

Inv. Pesq.	45 (1)	págs. 135-141	marzo 1981
------------	--------	---------------	------------

## Nota sobre la estructura general de la cutícula de *Nephros norvegicus* (L.) (Crustacea: Decapoda)\*

F. SARDÁ

Instituto de Investigaciones Pesqueras de Barcelona.  
Paseo Nacional, s/n. Barcelona-3.

*Palabras clave:* *Nephros norvegicus*, cutícula, estructura.  
*Key words:* *Nephros norvegicus*, cuticle, structure.

RESUMEN: En el presente trabajo se estudia la estructura de la cutícula y de los gastrolitos de la cigala, *Nephrops norvegicus* (L.), durante el período de intermuda, mediante la utilización de microscopía electrónica de barrido. La cutícula aparece formada por las siguientes capas: epicutícula, externa y calcificada; pigmentada, calcificada; endocutícula, también calcificada y membranosa, descalcificada.

Los gastrolitos muestran columnas de calcita cristalizadas en dos sentidos direccionales distintos: unos cristales centrales longitudinales y otros periféricos perpendiculares a los anteriores.

SUMMARY: THE CUTICLE STRUCTURE OF *Nephrops norvegicus* (L.). In this paper the structure of cuticle and gastrolith in intermolt conditions of Norway lobster, *Nephrops norvegicus*, is determined using electron microscopy methods. The cuticle was found to be composed of four layers: epicuticle, external and calcified; pigmentary layer, calcified; endocuticle or calcified layer, larger; and membranous layer, decalcified.

The gastrolith presents small calcite columns, which are crystalized in two layers, a nucleus of central crystals and another of transversal and peripheral crystals.

### INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Los primeros trabajos realizados sobre la estructura de la cutícula se deben a YOUNG (1932), que separa la llamada epicutícula (calcificada) de la endocutícula (quitinosa). Más tarde DRACH (1939) y LAFON (1948), hacen revisiones sobre la cutícula de varios Braquiuros. DENNELL (1960), da un esquema general de la cutícula en decápodos (fig. 1, A y B), que corresponde a la ordenación de capas y composición química que se señala en el cuadro I.

Recientemente ha tomado gran importancia el estudio de la topografía de la cutícula mediante microscopio electrónico de barrido y por difracción de rayos X; DENNELL (1973) en *Carcinus maenas* y HEGDAHL et al. (1977) en *Cancer pagurus*, hacen una revisión de la estructura cuticular mediante las últimas técnicas citadas.

A pesar de un gran número de estudios histológicos realizados sobre esqueletos de varios decápodos, no hay referencia sobre estudios de este tipo

\* Recibido el 15 de mayo de 1980.

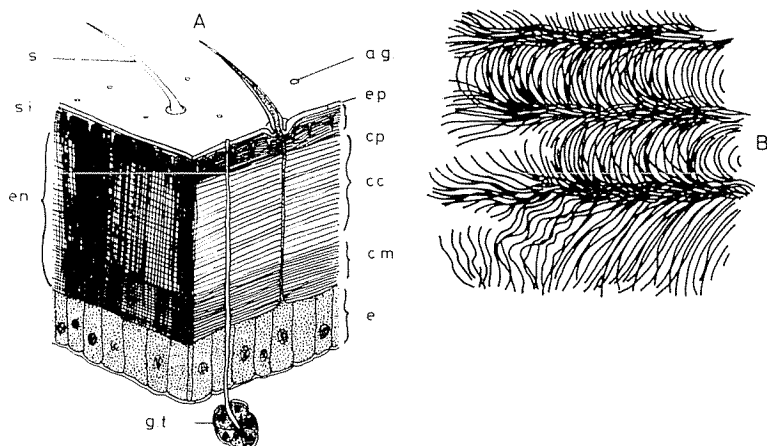


FIG. 1. A: Diagrama ilustrando la estructura de la cutícula de los crustáceos decápodos en sección transversal (DENNELL, 1960). (a.g.), abertura glandular; (ep.), epicutícula; (c.p.), capa pigmentada; (c.c.), capa calcificada; (c.m.), capa membranosa; (e.), epidermis; (s.), seda; (s.i.), septos interprismáticos; (en.), endocutícula; (g.t.), glándula tegumentaria. B: Fibras proteicas de la capa pigmentada. ( $\times 5000$ .)

TABLA I

Nomenclatura y composición química de la cutícula de los Decápodos según DENNELL (1960)

<i>Estructura</i>	<i>Epoca Desarrollo</i>	<i>Composición Orgánica</i>	<i>Composición Inorgánica</i>
Epicutícula	Pre-exuvial	Sin quitina	Con calcio
Endocutícula			
Capa pigmentada	Pre-exuvial	Con quitina	Con calcio
Capa calcificada (Principal)	Pre-exuvial	Con quitina	Con calcio
Capa descalcificada (Membranosa)	Post-exuvial	Con quitina	Sin calcio

en la cutícula de la cigala; tan sólo VOSS-FOUCART y JENIAUX (1978), hacen comparaciones entre la capa principal y membranosa en varias especies de crustáceos, entre ellos la cigala. Resulta pues de interés el estudio de la estructura de la cutícula y de los gastrolitos en esta especie.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La cutícula estudiada procede de la zona cardíaca del caparazón de *Nephrops norvegicus*, estudiándose varios ejemplares adultos en estado de intermuda (SARDÁ, 1980).

Para la determinación del material calcáreo presente en la cutícula y gastrolitos se utilizó microscopía por difracción de rayos X, mientras que para la preparación de las muestras para microscopía electrónica de barrido se ha seguido la metodología señalada por HEARLE et al. (1973) y HAYAT (1974).

El secado de las muestras se realizó mediante punto crítico de CO<sub>2</sub> con acetato de amilo, y el recubrimiento de las mismas con película de oro y montaje sobre plata coloidal.

Todas las observaciones se realizaron sobre el corte de fracturas transversales, realizadas por congelación con mezcla de nieve carbónica y acetona, a —70° C. Para la obtención de cortes pulidos para la realización de un *mapping* con el fin de conocer la distribución de calcio en la cutícula, se realizaron cortes con muela de disco diamantado, incluida la muestra en carbón vegetal.

Las observaciones fueron realizadas mediante microscopio electrónico de barrido (STEROSCAN 180, *Cambridge Instruments*) a 1500 aumentos para la observación de la cutícula completa y 3000 aumentos para la observación de capas particulares. Algunas de las capas fueron atacadas con CIH al 10 % para desenmascarar las capas proteicas recubiertas por cristales de calcio.

Los gastrolitos fueron observados sin previa preparación, tan sólo rotura y montaje, a 100 y 500 aumentos para la observación de estructuras cristalográficas.

Para la determinación cualitativa de calcio en cada una de las capas se utilizó microscopía electrónica ultrasónica, microscopio *Philips-SEM 500*, con ECOW-EDAX incorporado.

## RESULTADOS

La determinación cristalográfica de la cutícula y gastrolitos, ha manifestado que ambas estructuras están constituidas por carbonato cálcico en forma de calcita, presentando el caparazón las mismas características morfológicas que la mayoría de los crustáceos decápodos, observándose las capas citadas anteriormente, que se identifican, tanto por la secuencia, como por la composición en calcio de las mismas.

Las características de las distintas capas, ordenadas desde la parte exterior del caparazón a la interior, es la siguiente (fig. 2):

*Epicutícula*. — Se presenta como la capa más tenue y externa de las que componen el exoesqueleto. Representa tan sólo el 5 % en grosor, respecto del total. Está calcificada (fig. 2).

*Capa pigmentada*. — Caracterizada por la presencia de pigmentos, presenta estriaciones perpendiculares a la cutícula, difuminándose al entrar en contacto con la capa principal. Grosor superior a la anterior, alcanza de un 10 a un 15 % del espesor total (fig. 2).

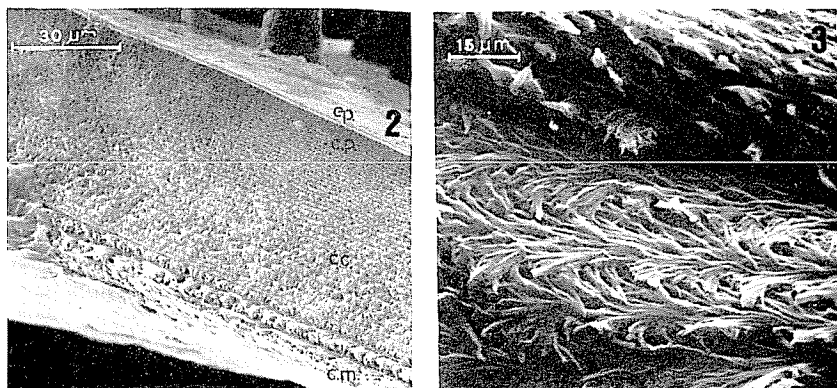


FIG. 2. Corte transversal de la cutícula de la cigala mostrando las distintas capas: (ep.), epicutícula; (c.p.), capa pigmentada; (c.c.), capa calcificada; (c.m.), capa membranosa.

FIG. 3. Disposición paralela de las fibras proteicas de la capa principal mostrando las conexiones entre las capas.

*Capa principal* (fig. 1).—Llamada también calcificada, es la más gruesa de la cutícula ocupando el 70 % del total. Presenta claras estriaciones longitudinales y paralelas de fibras proteicas (quitina) que conectan con las láminas adyacentes (figs. 2 y 3). Capa totalmente calcificada (fig. 6).

*Capa membranosa*.—Situada debajo de la principal y encima de la epidermis. Se diferencia claramente de la anterior por carecer de calcio. Las fibras proteicas pueden observarse sin necesidad de ser atacadas con CIH.

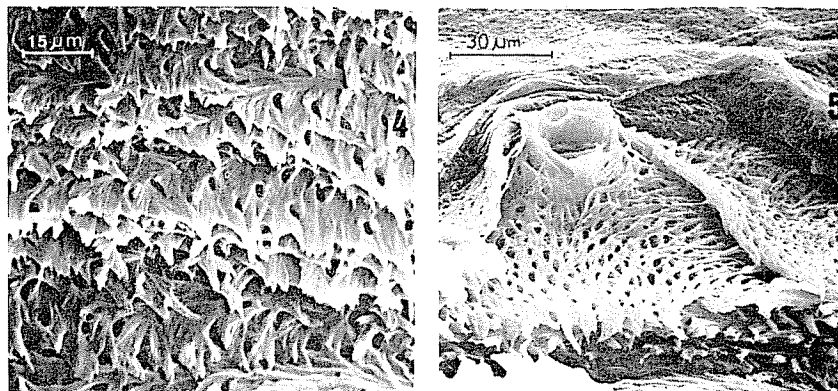


FIG. 4. Estructura filamentosa proteica de la capa membranosa.

FIG. 5. Estructura proteica de la capa membranosa rodeando el orificio dejado por una seda previamente arrancada. Las capas superiores han sido retiradas.

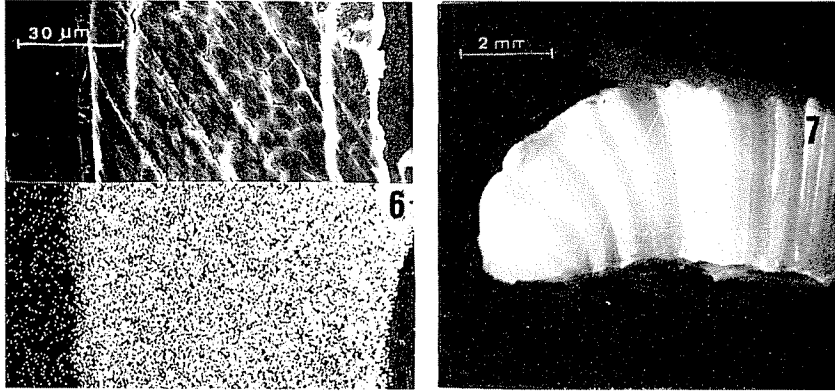


FIG. 6. Arriba: corte transversal de la cutícula. Abajo: *mapping* identificando las capas calcificadas. El punteado blanco, da idea de la concentración de calcio.

FIG. 7. Corte transversal de un disco gastrolítico mostrando la disposición en empalizada de las columnas calcificadas ( $\times 10$ ).

Representa un 15 %, aproximadamente, del grosor total de la cutícula (figuras 2, 4, 5 y 6).

Por otra parte, los gastrolitos están formados por una serie de columnas o varillas calcáreas paralelas entre sí y perpendiculares a la superficie de la pieza semiesférica que constituyen (fig. 7). Estas columnas o unidades internas, presentan bandas traslúcidas y opacas colocadas alternativamente, atribuyéndose este efecto a distintos estados de cristalización de la calcita.

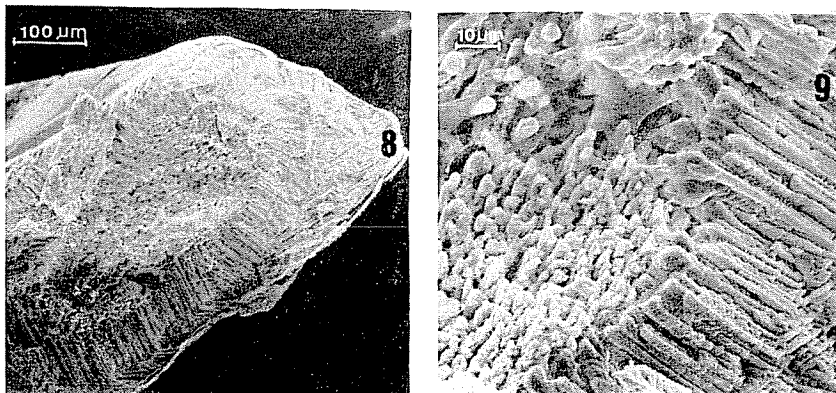


FIG. 8. Corte transversal de una columna gastrolítica mostrando los cristales de calcita ordenados según un núcleo central y una zona periférica.

FIG. 9. Detalle de la orientación de los cristales en el interior de la columna gastrolítica.

Cada una de estas varillas consta de una parte central o núcleo y otra periférica que representan dos etapas de cristalización distintas (figs. 8 y 9). La parte central aparece formada por cristales de calcita paralelos a la dirección del eje de la varilla, mientras que en la parte periférica se encuentran dispuestos perpendicularmente a dicho eje.

### CONCLUSIONES

La estructura de la cutícula y gastrolitos de la cigala, *Nephrops norvegicus*, observada mediante microscopía electrónica de barrido, presentan las mismas características que en la mayoría de crustáceos decápodos: epicutícula, externa y calcificada; capa pigmentada, también calcificada; capa principal, de mayor grosor y calcificada, y capa membranosa, más interna y descalcificada.

Los gastrolitos, presentan en sus varillas o columnas internas dos capas distintas de cristalización; una interna de cristales longitudinales y otra periférica de cristales transversales.

La materia cristalizada se presenta en forma de calcita.

### AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración de los Sres. ANTONIO FAUQUET y SERGIO IGLESIAS (del Instituto de Investigaciones Pesqueras de Barcelona y Vigo respectivamente) por su participación en la elaboración de las muestras. Al Doctor M. ALCARAZ, por la puesta a punto de la metodología empleada y al Departamento de Metalurgia de la Escuela Técnica de Ingenieros de Barcelona, donde se realizaron parte de las fotografías.

## BIBLIOGRAFÍA

- DENNELL, R. — 1960. Integument and exoskeleton. In *Physiology of Crustacea*. Ed. by T. H. Waterman. Acad. Press. New York and London.
- 1973. The structure of the cuticle of shore-crab *Carcinus maenas* *Zool. J. Linn. Soc.*, 52 (2): 159-163.
- 1976. *Sabellaria alpeolata* (L.) at Duckpool, North Cornwall, 1975. *Ibidem*, 56: 305-310.
- DRACH, P. — 1939. Mue et cycle d'intermue chez les crustacés décapodes. *Annals Inst. Océanogr.*, Paris, 19: 193-392.
- HAYAT, N. A. — 1974. Principles and Techniques of Scanning Electron Microscopy. Van-Nos-tran. Reinhold. Co. New-York, 273 pp.
- HEARLE, J. W. S., J. T. SPARROW y P. M. CROS. — 1973. The Scanning Electron Microscopy. Pergamon Press. London, 278 pp.
- HEGDAHL, T., F. GUSTAVSEN y J. SILNESS. — 1977a, b y c. The structure and mineralization of the carapace of the crab *Cancer pagurus* (L.) 1: The endocuticle. 2: the exocuticle. 3: the epicuticle. *Zool. Scripta*. Vol. 6: 89-99, 101-105 y 215-220.
- LAFON, N. — 1948. Nouvelles recherches biochimiques et physiologiques sur le squelette tegumentaire des Crustacés. *Bull. Inst. Océanogr.* Monaco, 45: 1-28.
- RICHARDS, A. G. — 1951. The integument of arthropods. *University of Minnesota Press*. Minneapolis.
- SARDÁ, F. — 1980. Contribución al conocimiento de la biología de *Nephrops norvegicus* (L.). Estudio del ciclo de intermuda. *Tesis Doctoral*. Universidad de Barcelona.
- VOSS-FOUCARI, M. F. y M. JENIAUX. — 1978. Étude comparée de la couche principale y de la couche membraneuse de la cuticle chez six espèces du Crustacés Décapodes. *Arch. Zool. Exp. Gén.* T. 119, fasc. 1, 127 pp.
- YONGE, C. M. — 1932. On the nature and permeability of chitin. 1 The chitin lining the foregut of decapod Crustacea and the function of the tegumental glands. *Proc. Roy. Soc. B*, 111: 298-329.

## FE DE ERRATAS

(Vol. 45 (1))

*Pág. 23*, cabecera de página: donde dice VENERUPUS debería decir VENERUPIS.

*Págs. 48 a 90*, cabeceras de páginas pares: donde dice M. C. debe decir M. G.

*Pág. 49*, línea 24: donde dice  $P = 0,000554 \text{ l}^{3,124}$  debería decir:  $P = 0,00554 \text{ l}^{3,124}$ .

*Pág. 135*, título: donde dice *Nephros* debería decir *Nephrops*. Lo mismo en palabras clave y Key Words y en cabecera de páginas 137, 139 y 141.

*Pág. 161*, autor: donde dice MURARO, debería decir MURADO.

*Págs. 233-235*, cabeceras: donde dice DISCODORIA, debería decir DISCODORIS.