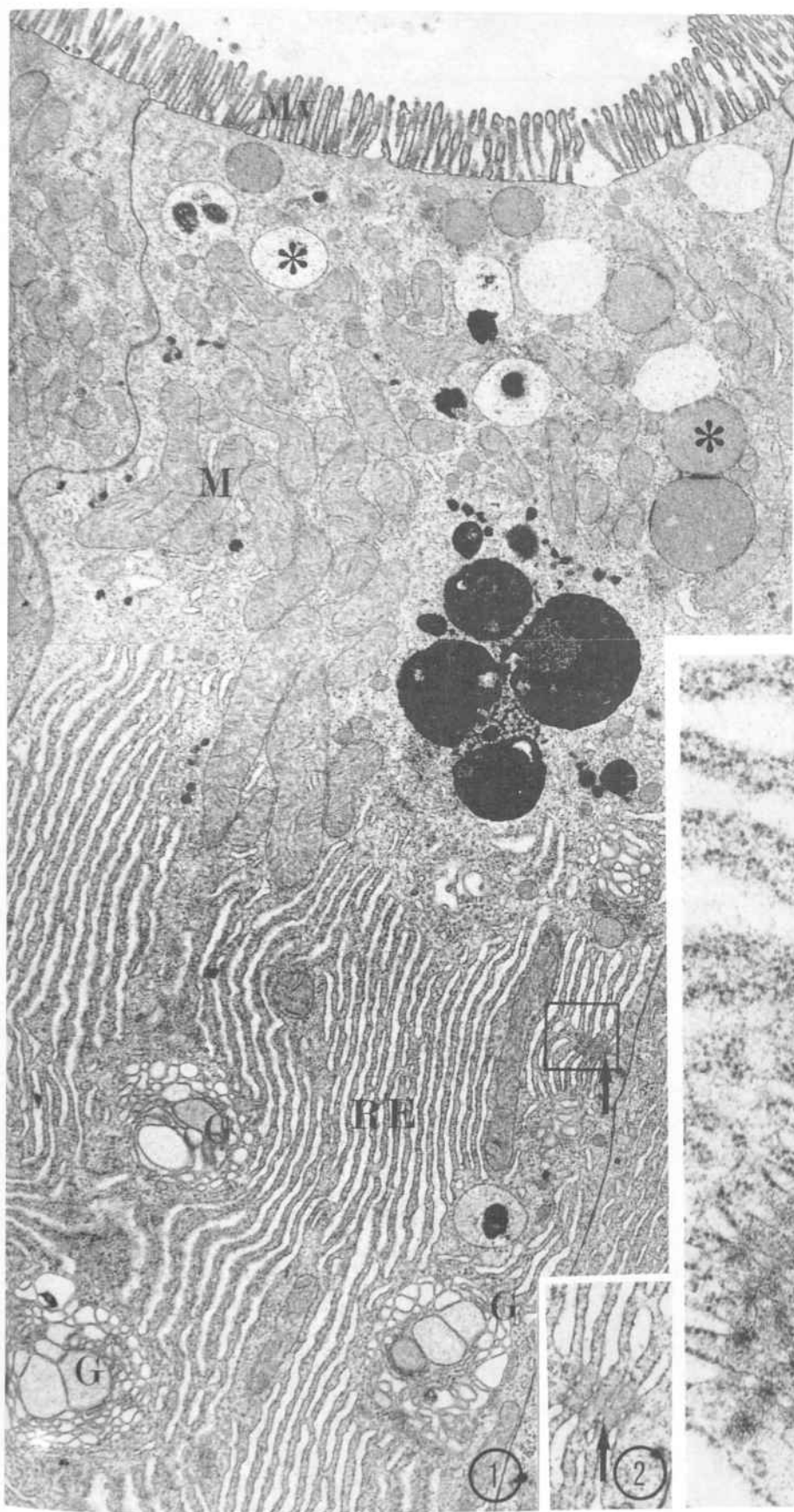
LAMINA XXXV:

FIG. 1.- Visió general d'una cèl.lula fibril.lar (cèl.lula F). Destaquem una menor alçada dels microvillis (Mv), la presència a la regió apical de grànuls de secreció d'aspecte clar o dens als electrons (asterisc). Vegeu la morfologia típica que adopta el complex de Golgi (G) amb les seves cisternes molt dilatades. Noteu la gran quantitat de reticle endoplasmàtic rugós (RE) i la presència d'estructures que recorden les làmines anellades (fletxa). (7.600x).

FIG. 2.- Làmines anellades. Detall de la FIG. 1. (18.360x).

FIG. 3.- Regió de reticle endoplasmàtic on es poden veure unes densificacions (fletxa). Aquesta formació correspon a làmines anellades vistes sesgadament. (62.720x).

FIG. 4.- Làmines anellades. Detall de la transició entre les vesícules del reticle endoplasmàtic rugós (RE) i les làmines anellades o periodíques. Vegeu la pèrdua de ribosomes i l'aparició regular de material electrodens. (56.150x).



LAMINA XXXVI:

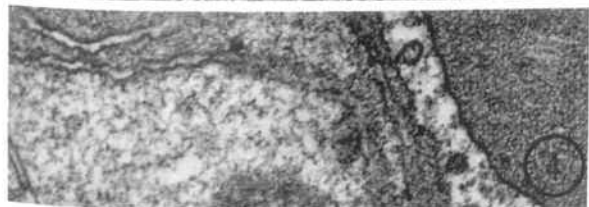
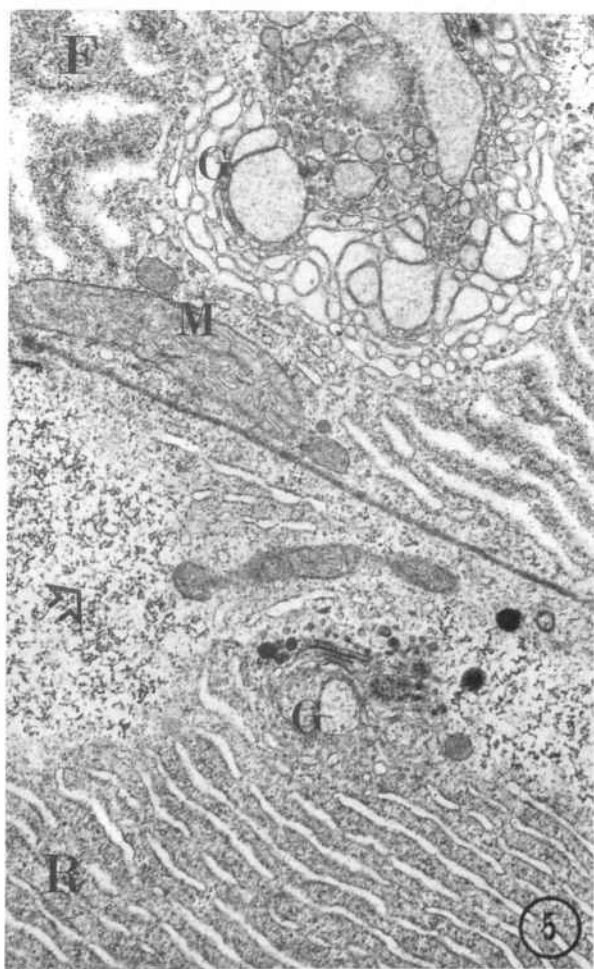
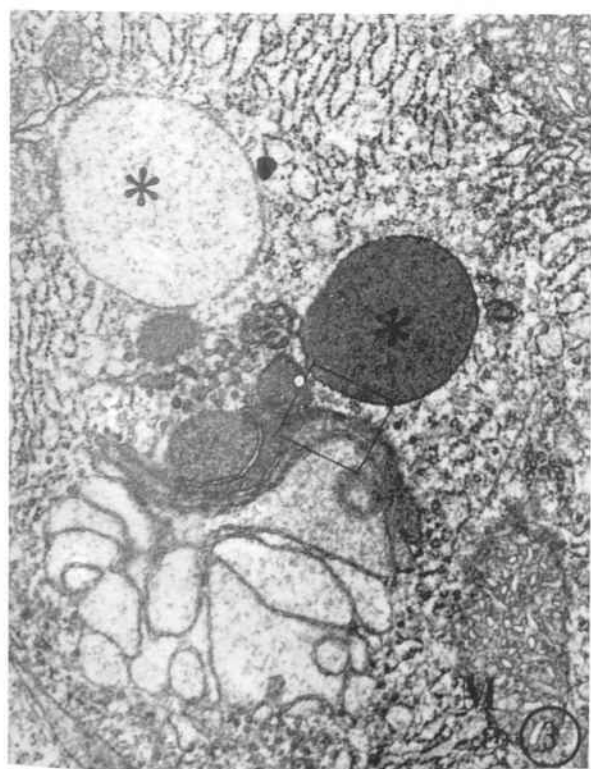
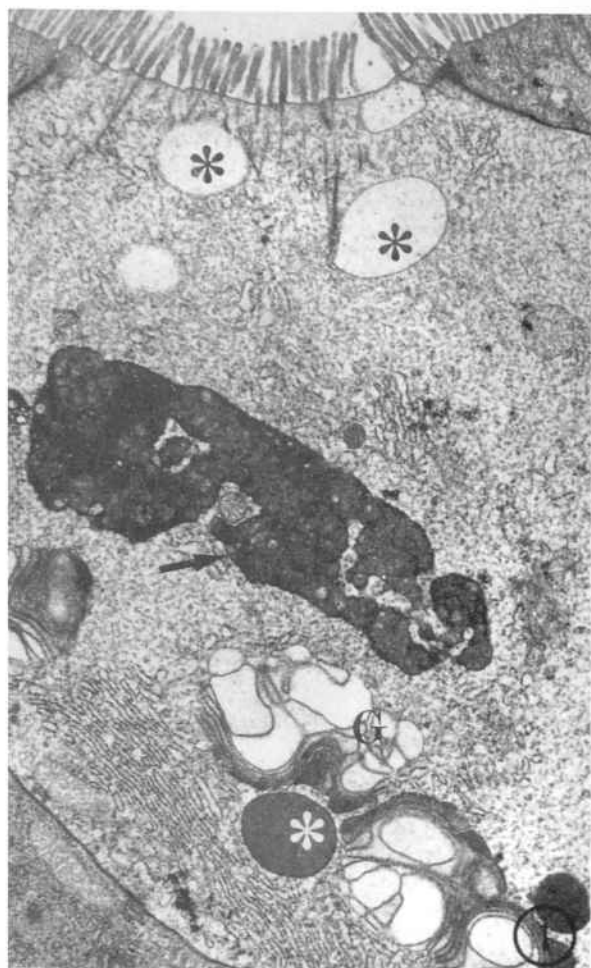
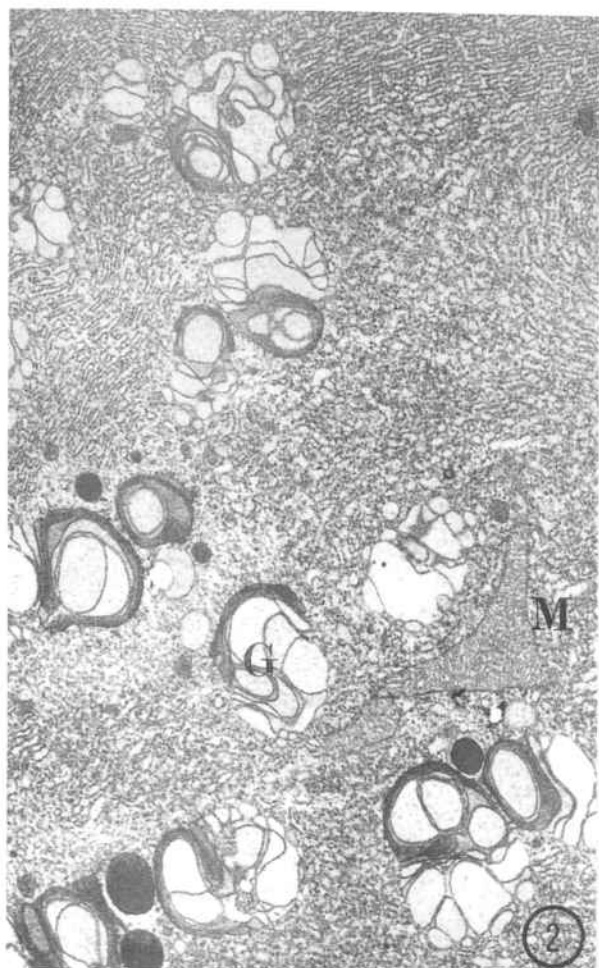
FIG. 1.- *Característiques generals d'una cèl.lula fibril.lar (cèl.lula F). Destaquem els grànuls de secreció (asterisc), un cos dens de forma irregular (fletxa), i els voluminosos dictiosomes (G) amb les seves cisternes hiperdilatades, en la seva proximitat poden veure's grànuls de secreció (asterisc blanc). (10.120x).*

FIG. 2.- *Dictiosomes d'una cèl.lula F. S'observa la hiperdilatació de les cisternes del complex de Golgi (G). Mitochondri (M). (7.560x).*

FIG. 3.- *Complex de Golgi d'una cèl.lula fibril.lar (cèl.lula F), destaca la dilatació dels sàculs de la cara de formació. En la proximitat del complex de Golgi s'observa, habitualment, mitocondris (M) i vacuols de secreció amb diferents graus de maduració (asterisc). (22.680x).*

FIG. 4.- *Detall del vacuol de secreció i de petits vesícules. (53.460x).*

FIG. 5.- *Complexs de Golgi (G) de dues cèl.lules veïnes cèl.lula fibril.lar (F) i cèl.lula absorbent (R), destaca la seva diferent morfologia. Glicogen (fletxa clara); mitocondri (M). (12.760x).*



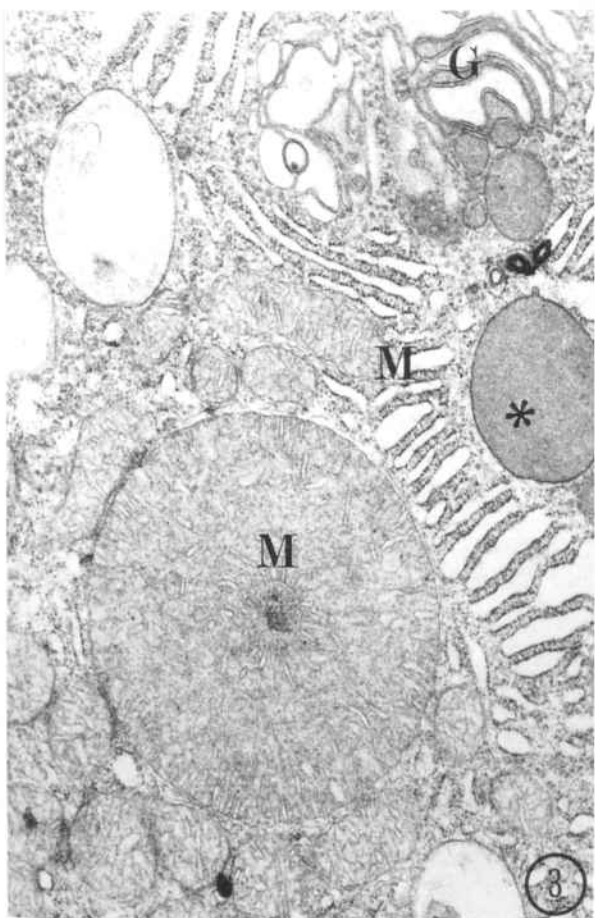
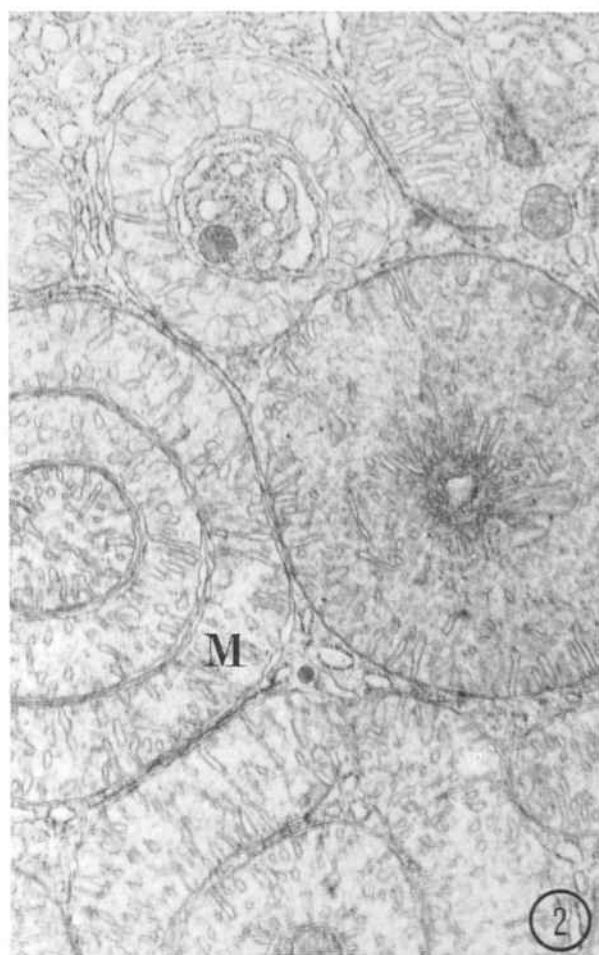
LAMINA XXXVII:

FIG. 1.- *Mitocondris, d'aspecta cupuliform, presents en determinats estadis metabòlics en les cèl.lules de l'hepatopàncreas. Vegeu en aquest cas com en l'interior del mitocondri (M) es pot distingir vesícules de reticle endoplasmàtic. Observeu també les invaginacions de la membrana lateral (fletxa). Tècnica de l'àcid tànnic. (17.480x).*

FIG. 2.- *Mitocondris de cèl.lula fibril·lar amb disposició concèntrica (M), observeu la seva forma de copa que permet veure en el seu interior cisternes de reticle endoplasmàtic. (16.480x)*

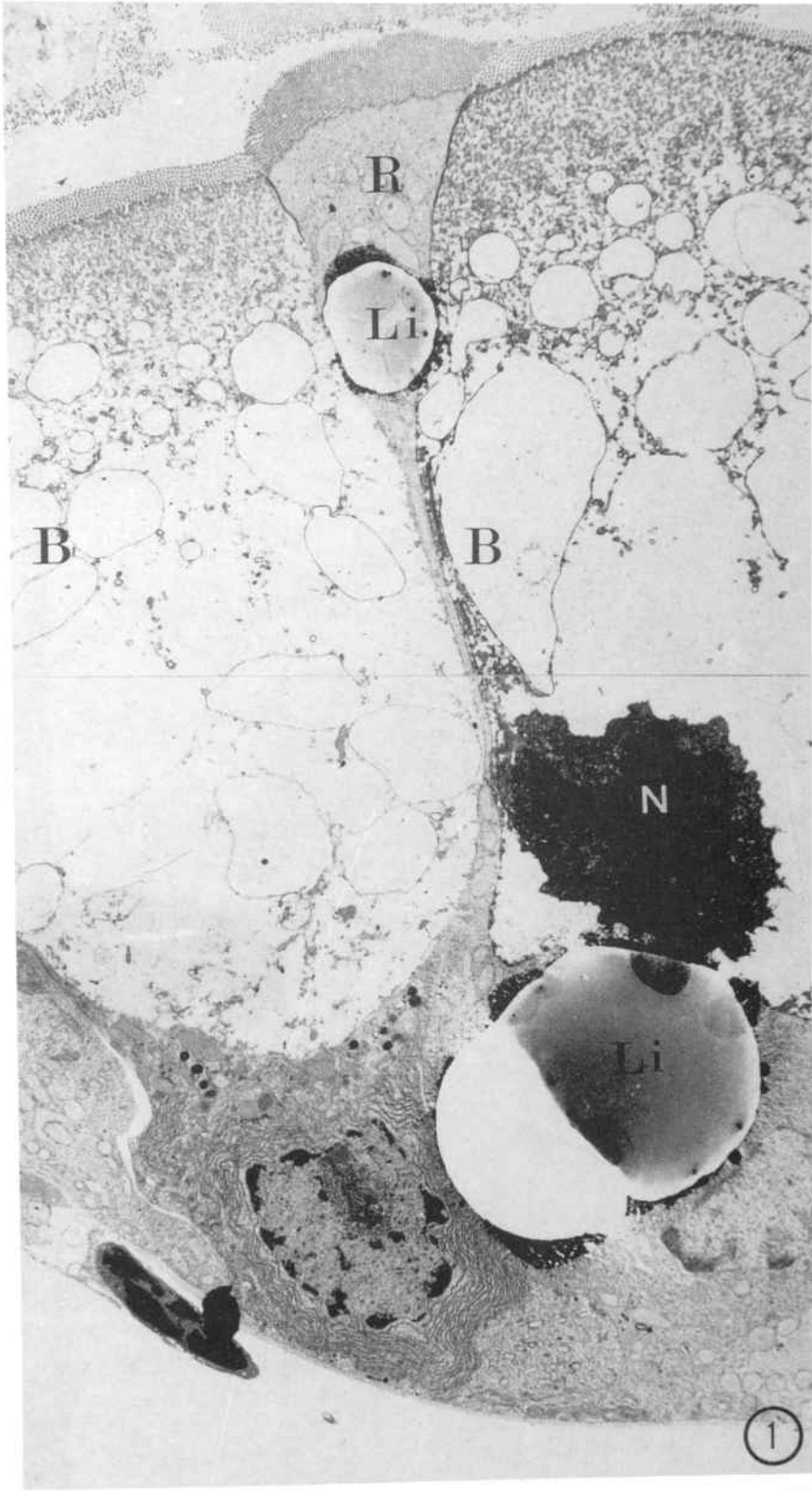
FIG. 3.- *Mitocondris (M) de les cèl.lules fibril·lar (cèl.lules F) amb diferent morfologia i tamany. Complex de Golgi (G); grànuls de secreció (asterisc). (16.480x).*

FIG. 4.- *Regió basal de les cèl.lules fibril·lars (cèl.lules F), veiem com el reticle endoplasmàtic rugós (RE) arriba fins a les proximitats de la làmina basal (Lb). S'observa també reticle endoplasmàtic llis en continuïtat amb la membrana basal (fletxa). Complex de Golgi (G); fibra muscular (fm). (8.460x).*



LAMINA XXXVIII:

FIG. 1.- *Visió general de dues cèl·lules B diferenciades. Hi destaca el citoplasma electrodens i molt vacuolitzat. Es veu les característiques del nucli (N): posició basal, forma lleugerament dentada. Perifèricament al nucli la riquesa del reticle endoplasmàtic rugós permet de veure el citoplasma molt electrodens. Cèl·lula absorbent (R); lípid (Li). (3.290x).*



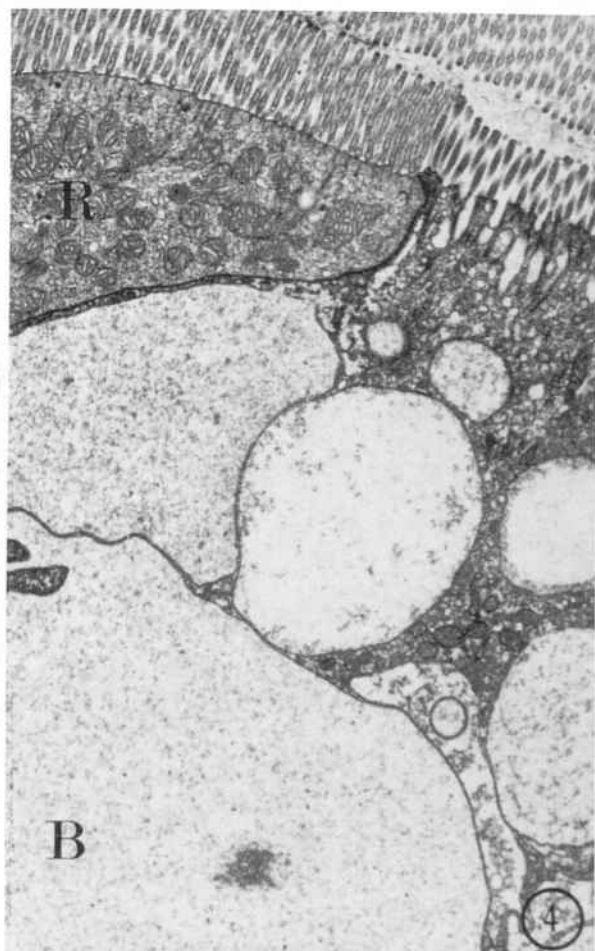
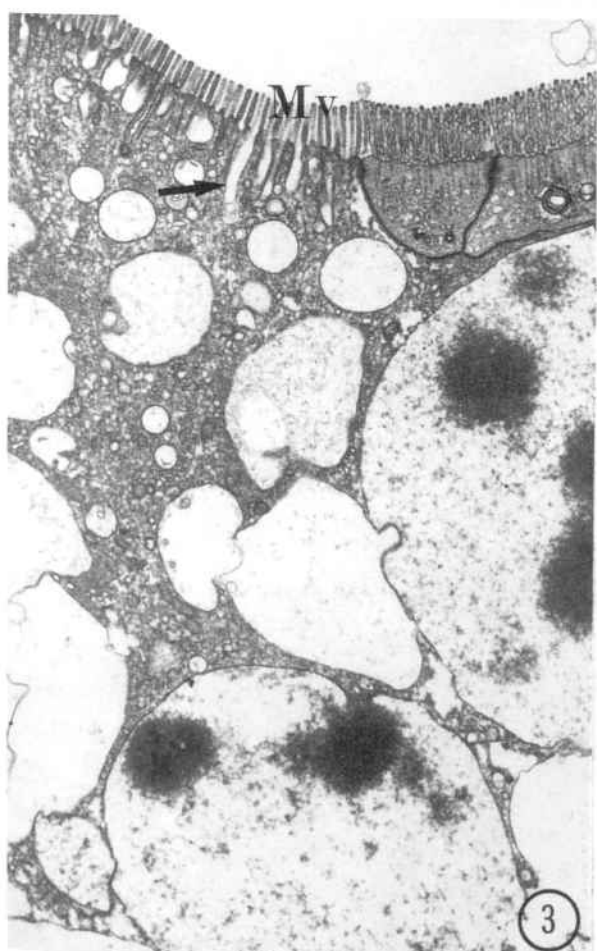
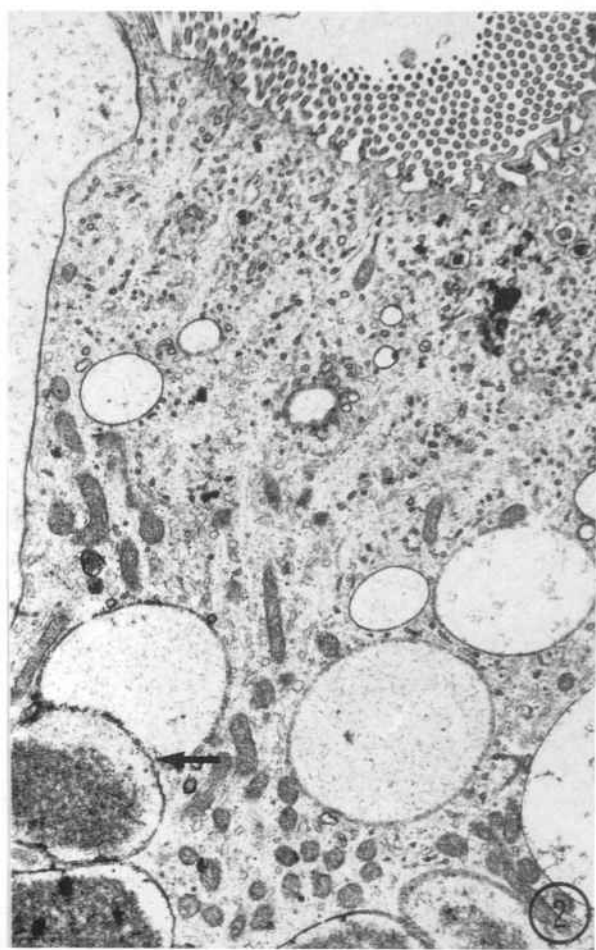
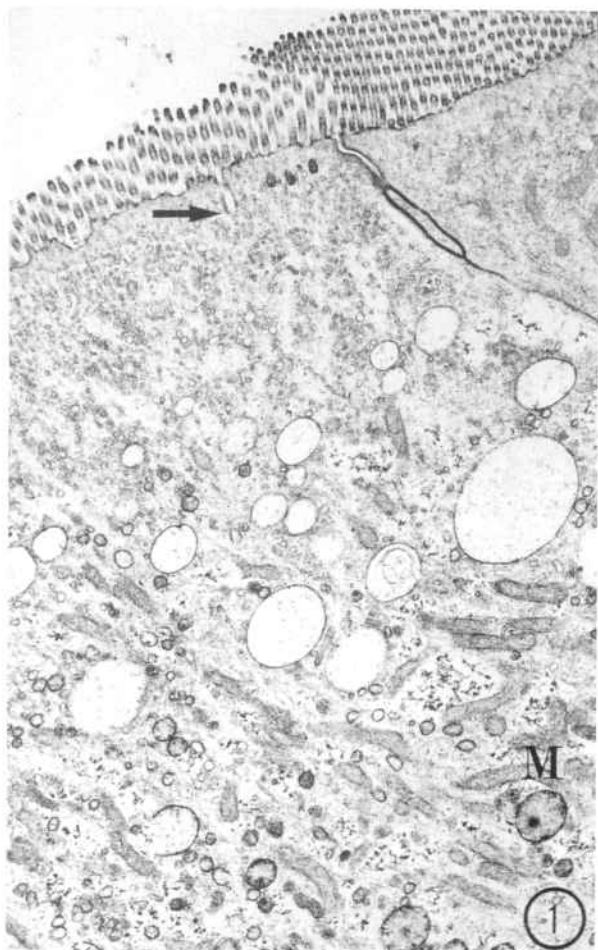
LAMINA XXXIX:

FIG. 1.- Regió apical d'una cèl.lula vacuolada jove (cèl.lula B). S'observen vesícules de pinocitosi i canals pinocítics (fletxa). En la regió subapical es nota un augment del tamany dels vacuols i alhora la presència d'un revestiment fibrós. Mitochondris (M). (6.300x).

FIG. 2.- Regió apical d'una cèl.lula B jove. S'hi veuen les vesícules de pinocitosi característiques de la cèl.lula. A la regió supranuclear s'observen els vacuols de major tamany i la seva coalescència (fletxa), amb un contingut finament granulós a l'interior. (6.300x).

FIG. 3.- Regió apical de la cèl.lula B diferenciada. Hi distingim l'elevada electrodensitat del polus apical del citoplasma, la presència del complex vesicular apical, amb nombrosos canals pinocítics (Fletxa) i la coalescència dels vacuols supranuclears. (7.740x).

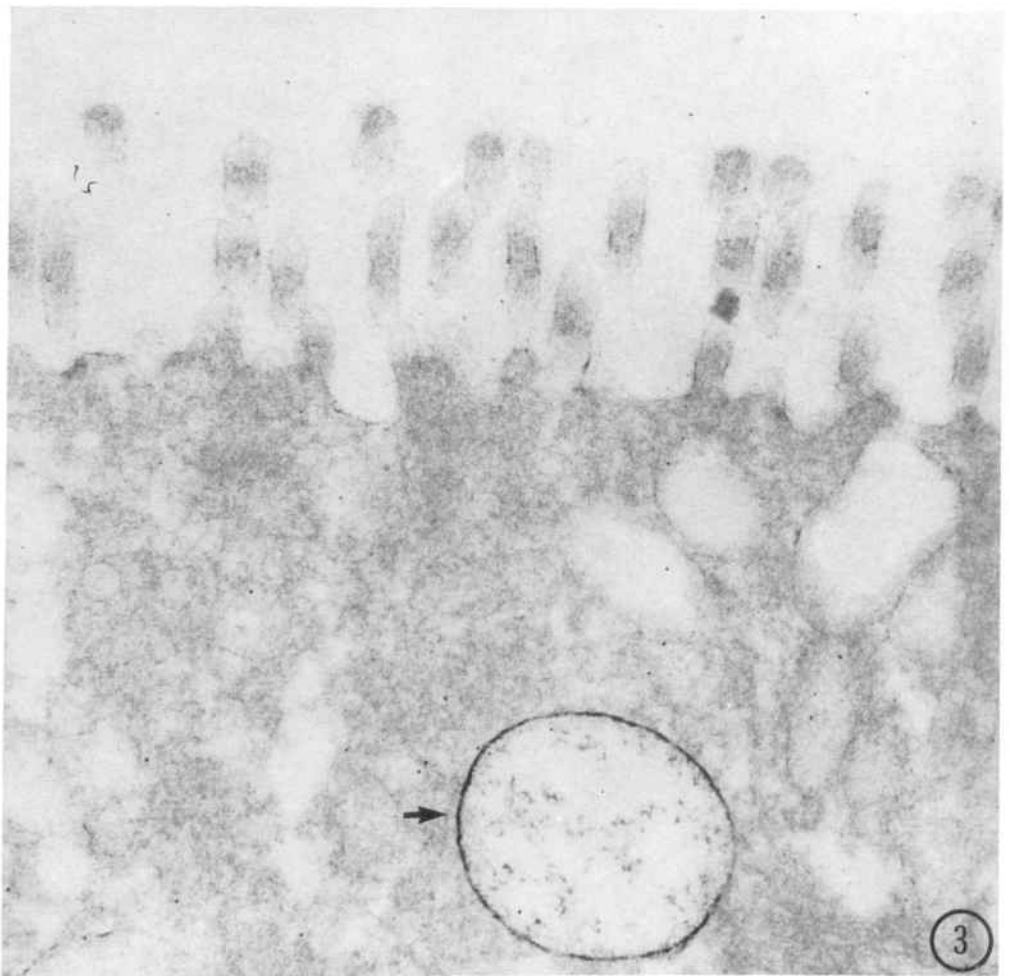
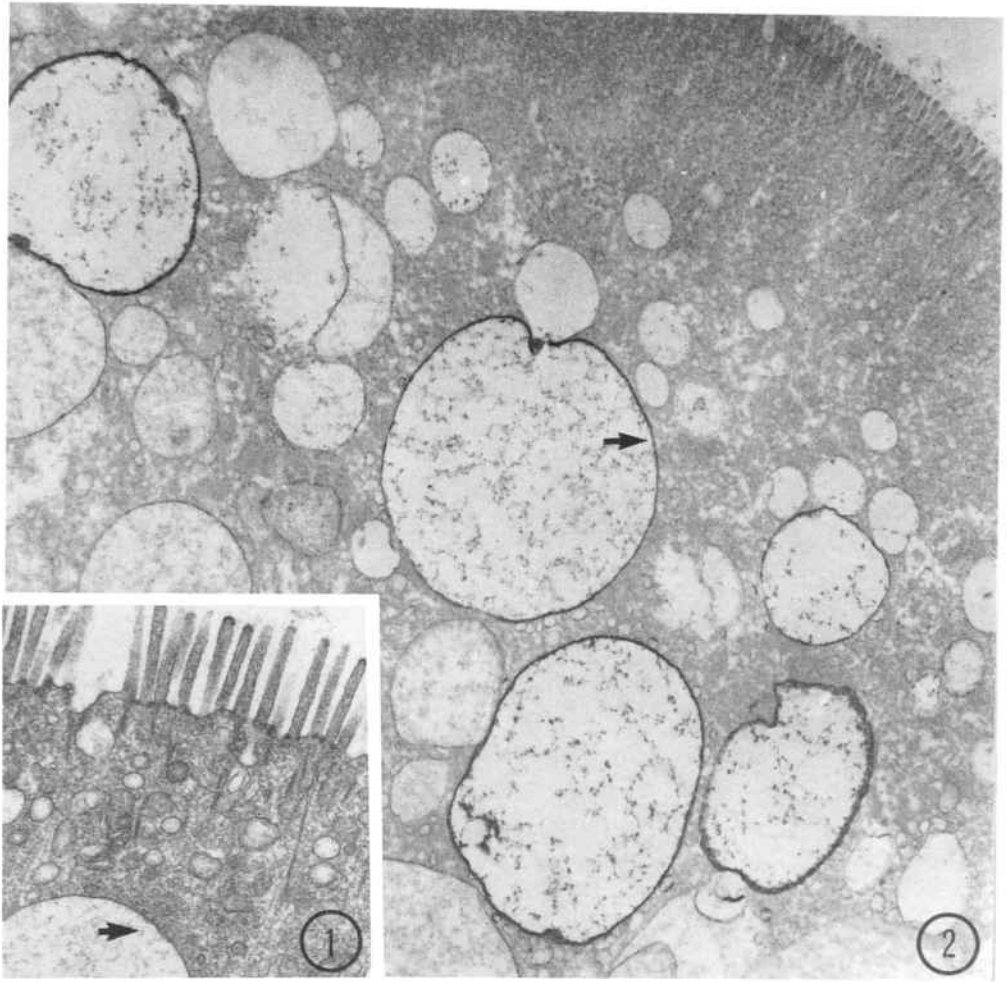
FIG. 4.- Regió apical d'una cèl.lula vacuolada (cèl.lula B) i d'una cèl.lula absorbent (cèl.lula R). Hi destaca la diferent alçada dels microvillis, i a la cèl.lula B la presència de canals pinocítics. (10.800x).



LAMINA XL:

FIG. 1.- *Regió apical de la cèl.lula vacuolada (cèl.lula B), s'observa un revestiment fibrós (fletxa) en alguns vacuols. (18.300x).*

FIG. 2 i 3.- *Regió apical de les cèl.lules B (vacuolades). Tan sols presenten reacció positiva a la tècnica del P.T.A. alguns dels vacuols més interns (fletxa). Tècnica del P.T.A. (àcid fosfotúngstic). FIG. 2: (8.460x). FIG. 3: (54.880x).*

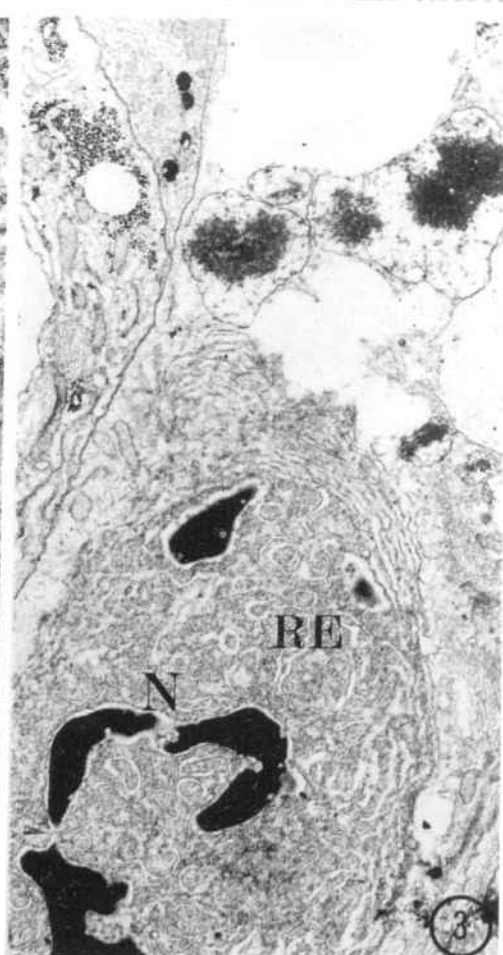
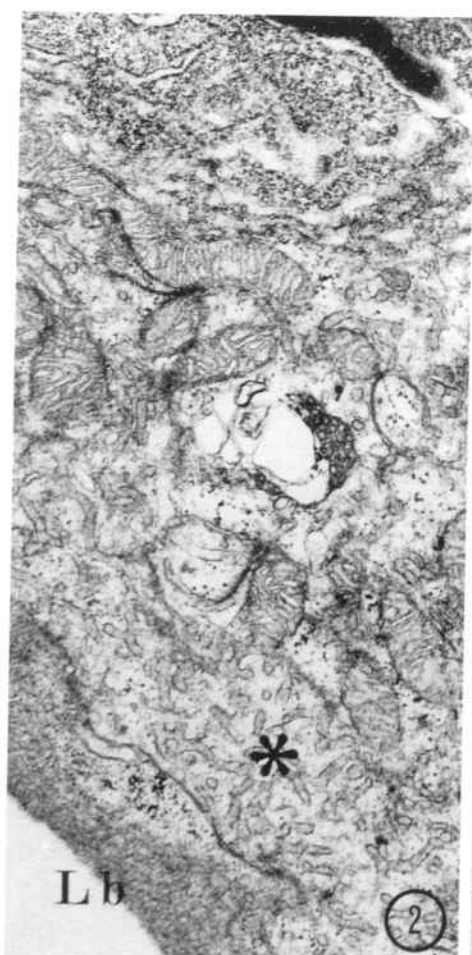
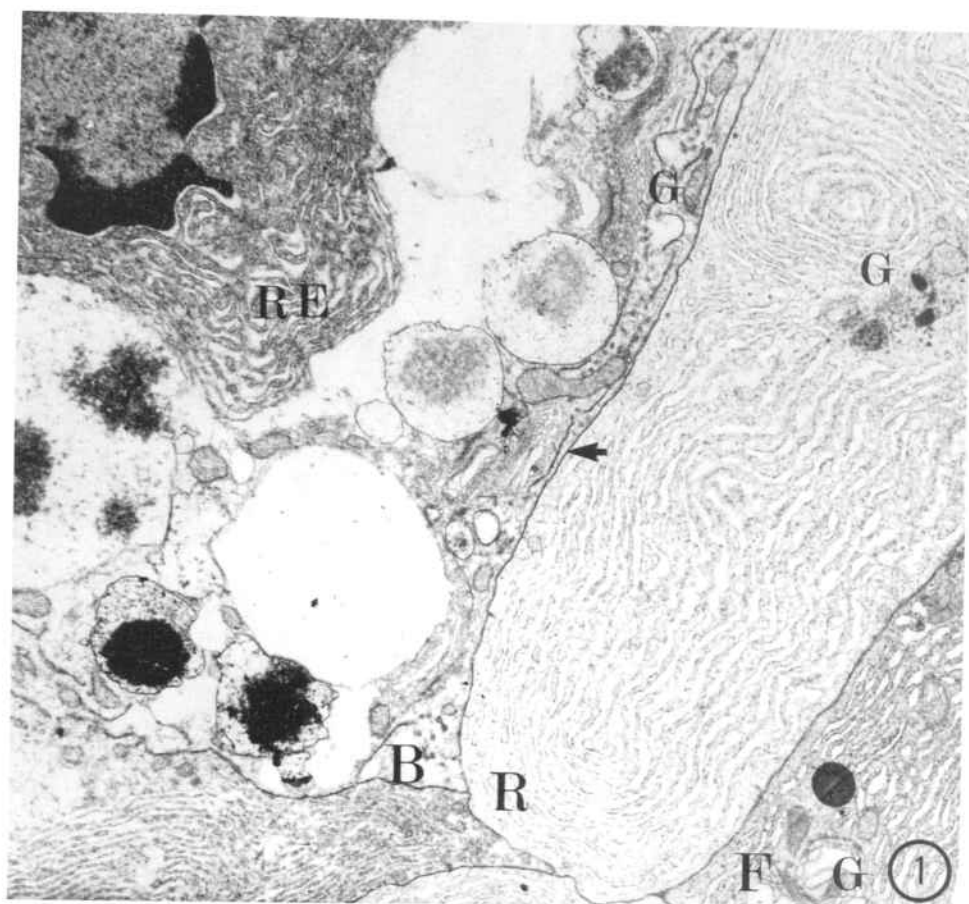


LAMINA XLI:

FIG. 1.- *Regió perinuclear de les cèl·lules B (vacuolades), on se situa el reticle endoplasmàtic rugós (RE) i el complex de Golgi, (G). Es pot veure també les característiques del complex de Golgi en tres models cel·lulars: cèl·lules absorbents (R), fibril·lars (F), i vacuolades (B). Destaca en les cèl·lules vacuolades primarenques, la presència d'invaginacions del plasmalemma (fletxes). (7.740x).*

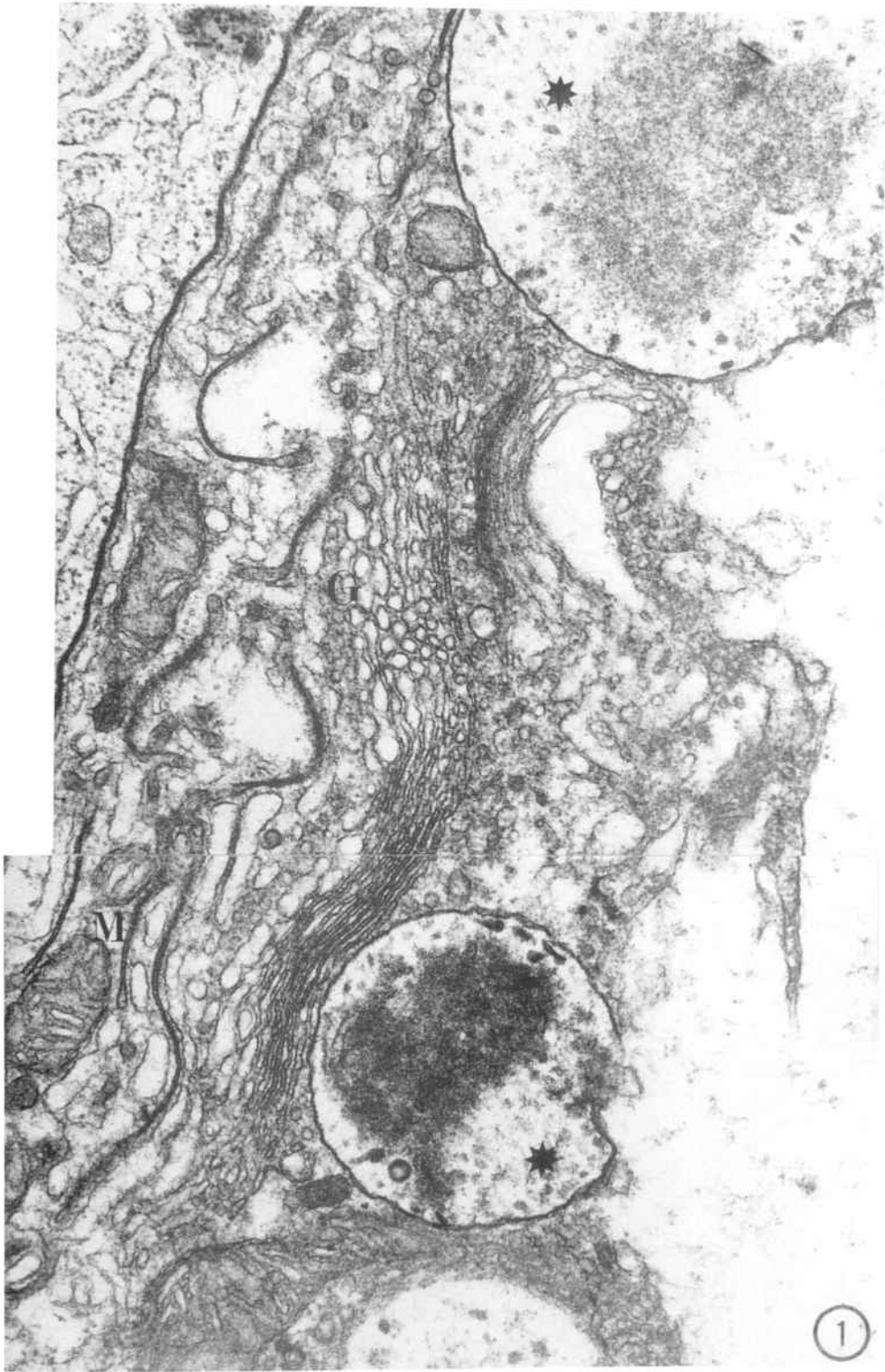
FIG. 2.- *Regió basal d'una cèl·lula B jove, on poden observar-se la presència de reticle endoplasmàtic llis (asterisc). Làmina basal (Lb); nucli (N). (7.000x)*

FIG. 3.- *Regió perinuclear d'una cèl·lula vacuolada (cèl·lula B), on s'observa la disposició típica de les vesícules del reticle endoplasmàtic rugós (RE). Nucli (N). (7.700x).*



LAMINA XLII:

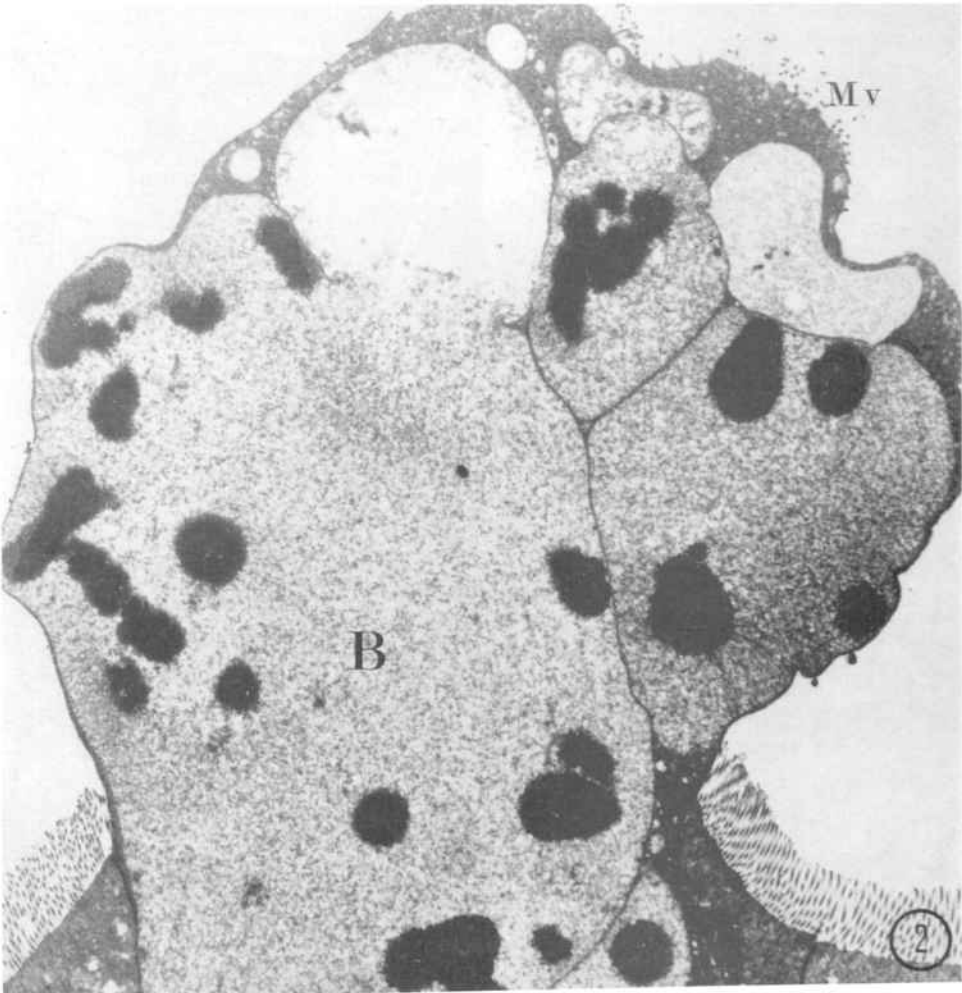
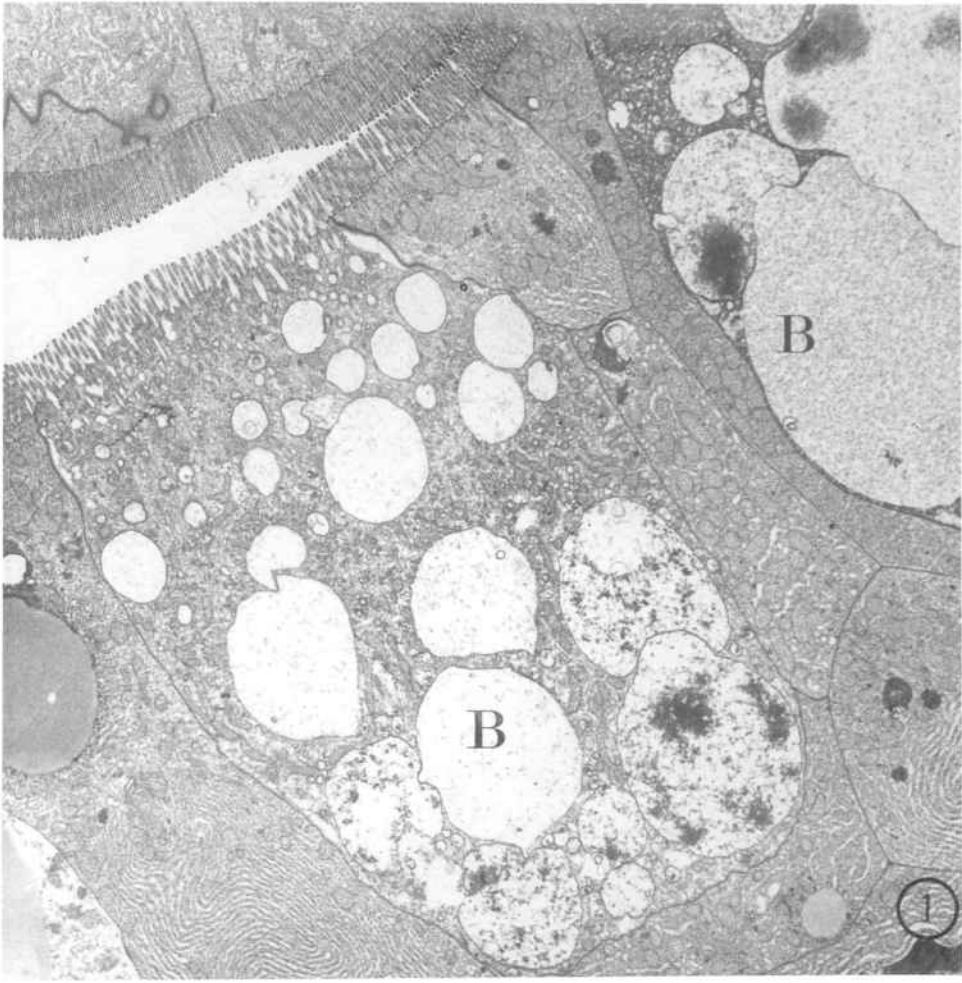
FIG. 1.- *Complex de Golgi de les cèl.lules vacuòldes (cèl.lula B), on veiem les cisternes Golgianes arquejades i fragmentades. Observeu, també, el contingut heterogeni dels vacuòls de les cèl.lules B (asterisc). Mitochondris (M).(36.550x).*



LAMINA XLIII:

FIG. 1.- *Regió apical d'una cèl.lula vacuolada (cèl.lula B). S'observa un diferent contingut vacuolar segons la proximitat del polus apical de la cèl.lula. (4.300x).*

FIG. 2.- *Secreció de tipus merocri en les cèl.lules vacuolades (B). Microvillis (Mv). (5.000x).*

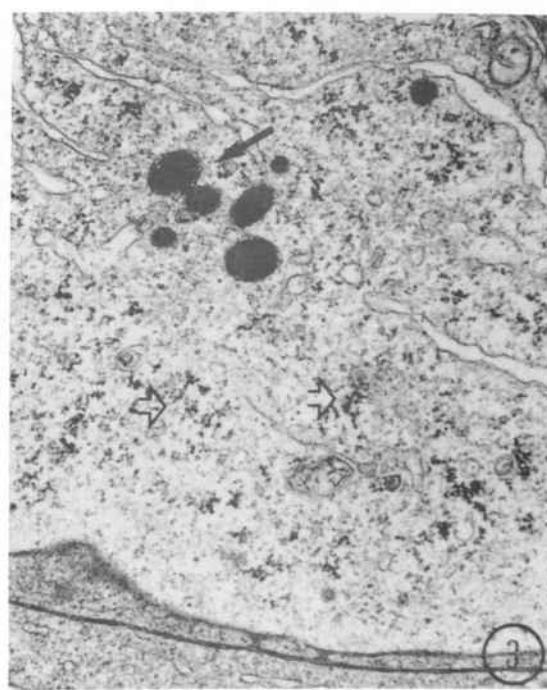
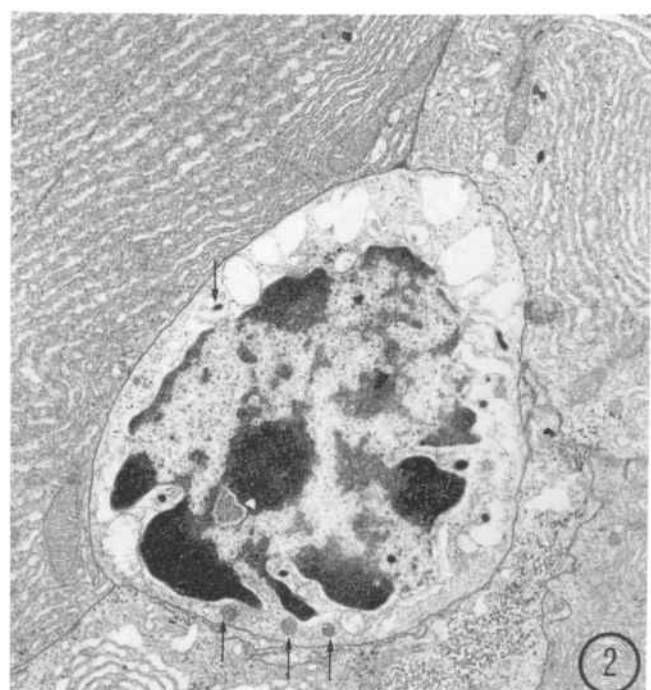
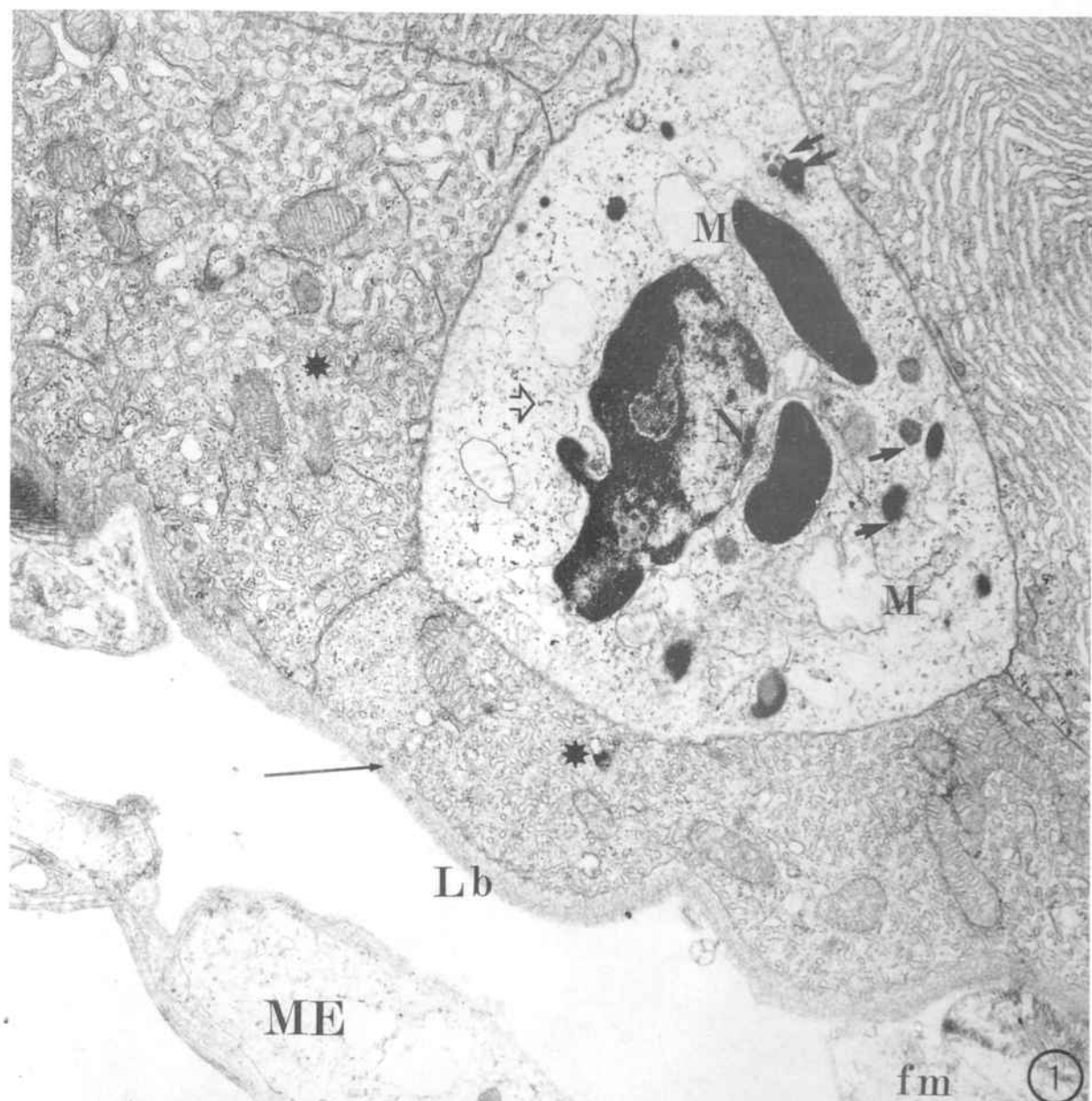


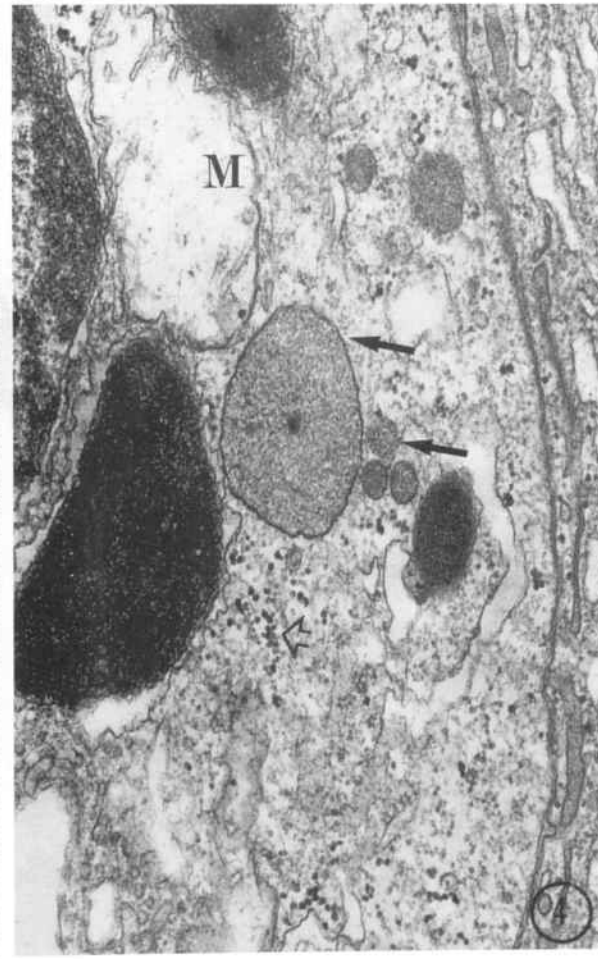
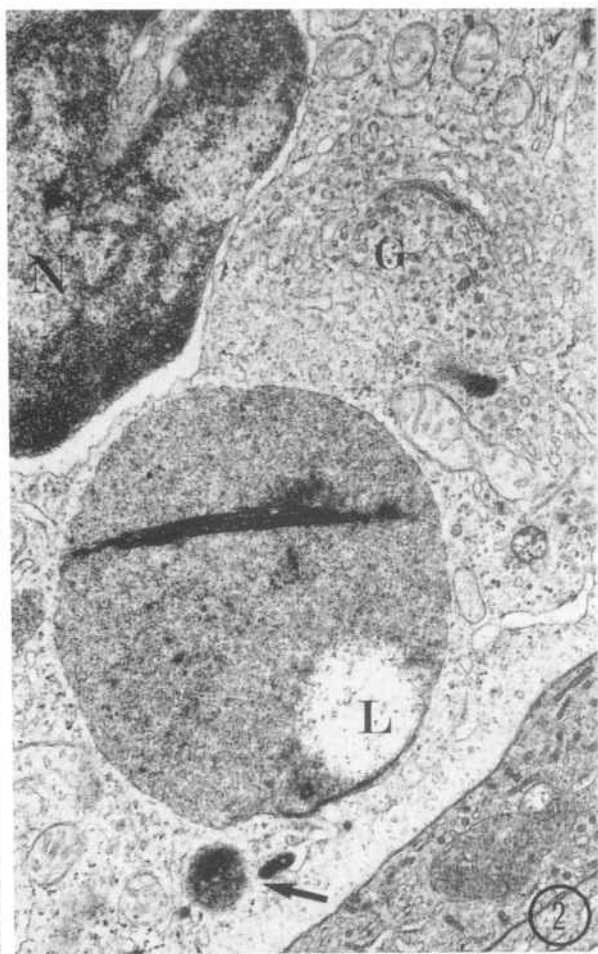
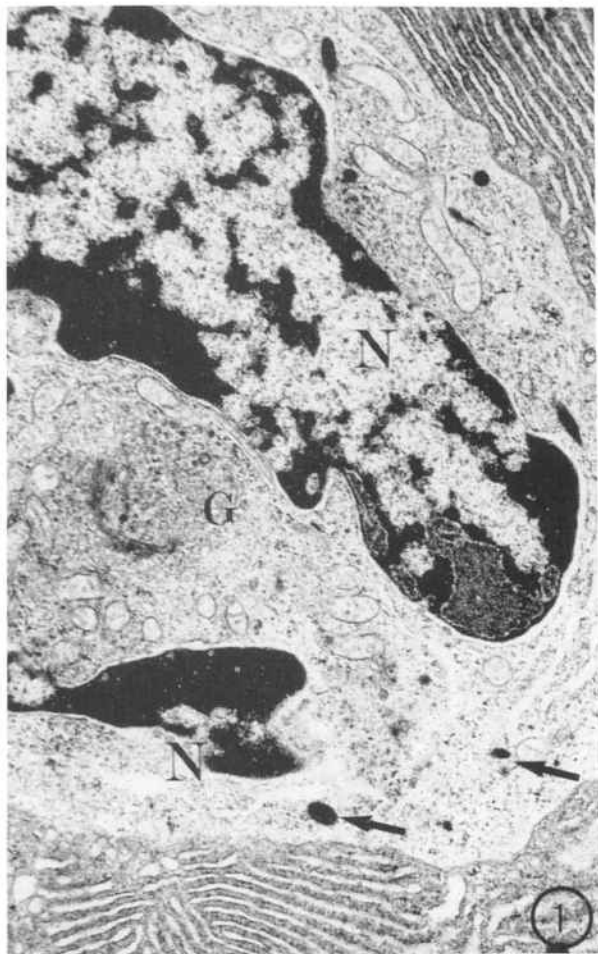
LAMINA XLIV:

FIG. 1.- Cèl.lula endocrina situada a la regió basal del epiteli de l'hepatopàncreas. El nucli (N) central i lobulat destaca en el citoplasma pàlid, amb pocs orgànuls. Els mitocondris (M), molt làbils en aquest tipus cel.lular (compareu.los amb els de les cèl.lules veïnes) presenten diferents estadis de vesiculització. Grànuls de glicogen (fletxa clara); grànuls de secreció amb diferents graus de maduració (fletxa), s'observa la fusió de diversos grànuls (doble fletxa); sistema membranós de les cèl.lules absorbents (cèl.lules R) veïnes (asterisc); continuïtat del sistema membranós amb la membrana basal (fletxa llarga); fibres musculars (fm); membrana externa que envolta tota la glàndula digestiva (ME). (13.110x).

FIG. 2.- Visió general d'una cèl.lula endocrina, observeu el citoplasma pàlid i el nucli un xic lobulat. Grànuls de secreció (fletxa). (5.700x).

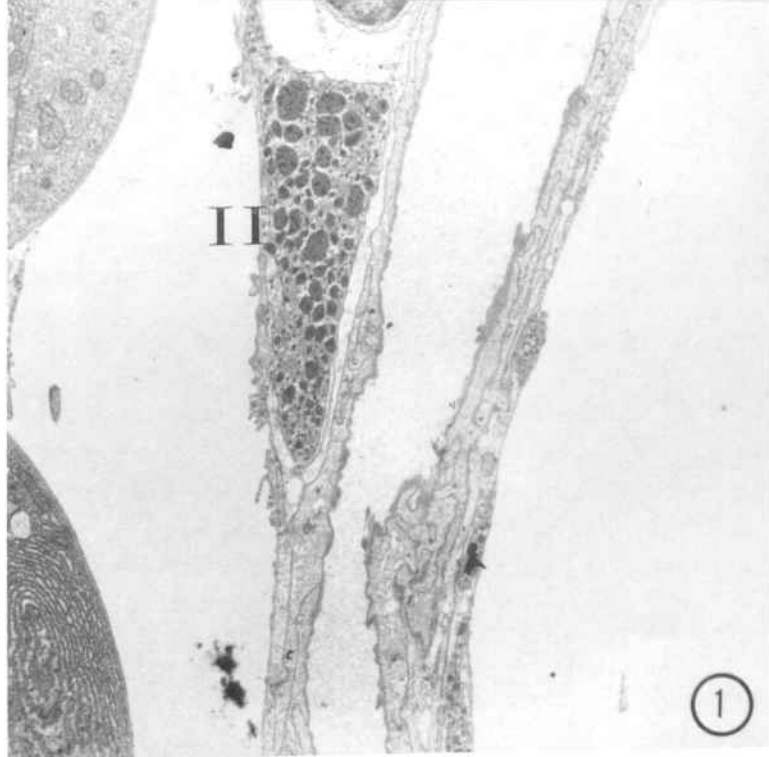
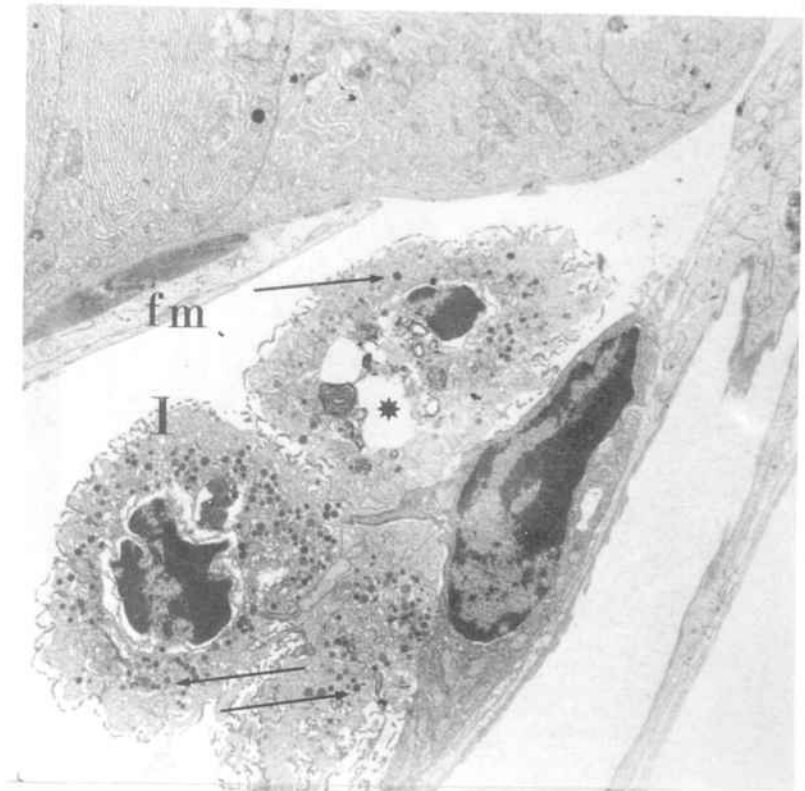
FIG. 3.- Detall dels grànuls de secreció (fletxa) electrodensos de les cèl.lules endocrines. Grànuls de glicogen (fletxa clara). (23.760x).





LAMINA XLVI:

FIG. 1.- *Vas sanguini (V) i cèl.lules sanguínies en l'hepatopàncreas. S'observen agregats de cèl.lules fagocítiques (I), destaca en el seu citoplasma cossos residuals (asterisc) i petits grànuls densos als electrons (fletxa), cèl.lules amb inclusions (II) amb els seus característics grànuls. Làmina basal (Lb); fibra muscular (fm); regió basal de cèl.lules R (R), nucli de cèl.lula endotelial (N). (2.450x).*

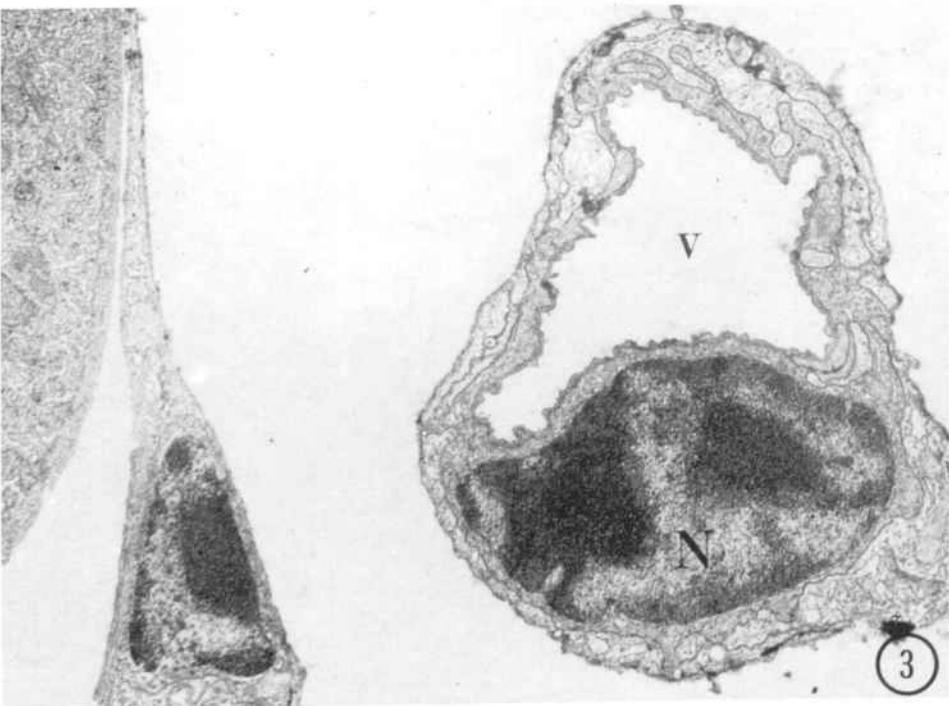
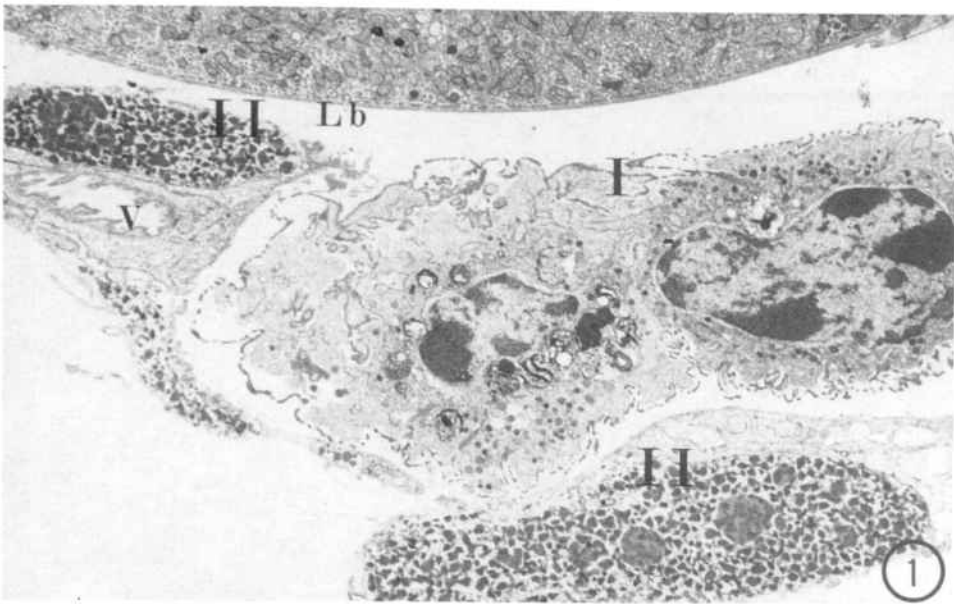


LAMINA XLVII:

FIG. 1.- Presència de cèl·lules hemàtiques entre els túbuls de l'hepatopàncreas. Cèl·lules del tipus fagocític (**I**) agrupades i amb el contorn citoplasmàtic irregular. Vegueu també les cèl·lules amb inclusions (**II**) amb els grànuls característics, i en la seva proximitat un vas (**V**). Làmina basal (**Lb**). (3.010x).

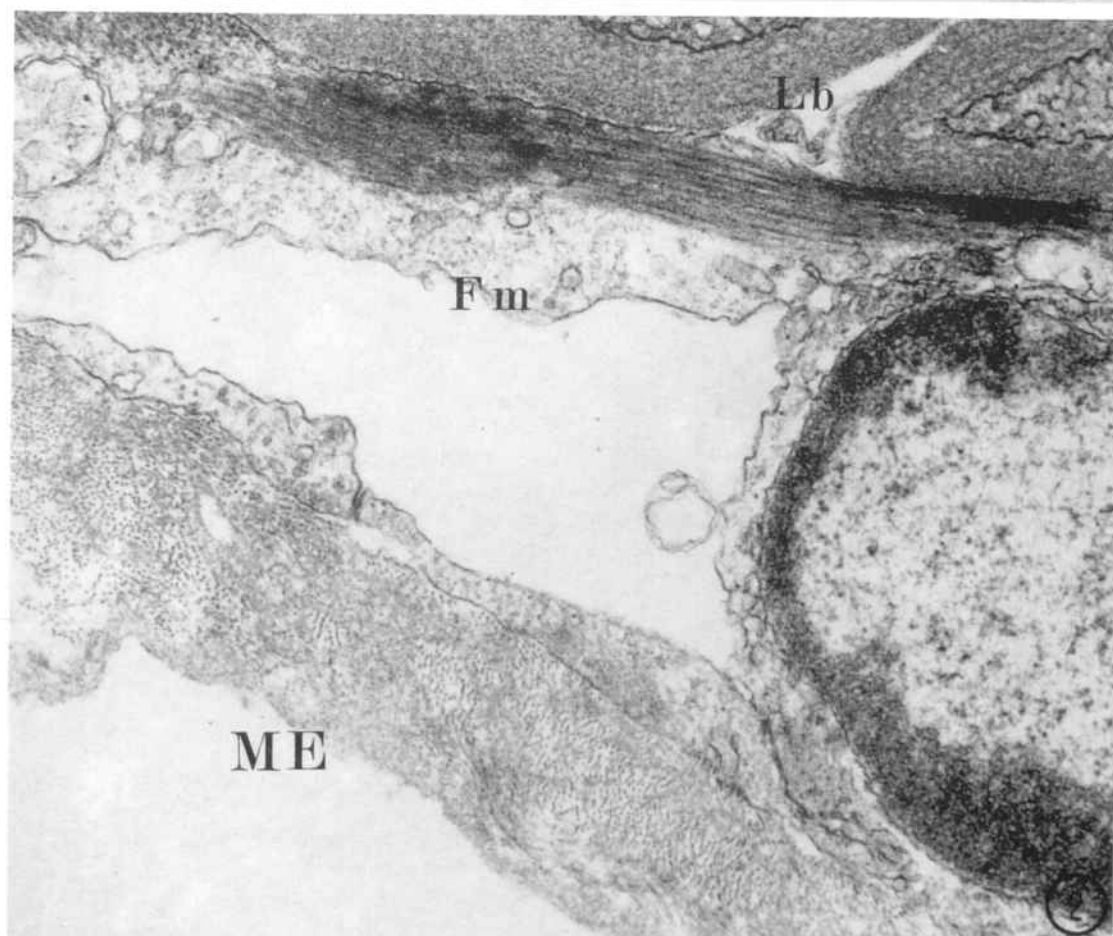
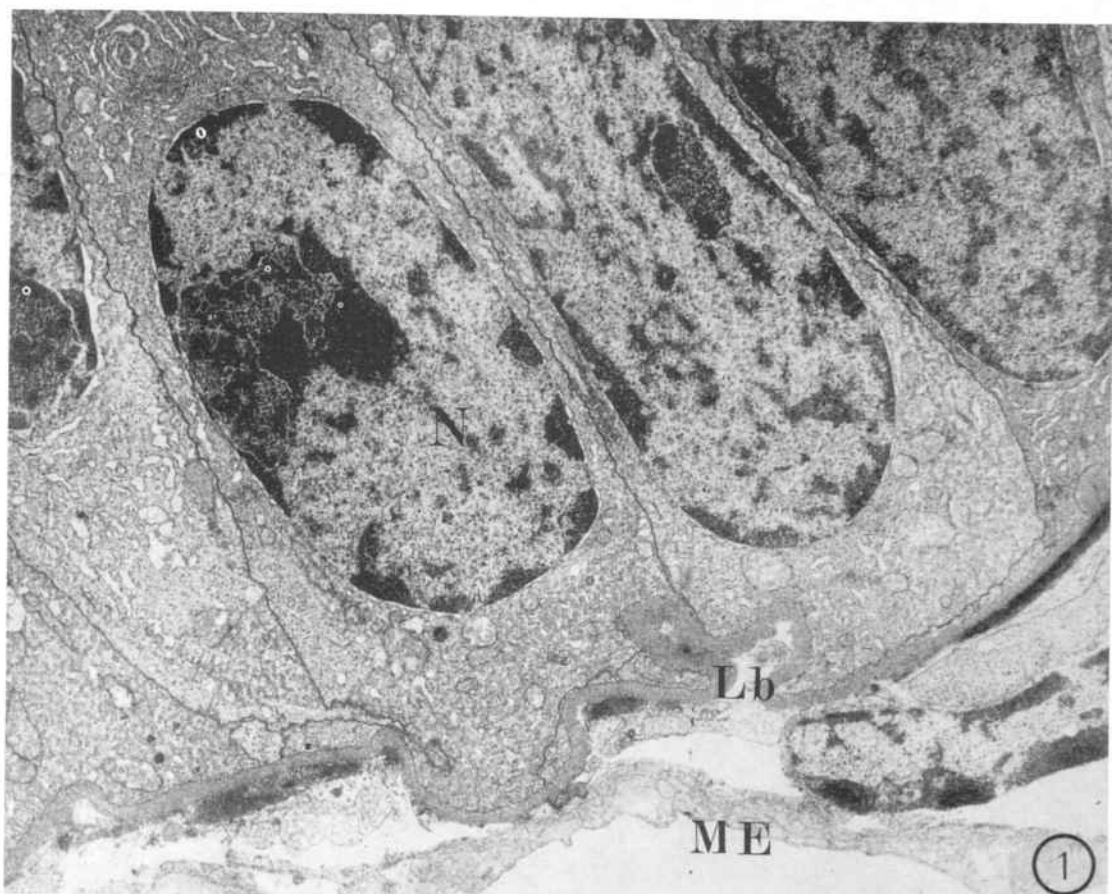
FIG. 2.- Cèl·lula hemàtica del tipus semigranulós. Vegeu els grànuls de diferent electrodensitat que caracteritzen aquest model cel·lular (fletxa). Làmina basal (**Lb**); fibra muscular (**Fm**); vas (**V**). (12.470x).

FIG. 3.- Vas sanguini (**V**), en les proximitats dels túbuls de l'hepatopàncreas. Es pot veure el voluminós nucli (**N**) de la cèl·lula endotelial. (7.740x).



LAMINA XLVIII:

FIG. 1 i 2.- Coberta exterior rica en fibres de col.làgena que envolta l'hepatopàncreas (ME). Nuclis de cèl.lules E (N), làmina basal (Lb); fibres musculars (Fm). **FIG. 1.-** (5.430x). **FIG. 2.-** (29.870x)



LAMINA XLIX:

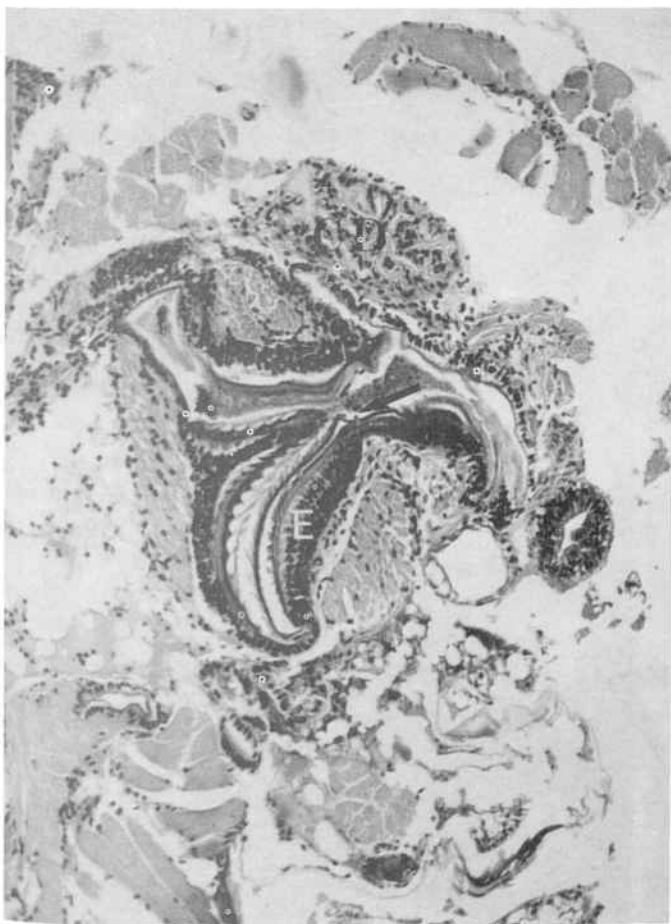
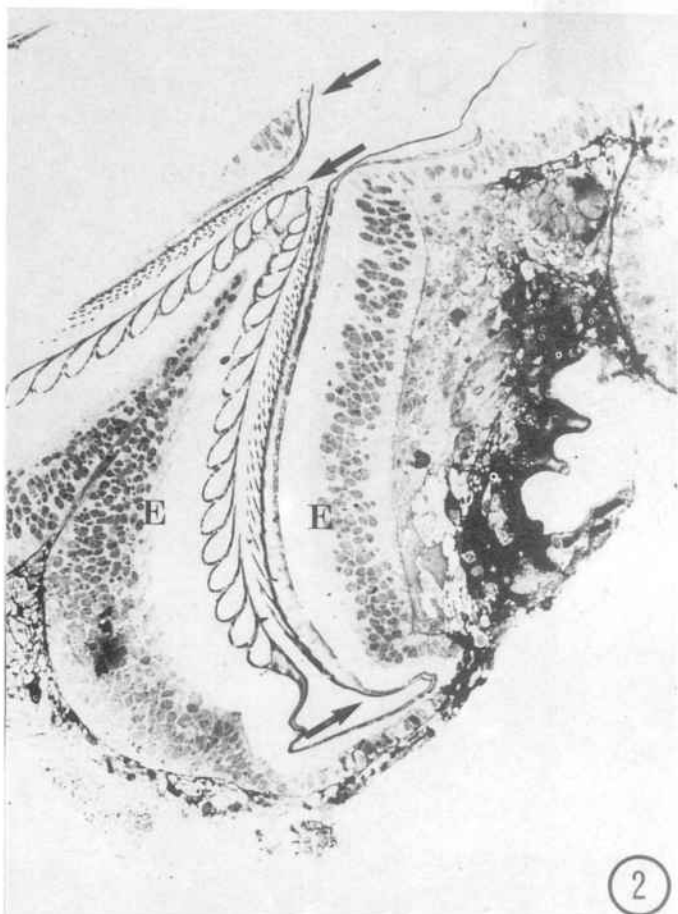
FIG. 1, 2, 3 i 4.- Estómac amb el seu típic molinet gàstric de *Palaemonetes zariquieyi*. Vegeu la gruixuda cutícula amb nombroses sedes (fletxa) que recobreix la llum i constitueix el molinet gàstric. A la regió anterior, en situació dorsal és troba una cavitat (CD) recoberta per una cutícula no tant calcificada (fletxa diferent). Epiteli de l'estómac (E); túbuls de l'hepatopàncreas (H); musculatura (M); regió de connexió de l'estómac amb l'intestí (I).

FIG. 1.- Parafina, hematoxilina-eosina. (160x).

FIG. 2.- Spurr, blau de metilè. (135x).

FIG. 3.- Parafina, hematoxilina-eosina. (90x).

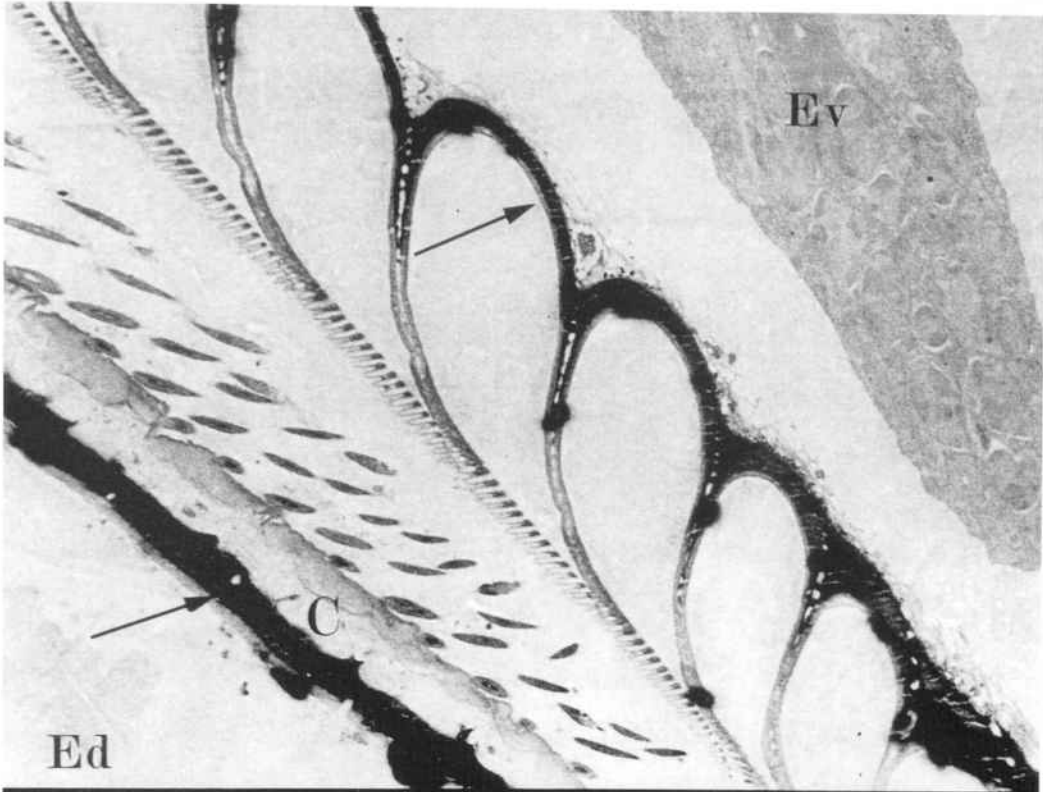
FIG. 4.- Spurr, blau de metilè. (135x).



LAMINA L:

FIG. 1.- *Cutícula que constitueix el molinet gàstric de Palaemonetes zariquieyi. Vegeu les nombroses sedes amb missió de filtrar i triturar l'aliment. Cutícula (C); capa principal (fletxa); epiteli ventral (EV); epiteli dorsal (ED). Microscopi electrònic de rastreig, ratjos dispersats. (barra 10 μm).*

FIG. 2.- *Detecció de les zones calcificades de la cutícula del molinet gàstric. Presència de calci en la capa principal de la cutícula (fletxa). Microscopi electrònic de rastreig; micro-anàlisi per ratjos X. (barra 10 μm).*



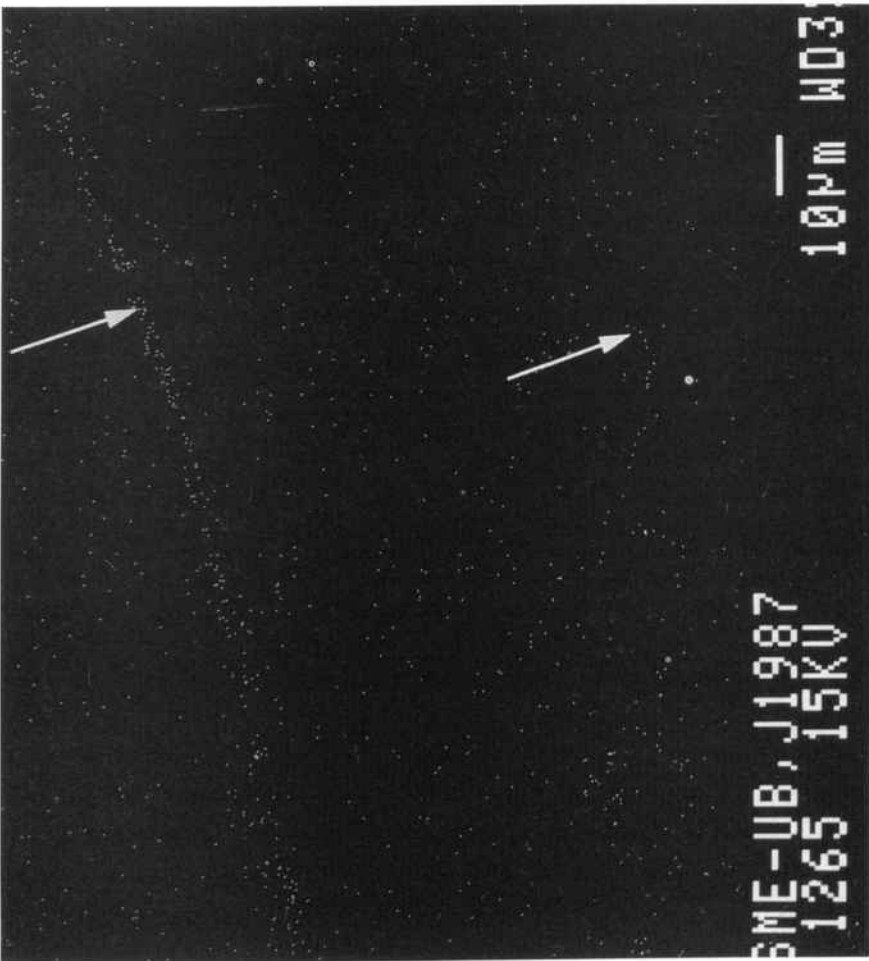
Ev

C

Ed

SME-UB, J1986
2794 8KV

10µm WD 8



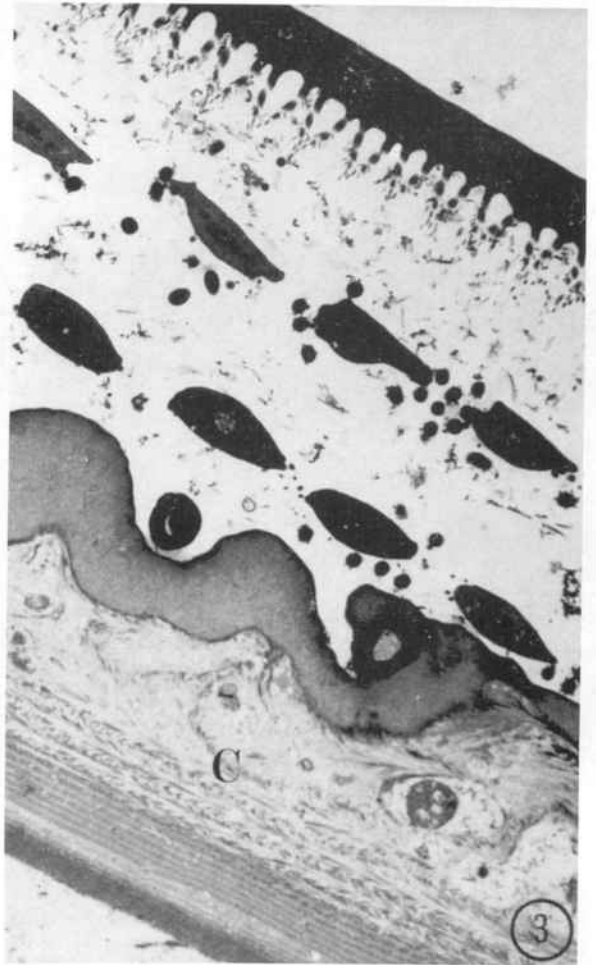
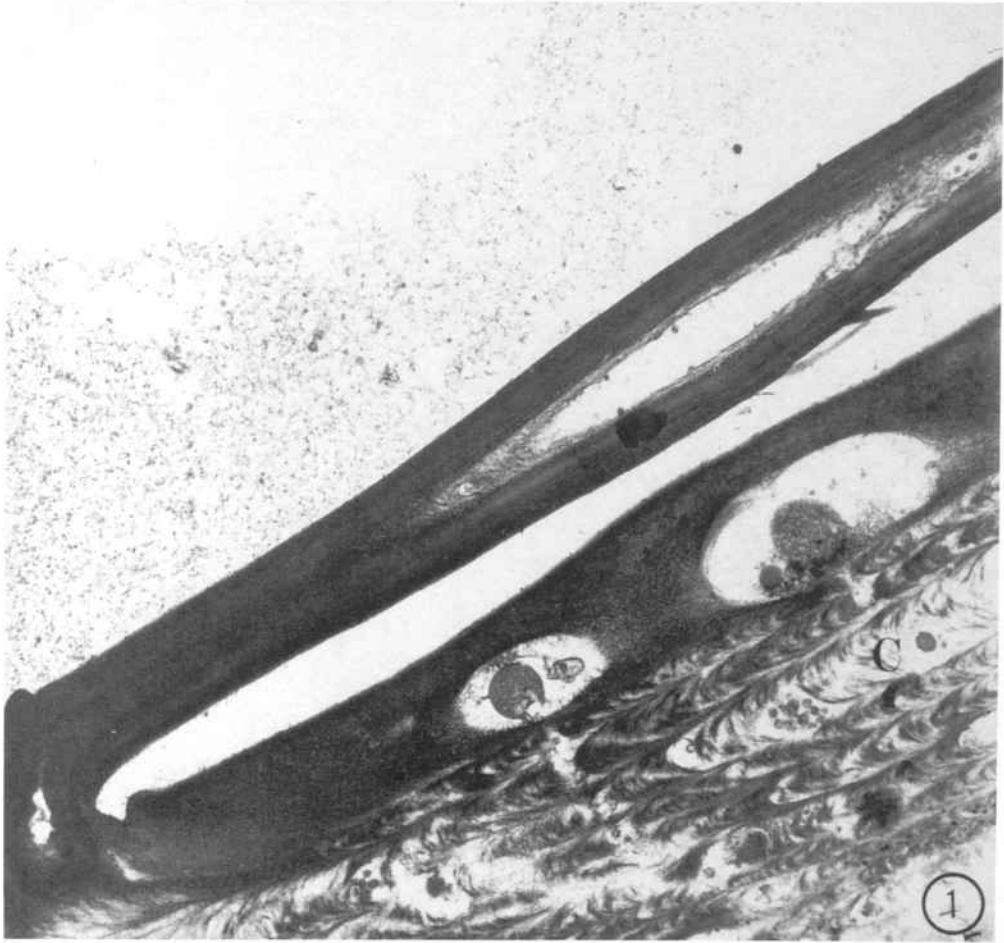
SME-UB, J1987
1265 15KV

10µm WD3

LAMINA LI:

FIG. 1 i 2.- Crestes (fletxa) de la cutícula de la cara ventral de l'estómac. Cutícula (C). **FIG. 1.-** (10.350x). **FIG. 2.-** (13.050x).

FIG. 3.- Cutícula i sedes del molinet gàstric. (4.400x).



LAMINA LII:

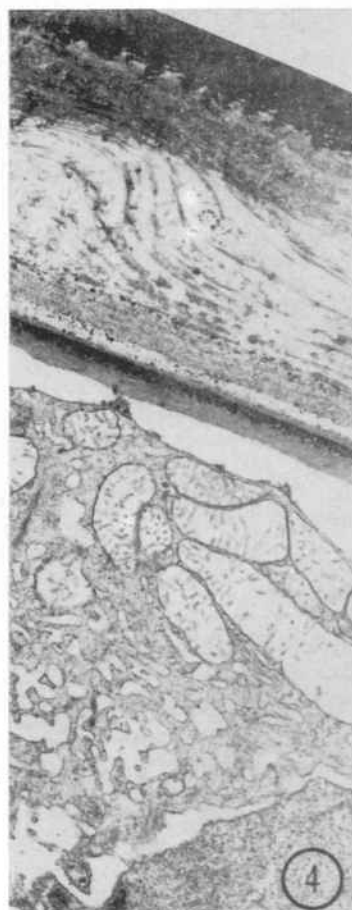
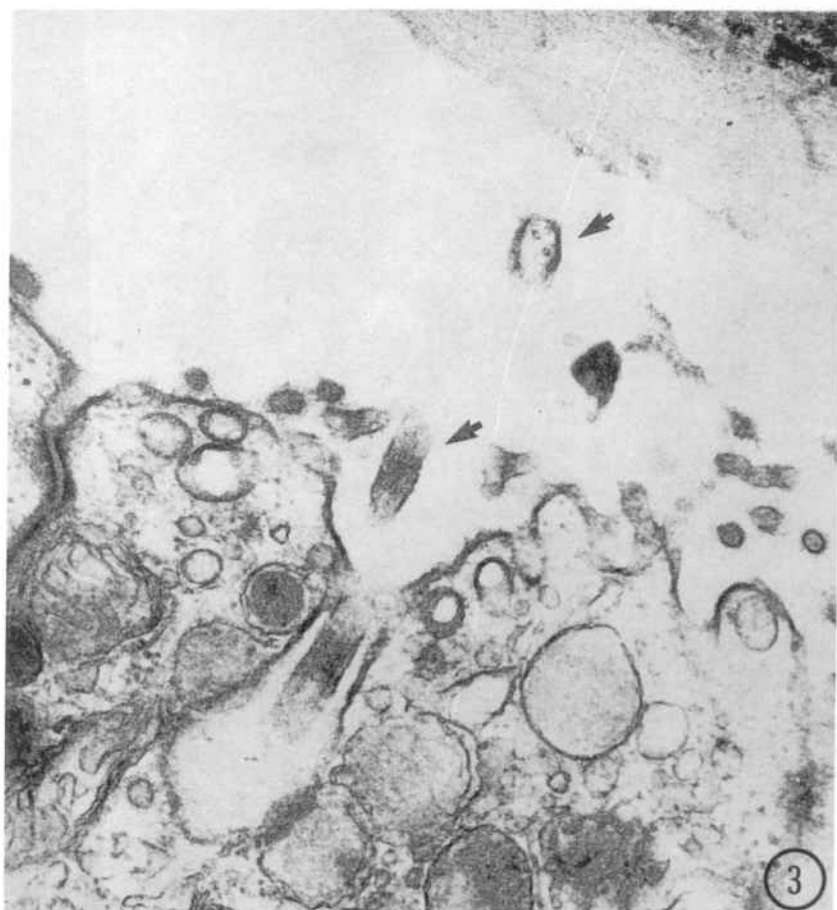
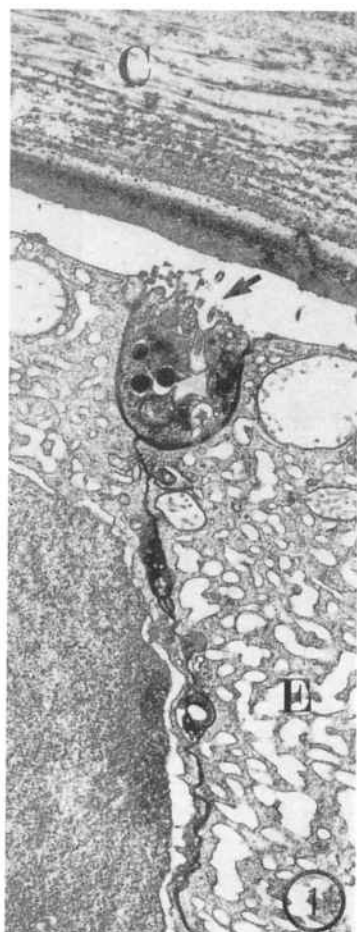
FIG. 1, 2 i 3.- *Cutícula, (C) i epiteli de l'estómac (E). S'observa una cèl.lula ciliada (fletxa) i amb grànuls de secreció (punta fletxa), de caràcter possiblement sensitiu.*

FIG.1.- (8.100x).

FIG. 2.- (29.250x).

FIG. 3.- (58.800x). *Detall de l'anterior.*

FIG. 4.- *Cutícula de l'estómac. S'observa les característiques capes. (8.100x).*

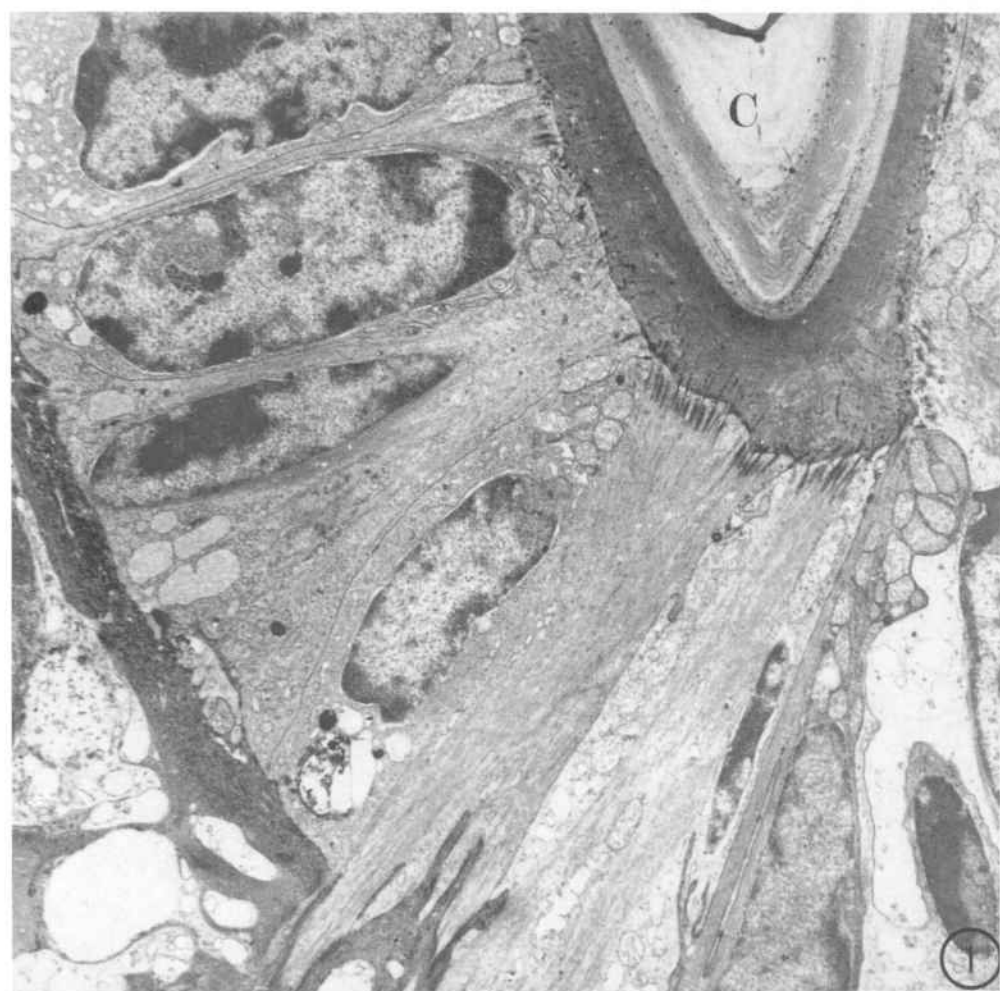


LAMINA LIII:

FIG. 1.- Estómac de *Palaemonetes zariquieyi*. La cutícula (C) descansa en un epiteli prismàtic, en el que distingim cèl.lules amb nombrosos microtúbuls que s'incerten a la cutícula. (4.400x).

FIG. 2.- Detall de les cèl.lules d'inserció muscular. Vegeu els microtubuls (fletxa) orientats principalment amb sentit longitudinal a la cèl.lula, encara que també els podem veure en secció transversal. Cutícula (C). (49.400x).

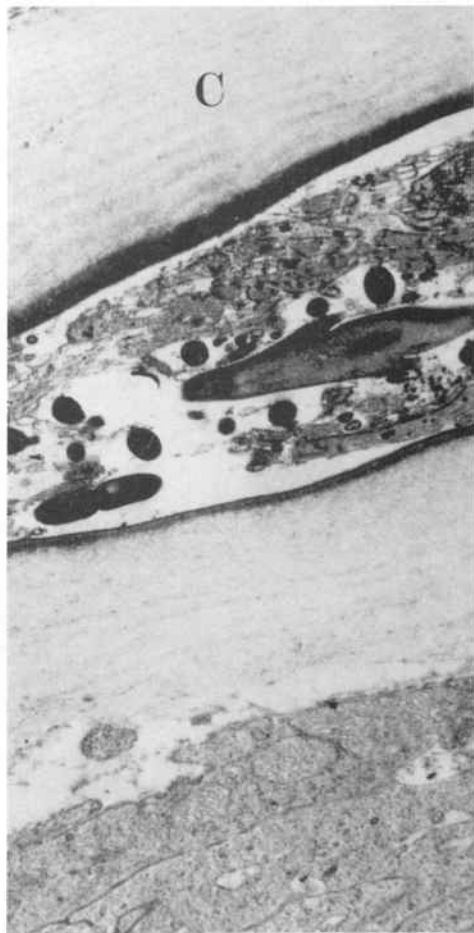
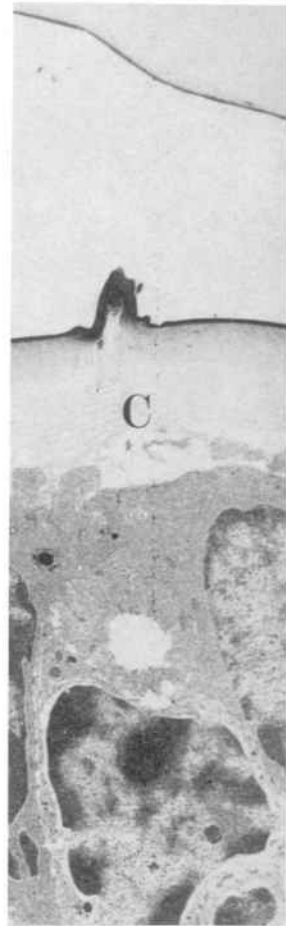
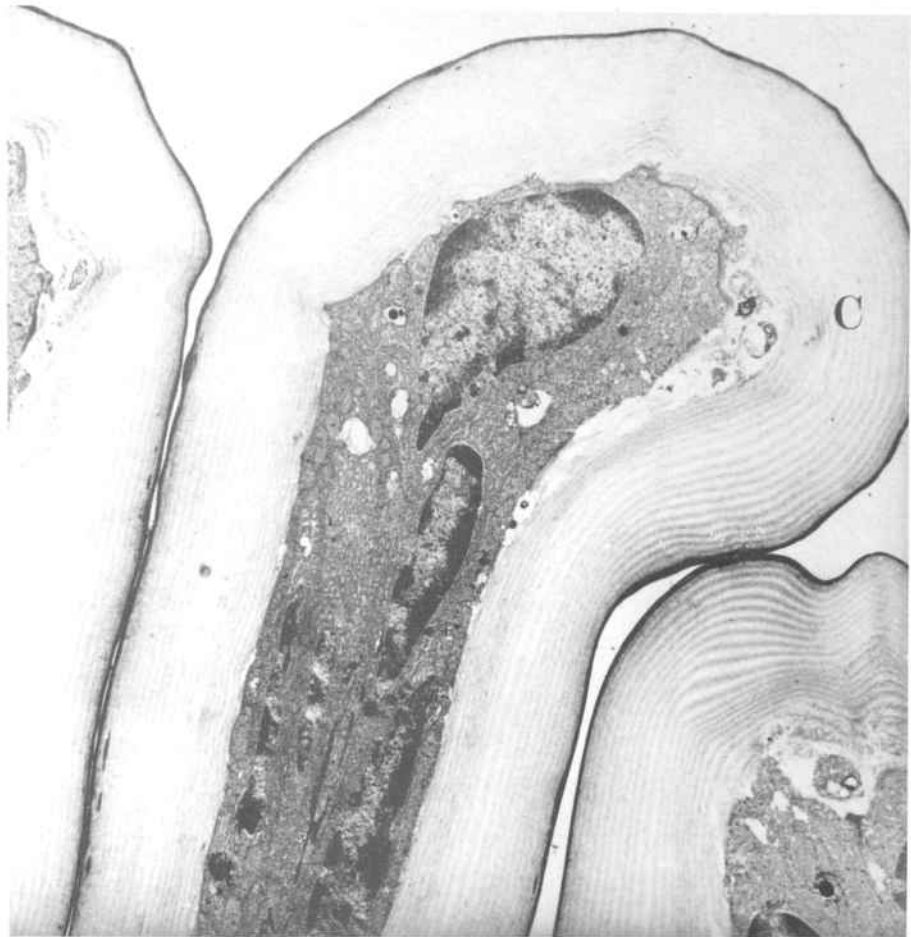
FIG. 3.- Detall de la inserció dels microtúbuls en la cutícula. Vegeu com penetren en l'interior de la cutícula (fletxa). (49.800x).



LAMINA LIV:

FIG. 1, 2, 3.- *Cavitat dorsal a l'estómac. Noteu la llum estreta i com la cutícula (C) que recobreix la cavitat és més prima que en el molinet gàstric i les cèl.lules epitelials són cúbiques. FIG. 1, 2, 3.- (3.080x).*

FIG. 4.- *Contingut de l'estómac, s'observa restes no digerides i bacteris (fletxa), alguns en divisió (doble fletxa). (14.000x).*



LAMINA LV:

FIG. 1.- *Inserció muscular en l'estómac. Noteu com els microtubuls de les cèl·lules epitelials penetren en la cutícula (fletxes). (6.200x)*

FIG. 2.- *Detall de la zona d'unió entre les cèl·lules epitelials amb microtubuls (fletxa) i la cèl·lula muscular. (18.800x).*

