



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**  
**FACOLTÀ DI SCIENZE MM.FF.NN.**  
**LAUREA DI PRIMO LIVELLO IN SCIENZE E TECNOLOGIE**  
**PER LA NATURA**

**ELABORATO DI LAUREA:**

**LA BOCCA DELLE APPENDICOLARIE**  
**(TUNICATA): STRUTTURE SENSORIALI**

**TUTOR: Prof. Paolo Burighel**

**COTUTOR: Dott. Federico Caicci**

**– Dipartimento di Biologia –**

**LAUREANDO: Emil Vincenzi**

**ANNO ACCADEMICO 2006-2007**



## **INDICE:**

1. INTRODUZIONE	pag. 1
1.1 Le appendicolarie: morfologia e ciclo vitale	pag. 2
1.2 Sistema nervoso e strutture sensoriali	pag. 4
2. SCOPO DELLA TESI	pag. 7
3. MATERIALI E METODI	pag. 7
3.1 Specie analizzate	pag. 7
3.2 Metodi di preparazione e analisi dei campioni	pag. 10
4. RISULTATI	pag. 12
5. DISCUSSIONE	pag. 21
6. CONCLUSIONE	pag. 24
7. BIBLIOGRAFIA	pag. 25



# 1. INTRODUZIONE

La posizione filogenetica degli Urocordati, alla base del phylum Chordata, ha reso questi organismi oggetto di un numero sempre maggiore di studi negli ultimi decenni. In particolare, il laboratorio in cui ho trascorso la mia esperienza di tirocinio conta dieci anni di ricerche sul sistema nervoso dei tunicati.

In questo contesto mi sono potuto occupare di organismi relativamente poco conosciuti e studiati quali sono le appendicolarie, la cui difficoltà di raccolta ed allevamento ne ha rallentato la conoscenza a dispetto della loro importanza ecologica ed evolutiva.

Fondamentale, per la conoscenza del sistema nervoso, è stato il meticoloso studio ultrastrutturale che Olsson *et al.* (1990) ha compiuto su *Oikopleura dioica*, acquisendo la conoscenza morfologica necessaria per una miglior comprensione del significato filogenetico del sistema nervoso delle appendicolarie. Prima di lui Martini (1909) (cit. in Bone, 1998) aveva realizzato una mappatura dettagliata dei nuclei del cervello di *Oikopleura longicauda* e successivamente Galt e Mackie (1971) e Holmberg (1984) hanno approfondito altri aspetti del ganglio cerebrale del genere *Oikopleura*. La struttura dettagliata del primo nervo e i rispettivi recettori sensoriali furono descritti da Bollner *et al.* (1986).

Molto più vicini sono invece gli importanti studi molecolari di Bassham e Postlethwait (2005) che indagano lo sviluppo del sistema nervoso centrale di *O. dioica* considerandone anche gli aspetti evolutivi.

Alla luce delle recenti scoperte che attestano la presenza di strutture placodali e delle creste neurali nei tunicati (Manni *et al.*, 2004), si sono moltiplicati gli studi atti a ricercare eventuali omologie tra le strutture sensoriali dei vertebrati (generate appunto da placodi e creste neurali) e quelle degli urocordati.

In particolare il ritrovamento di cellule meccanorecetrici secondarie, costituenti l'organo coronale nel sifone orale dei botrilloidi (ascidie coloniali), ha palesato la somiglianza di questa struttura con l'organo della linea laterale dei vertebrati (Burighel *et al.*, 2003).

Tutto ciò ha reso doveroso un approfondimento sulla morfologia dell'anello circumorale delle appendicolarie (meccanocettore), che per morfologia, posizione e funzione può essere rapportato all'organo coronale delle ascidie.

## 1.1 Le appendicolarie: morfologia e ciclo vitale

Appendicularia è una classe di organismi marini oloplanctonici facenti parte del subphylum Urochordata (o Tunicata) assieme ad Ascidiacea e Thaliacea. Si divide in tre famiglie: Oikopleuridae, Fritillariidae e Kowalewskiidae.

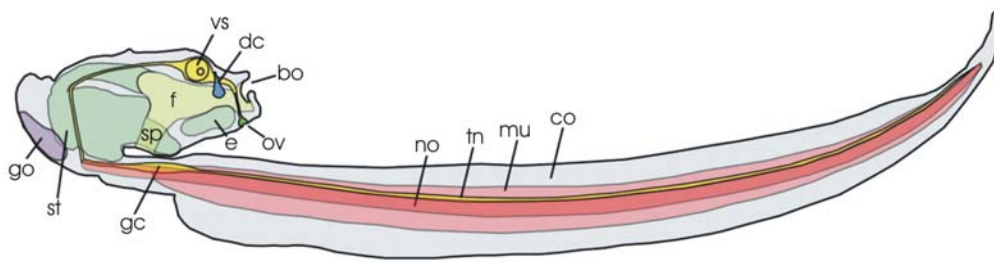
Il corpo è costituito da un tronco di dimensioni molto ridotte (0,5-4 mm) e una lunga coda che, a differenza di quella degli altri tunicati, permane per tutto il ciclo vitale. Negli adulti la coda è ruotata di 90° lungo l'asse individuato dalla notocorda, che vi scorre all'interno e ne costituisce il sostegno. Il tubo neurale, che nelle larve è dorsale rispetto alla corda, dopo la metamorfosi si trova sul lato sinistro. All'interno della coda scorrono anche due fasce di fibre muscolari, laterali rispetto la notocorda, che ne consentono il movimento. Durante lo sviluppo post-embrionale dell'animale la coda compie anche una rotazione di 90° in avanti, spostandosi da una posizione caudale rispetto al tronco ad una ventrale. La somiglianza nell'organizzazione strutturale delle appendicolarie e delle larve degli altri tunicati ha conferito a questa classe anche il nome di Larvacea.

La caratteristica più peculiare della classe è la produzione della loggetta o casa, una struttura esterna che permette di filtrare il particolato presente nell'acqua di cui l'animale si nutre. La casetta ha una struttura molto complessa, costituita da varie camere, all'interno della quale l'animale rimane sospeso richiamando un flusso d'acqua tramite il movimento della coda. Il nanoplancton che riesce ad attraversare le griglie del filtro viene richiamato verso la bocca grazie ad una corrente più debole azionata dagli anelli o "ruote" cigliate degli spiracoli. La casa delle oikopleure è costituita da microfibrille di mucopolisaccaridi e contiene cellulosa I simile a quella osservata nella tunica degli altri Urocordati. La casa è prodotta da un complesso di cellule epidermiche altamente poliploidi (Fenaux, 1971; cit. da Bone, 1998) e a grande capacità secernente, che nel loro insieme prendono il nome di oikoplasto. Questo insieme di cellule presenta una distribuzione a mosaico sulla parete esterna della zona anteriore (dorsale e ventrale) del tronco. Una volta prodotta, la casa viene staccata dall'oikoplasto e gonfiata tramite dei movimenti della coda in modo da farle assumere la tipica forma sferoidale.

Il tronco è caratterizzato da una spiccata semplificazione delle strutture giustificata dalle ridotte dimensioni. Esso può avere forme diverse, da ovale (v. *O. dioica*) a molto allungata e schiacciata (v. *Fritillaria pellucida*) (Brena *et al.*, 2005).

La bocca, rigida ed immobile, si apre rostralmente dando accesso ad un ampio faringe, sulla cui base si trova l'endostilo: una doccia cigliata che secerne una rete mucosa atta a bloccare le particelle di cibo che vengono quindi trasportate nell'esofago. Nella zona posteriore del faringe si aprono lateralmente due spiracoli branchiali dotati di un anello fittamente cigliato responsabile del flusso d'acqua in entrata. La restante porzione del tratto digerente è costituita da uno stomaco separato in due lobi (destro e sinistro) ed un intestino cigliato che si apre ventralmente in un retto, tra i due spiracoli. Gli oikopleuridi controllano le particelle che entrano nella bocca tramite i meccanocettori posti sulle labbra. Il cibo rifiutato viene espulso dal faringe grazie ad un'inversione del battito delle ciglia spiracolari (Galt *et al.*, 1971).

Il sistema circolatorio è aperto e le rare cellule sanguigne circolano in un complesso di lacune che circondano gli organi interni. Il cuore è rudimentale ed è posto ventralmente tra i due lobi dello stomaco.



**Fig.1** *Oikopleura dioica*, visione laterale (da Bassham *et al.* 2005, modificato)

**bo:**bocca; **co:**coda; **dc:**dotto cigliato; **e:**endostilo; **f:**faringe; **gc:**ganglio caudale; **go:**gonade; **mu:**muscolatura; **no:**notocorda; **ov:**organo di senso ventrale; **sp:**spiracolo; **st:**stomaco; **tn:**tubo neurale; **vs:**vescicola sensoriale annessa al ganglio cerebrale.

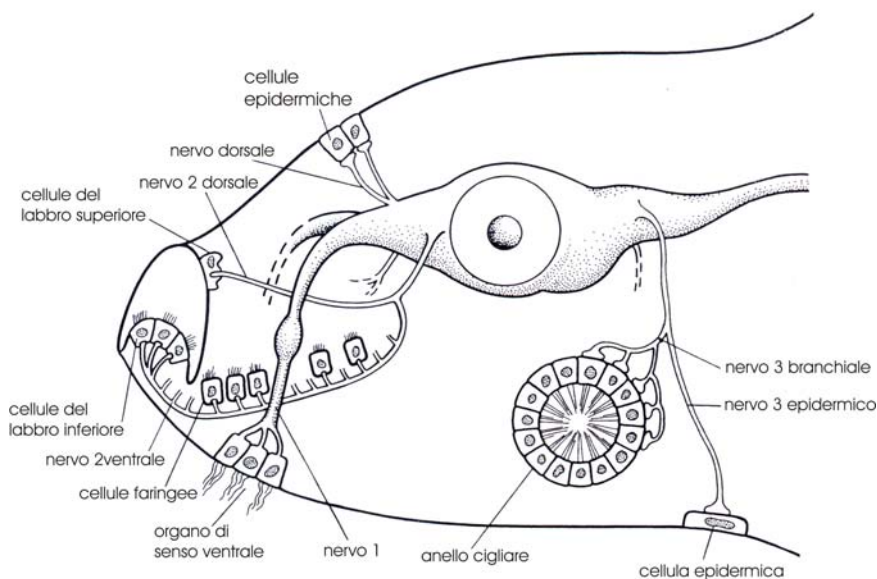
Le appendicolarie sono organismi ermafroditi proterandri a fecondazione esterna. Le gonadi (un testicolo e due ovari) sono situate nella regione posteriore del tronco. L'emissione degli spermatozoi avviene attraverso uno spermidotto dorsale mentre le uova vengono liberate a maturazione tramite rottura della parete del corpo, che causa la morte dell'individuo. L'unica eccezione nel tipo di riproduzione è rappresentata dalla specie gonocorica *O. dioica*.

Il ciclo vitale delle appendicolarie è breve e nettamente temperatura-dipendente (*O. dioica* può compierlo in meno di 3 giorni a 22°C e in 10 giorni a 14°C) (Bone, 1998). Nel corso del proprio ciclo vitale ogni individuo produce ed occupa un numero variabile di case (da poche unità a più di 20), dato che il filtro si intasa generalmente ogni 2-3 ore di attività. Le loggette vuote, con il materiale che vi aderisce, sprofondano lungo la colonna d'acqua e rappresentano un'importante risorsa dell'ecosistema pelagico.

## 1.2 Sistema nervoso e strutture sensoriali

Il sistema nervoso delle appendicolarie è caratterizzato da una spiccata miniaturizzazione e semplificazione. Esso è costituito da un ganglio cerebrale situato in posizione rostrale, dorsalmente rispetto al tetto del faringe, ed un ganglio caudale, situato nel tronco in prossimità della coda o alla base della coda stessa, collegato al primo da un cordone nervoso.

La semplificazione di tale apparato è evidenziata dal numero di cellule che lo costituisce: appena 70 nel ganglio cerebrale delle oikopleuridi e 52 in quello delle fritillaridi (Martini, 1909 a,b) (cit. in Bone, 1998).



**Fig.2** Rappresentazione dell'innervazione rostrale e cellule target in *Oikopleura dioica* (da Olsson *et al.*, 1990, modificato)

La conoscenza del **ganglio cerebrale** e dei nervi e recettori associati è per la maggior parte dovuta agli studi istologici condotti da Martini (1909a,b) (cit. in Bone, 1998) e da quelli ultrastrutturali più recenti di Olsson *et al.* (1990).

Le appendicolarie del genere *Oikopleura* possiedono 3 paia di nervi cerebrali principali: il primo paio si origina nella regione buccale ventrale, dall'organo di senso ventrale, il secondo paio si diparte dalla zona anteriore del cervello e innerva due tipi di meccanocettori della bocca ed il terzo paio invece si estende dalla parte posteriore del ganglio cerebrale e innerva le cellule cigliate degli spiracoli responsabili della corrente d'acqua è situato ventralmente in avanti, nell'oikoplasto.

L'**organo di senso ventrale** è costituito da 30 cellule sensoriali primarie disposte lungo una fila perpendicolare rispetto l'asse longitudinale del tronco. Ogni cellula



porta un lungo ciglio che si origina da una tasca apicale. Queste cellule sensoriali proiettano 15 assoni lungo i due lati del faringe verso il ganglio cerebrale, che si biforca anteriormente e termina in due rigonfiamenti bulbiformi (Bollner *et al.*, 1986). Secondo Bollner *et al.* (1986) l'organo sensoriale ventrale, studiato in *O. dioica*, ha probabile funzione chemiosensoriale ed inoltre rivela una notevole somiglianza con l'apparato olfattivo dei vertebrati.

Il secondo nervo si origina dalla parte anteriore del ganglio cerebrale come una singola fibra. Come tutti gli altri nervi corre attraverso le lacune sanguigne, ma presto si dirama in un ramo dorsale ed uno ventrale. I rami dorsali destro e sinistro formano una sinapsi con 2 cellule epidermiche specializzate nella ricezione di stimoli meccanici, dette **cellule del labbro superiore**, che nelle larve portano un ciglio rigido (assente invece negli adulti) (Bassham e Postlethwait, 2005).

I rami ventrali del secondo nervo contattano due bande orizzontali di **cellule cigliate del faringe** ed altre **cellule cigliate del labbro inferiore**, anch'esse sensibili agli stimoli meccanici. Le due bande dividono il faringe in una zona superiore (dorsale) ed una inferiore (ventrale) incontrandosi anteriormente sulla punta del labbro inferiore. Queste cellule portano un ciuffo di ciglia presumibilmente rigide sul lato apicale mentre la base è innervata da corte diramazioni del ramo ventrale, che penetrano la lamina basale e terminano in tasche della membrana cellulare (Olsson *et al.*, 1990).

Già nel 1872 Fol (cit. in Bone, 1998) aveva osservato che la stimolazione dei meccanocettori della bocca causava l'inversione del battito cigliare negli spiracoli.

La caratteristica peculiare del terzo nervo è la sua asimmetria: infatti la componente sinistra contiene 3 assoni mentre la destra solo 2.

Il nervo sinistro si dirama a livello dello spiracolo, dove due delle tre fibre formano diverse sinapsi con le **cellule cigliate dello spiracolo** (terzo nervo branchiale sinistro, nervo branchiale accessorio) e il rimanente assone procede dietro gli spiracoli a contattare tramite sinapsi una **cellula epidermica modificata** nella regione ventro-caudale del tronco (terzo nervo epidermico sinistro).

I due assoni del terzo nervo destro corrispondono alla fibra branchiale ed epidermica sinistre (Olsson *et al.*, 1990).

Olsson *et al.* (1990) ha trovato anche alcuni assoni uscenti dalla regione dorsale anteriore del ganglio cerebrale, che formano sinapsi con cellule epiteliali nella regione dell'oikoplasto.

In aggiunta alle strutture sensoriali del faringe e delle labbra al lato sinistro del ganglio cerebrale è associato una statocisti contenente uno statolite (Holmberg,

1984). Sul lato destro invece si trova un dotto cigliato che si apre ventralmente sul tetto del faringe e dorsalmente nelle lacune sanguigne. La funzione del dotto non è chiara ma Holmberg (1982) ipotizza che sia un organo secretore (e non un chemiorecettore come sostenuto da autori precedenti).

Il **ganglio caudale** è leggermente più piccolo di quello cerebrale (conta 36 cellule in *O. longicauda* e 21 in *F. pellucida*) (Bone, 1998). Da questo parte il cordone nervoso che percorre la coda formando una decina di altri gangli metamerici con cellule motrici e sensitive.

Nelle oikopleure da un neurone centrale dello stesso ganglio parte un assone che si dirama per contattare la base dei **recettori di Langherans**, cellule meccanocentriche secondarie di origine epiteliale situate su entrambi i lati del tronco, il cui potere recettoriale è largamente esteso grazie al loro collegamento con l'epitelio sensibile circostante che ricopre la coda e la parte posteriore del tronco (Olsson *et al.*, 1990; Bone e Ryan, 1978).

## 2. SCOPO DELLA TESI

Lo scopo della mia tesi consiste nella ricostruzione morfologica e la descrizione, a livello citologico ed ultrastrutturale, dell'area orale delle oikopleure, con speciale attenzione alla presenza di organi sensoriali ovvero delle cellule meccanorecettrici del faringe anteriore.

## 3. MATERIALI E METODI

Gli esemplari esaminati per questo studio erano stati precedentemente fissati ed inclusi per altre ricerche e provenivano tutti dal Mar Mediterraneo, precisamente dalla baia di Villefranche-sur-mer (Francia).

E' da notare che l'estrema delicatezza e le piccole dimensioni di questi animali ne rendono difficoltosa la raccolta, oltre che i conseguenti processi di fissazione ed inclusione. Questo significa che nonostante l'elevato numero di esemplari a disposizione solo una piccola percentuale si presentava in condizioni favorevoli allo studio, e, per le specie più rare ciò ha significato la disponibilità di pochissimi individui per l'analisi morfologica.

Sfortunatamente non siamo stati in grado di ottenere nuovo materiale dalla stazione zoologica di Villefranche-sur-mer, dove hanno riscontrato un'anomala assenza di appendicolarie nel corso dei primi mesi del 2007.

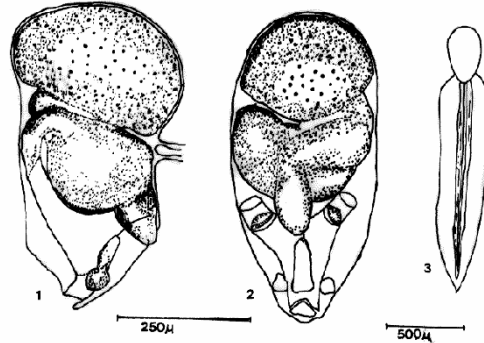
### 3.1 Specie analizzate

Lo studio è stato condotto su esemplari di *Oikopleura dioica*, *Oikopleura longicauda*, *Oikopleura albicans* (fam. OIKOPLEURIDAE).

Sono stati esaminati anche due esemplari di *Fritillaria pellucida* (Fam. FRITILLARIIDAE), di cui però non riferisco per mancanza di sufficienti risultati. Tra queste *O. dioica* si è rivelata la più utile per la maggior disponibilità di individui. Di seguito sono enunciate le caratteristiche delle specie prese in esame, riprese da Fenaux (in Bone, 1998).

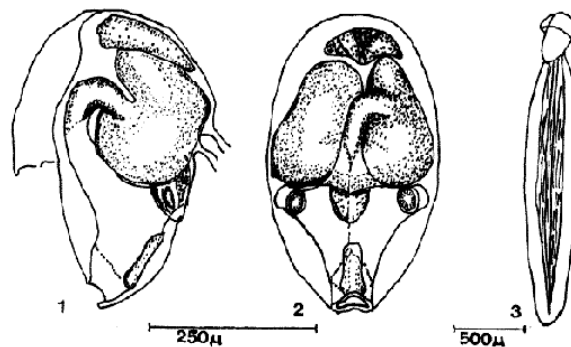
FAMIGLIA OIKOPLEURIDAE Lahille, 1887

*Oikopleura dioica* Fol 1872



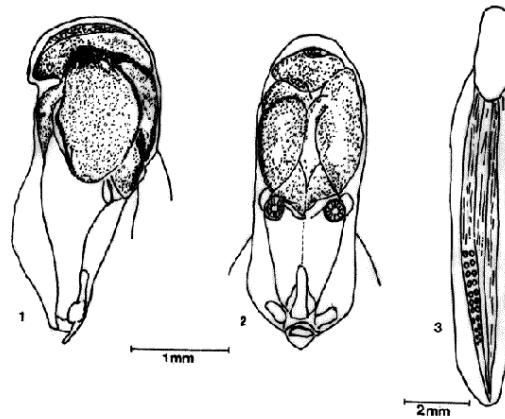
Il tronco è piccolo e piuttosto globoso. Il profilo dorsale è diritto ed orizzontale e si incurva bruscamente verso la bocca. Gli spiracoli sono posti ai lati del faringe, nella sua porzione posteriore, e alla fine di due canali imbutiformi che da quello si dipartono. Essi sono relativamente più lunghi che nella maggior parte delle oikopleure. La coda ha una muscolatura dritta e presenta all'ultimo terzo distale destro due cellule subcordali fusiformi distanziate l'una dall'altra. E' l'unica specie a sessi separati. Tipicamente neritica, predilige le acque temperate anche se ampiamente euriecia, caratteristica questa che ne consente l'allevamento.

*Oikopleura longicauda* (Vogt), 1854



La determinazione di questa specie è molto semplificata dalla presenza di un peculiare ampio cappuccio cuticolare che, partendo dal bordo dorsale posteriore, si estende su una parte più o meno estesa de tronco. Talvolta però questo cappuccio può non essere presente. La coda è dotata di bande muscolari molto larghe ed evidenti. E' la specie più comune nei mari caldi.

*Oikopleura albicans* (Leukart), 1854



Il corpo è allungato e piuttosto dritto. La bocca è terminale e dà accesso ad una cavità faringea relativamente ampia avente la forma di un prisma. Gli spiracoli sono lunghi e protrudono all'esterno molto dietro rispetto all'ano. La coda possiede una muscolatura larga e forte. Essa mostra sulla metà inferiore sinistra numerose cellule subcordali vescicolose, disposte approssimativamente su due linee. Durante la maturità l'aspetto del tronco è molto caratteristico per il grande sviluppo delle gonadi. Queste, costituite da un ovario mediano affiancato da due testicoli, formano una specie di cappuccio che sormonta la parte dorsale degli organi digestivi. E' una specie comune sebbene non così abbondante in tutte le acque temperato-calde.

FAMIGLIA FRITILLARIIDAE Seeliger, 1895

*Fritillaria pellucida* (Busch), 1851

Il tronco di questa specie è più o meno rettangolare e depresso dorso-ventralmente. Mostra una brusca curvatura verso il basso a livello del faringe ove inizia l'oikoplasto, che forma una cavità ricoperta da un cappuccio cuticolare. Il tronco è ben caratterizzato dalla presenza costante di due prolungamenti cuticolari alla sua estremità posteriore. Ci sono inoltre numerose piccole cellule ghiandolari distribuite, per lo più simmetricamente, in differenti punti del tronco. La bocca è posta come all'interno di un muso costituito da un labbro inferiore bilobato e da un ampio labbro superiore. Il cuore, di dimensioni grandi, è ben visibile e posto trasversalmente sotto la parte posteriore dell'esofago. La coda larga si restringe verso il margine distale leggermente biforcuto ed è caratterizzata da quattro cellule ghiandolari (due per lato) ben visibili, dotate di canalicoli di secrezione. E' spesso la specie più abbondante nel Mar Mediterraneo.

## 3.2 Metodi di preparazione e analisi dei campioni

I campioni sono stati precedentemente fissati e inclusi in resina epossidica secondo il protocollo seguente:

### Fissazione:

- 2 ore in glutaraldeide all'1,5% in tampone cacodilato di sodio 0,2M a pH 7,2-7,4 e NaCl 1,6%;
- 3 lavaggi da 7 minuti in tampone cacodilato 0,2M e NaCl 1,6%;
- un'ora e mezza di post-fissazione in tetrossido di osmio ( $\text{OsO}_4$ ) all'1% in tampone cacodilato 0,2M a 4°C, al buio.

### Disidratazione:

- 2 passaggi da 5 minuti in alcol 50%
- 2 passaggi da 10 minuti in alcol 70%
- 2 passaggi da 10 minuti in alcol 95%
- 3 passaggi di 15 minuti in alcol assoluto (alcol al 100%)
- 2-3 passaggi da 15 minuti in ossido di propilene, il primo a 4°C, gli altri a temperatura ambiente.

### Impregnazione:

- un'ora in una soluzione di Epon ed Ossido di propilene in rapporto 1:1 a 45°C in boccettine chiuse;
- 2 passaggi da un'ora in resina pura a 37°C in boccettine aperte;

### Inclusione:

- disposizione dei preparati in apposite cellette.

### Polimerizzazione:

- 24 ore a 37°C
- 24 ore a 45°C
- 24 ore a 60°C

## TAGLIO ALL'ULTRAMICROTOMO

I preparati inclusi in resina trasparente si prestano comodamente ad una prima analisi allo stereomicroscopio, che consente l'orientamento del campione e quindi la scelta del tipo di sezione da effettuare (sagittale, frontale o trasversale). Una volta fissato il campione sul portapezzi, è stata rimossa parte della resina, creando un forma a tronco di piramide trapezoidale occupata interamente dall'esemplare.

I preparati sono quindi stati sezionati utilizzando un ultramicrotomo Pabisch Top Ultra 170 per ottenere sezioni semifine, mentre nei punti più interessanti sono state raccolte sezioni ultrafine con un ultramicrotomo LKB Ultratome III.

### Sezioni semifine:

dello spessore di circa 1  $\mu\text{m}$ , eseguite in serie con lame di vetro appositamente realizzate. Raccolte singolarmente su vetrini porta oggetto, sono state colorate a caldo con una soluzione acquosa di blu di toluidina 1% e borace 1%, quindi osservate al microscopio ottico Leica DMR e fotografate tramite una fotocamera digitale. In questo modo sono stati sezionati esemplari in toto secondo diversi piani d'inclinazione. Le immagini sono state orientate ed impaginate per l'analisi e la ricostruzione dell'area orale.

### Sezioni ultrafine:

dello spessore di circa 70-90 nm, prodotte con una lama di diamante Diatome Ultra 45° e raccolte su membrane o retini di rame smagnetizzati. Sono state contrastate con acetato di uranile per circa 20 minuti e citrato di piombo per circa 9 minuti, quindi osservate e fotografate con il microscopio elettronico a trasmissione Hitachi H600. Per la digitalizzazione dei negativi ottenuti con il TEM è stato usato uno scanner Epson Perfection 1200S mentre per la successiva rielaborazione sono stati utilizzati i software Corel PHOTO PAINT e Corel DRAW.

## 4. RISULTATI

I risultati qui riportati derivano dall'analisi delle sezioni di 12 esemplari appartenenti alla principale famiglia della classe Appendicularia e precisamente:

- 8 esemplari di *O. dioica*
  - 2 esemplari di *O. longicauda*
  - 2 esemplari di *O. albicans*
- } fam. OIKOPLEURIDAE

Nella tabella seguente sono riportati i dati relativi ai preparati sezionati per questo studio.

SPECIE	TIPO SEZIONE	CODICE PREPARATO	N° FOTO AL M.O.
<i>Oikopleura dioica</i>	trasversale	909-T	99
	sagittale	910-S	85
	frontale	912-S	69
	sagittale	916-7	-
	sagittale	912-H	-
	frontale	916-4	-
	trasversale obliqua	912-U	-
	sagittale	500-M	44
<i>Oikopleura longicauda</i>	sagittale	924-T	96
	frontale	924-Z	79
<i>Oikopleura albicans</i>	sagittale	849-A1	58
	frontale	849-A3	45

Le tre specie di oikopleure prese in esame, pur presentando delle differenze a livello citologico (tipi cellulari e loro distribuzione), si sono rivelate abbastanza omogenee da un punto di vista morfologico (per quanto riguarda la parte anteriore del tronco).

L'analisi delle strutture sensoriali è stata favorita, in *O. longicauda* e *O. albicans*, dalle maggiori dimensioni di queste specie rispetto alla più piccola *O. dioica*.



Il tratto anteriore del canale alimentare può essere suddiviso in tre regioni. Anteriormente si trova la **bocca**, che rappresenta di fatto l'entrata del canale alimentare, delimitata posteriormente dall'anello circumorale di meccanoettori. Il tratto seguente, definito **prefaringe**, trova il suo confine posteriore nelle ciglia delle bande pericoronali che lo separano dal **faringe** propriamente detto. Il pavimento del faringe è profondamente solcato dalla doccia dell'**endostilo** mentre sul tetto è presente un fila mediana di cellule cigliate che hanno la funzione di trasportare le particelle di cibo catturate dalla rete mucosa verso l'esofago. Col termine faringe *s.l.* si intende il tratto che comprende il prefaringe ed il faringe *s.s.*

Nella cavità sanguigna compresa fra la parete del canale alimentare e l'oikoplasto sono immersi il **ganglio cerebrale** e i **nervi** che contattano le strutture sensoriali. Sempre all'interno dei seni sanguigni si trovano le due **ghiandole faringee**, situate ai lati dell'endostilo e di cui è stata osservata la connessione con l'oikoplasto ventrale.

L'**oikoplasto** (epidermide modificata deputata alla secrezione della loggetta) avvolge tutta la parte anteriore del tronco e si estende, nel suo confine rostrale, fino alla punta del labbro superiore e alla base del labbro inferiore.

## ANALISI MORFOLOGICA :

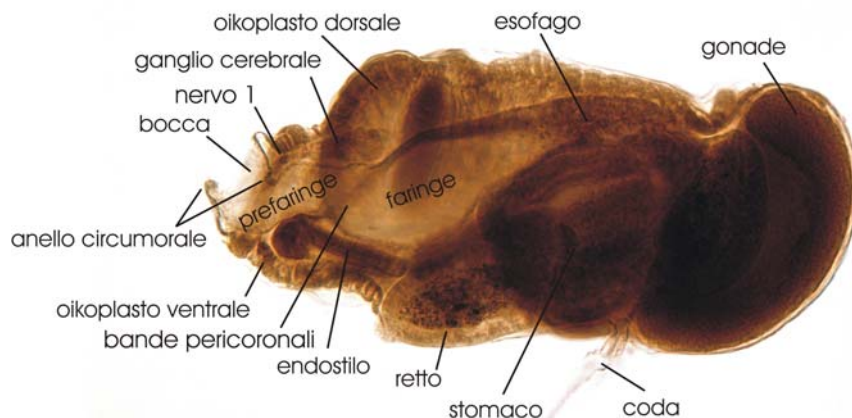
### *Oikopleura dioica* (Tavole 1,2,3)

Il tronco passa da una forma più o meno tubolare, anteriormente, ad una quasi triangolare a livello dell'endostilo in sezione trasversale (Tav.1, d,g). L'oikoplasto si presenta più spesso sul lato ventrale anteriore del tronco per poi assumere uno spessore pressoché uniforme procedendo caudalmente (Tav.1 c,e).

Il labbro inferiore è più esteso in avanti rispetto a quello anteriore, portando il piano dell'anello circumorale ad essere leggermente rivolto verso l'alto (Tav.2 d) e quindi il prefaringe a trovarsi in posizione ventrale rispetto alla bocca (Tav.2, e). La forma dell'apertura boccale può essere paragonata ad un cuore capovolto, in quanto il labbro superiore presenta i lati molto spioventi mentre il labbro inferiore presenta una concavità verso il basso.

A livello del faringe si nota un notevole ampliamento nelle dimensioni del tubo alimentare, che torna a restringersi solo a livello dell'esofago.

L'endostilo è piuttosto voluminoso e si prolunga indietro quasi fino all'ano. Le ghiandole faringee che lo accompagnano ai lati sono sferoidali e compresse lateralmente (Tav.1,g; Tav.3,d).



**Fig.3** Foto al M.O. del tronco di un'esemplare di *Oikopleura dioica* incluso in resina, prima di essere tagliato (visione laterale da sinistra).

***Oikopleura longicauda*** (Tav. 4,5)

La bocca presenta un'ampia apertura e grandi dimensioni delle cellule meccanocentrici. Il labbro superiore è relativamente corto, come anche il labbro inferiore (Tav. 4, e). Il faringe *s.l.* si presenta ampio e di forma triangolare, in sezione sagittale (Tav.4, f). Le grandi dimensioni delle cellule cigliate della porzione dorsale dell'anello circumorale causano un'importante riduzione della circonferenza del faringe *s.l.*. Le dimensioni del prefaringe si mantengono pressoché costanti e solo a livello del faringe propriamente detto si nota un'evidente espansione del canale. L'endostilo è piuttosto allungato e gli spiracoli sono di grandi dimensioni (Tav. 4, h).

***Oikopleura albicans*** (Tav. 6,7)

E' la specie che presenta le dimensioni maggiori tra quelle studiate.

L'estensione delle labbra è maggiore rispetto alle specie precedenti e determina una maggiore ampiezza della bocca. L'estroffessione del tetto del faringe anteriore, in corrispondenza della quale si ritrovano i meccanocettori dell'anello circumorale, si presenta ampia rispetto alle dimensioni degli stessi meccanocettori, che in questa specie sono relativamente più piccoli (Tav. 6, f). Il faringe *s.l.* è molto grande ed allungato in senso longitudinale, si restringe lateralmente a livello delle bande pericoronali (Tav. 7, h). L'endostilo è disposto orizzontalmente lungo l'asse longitudinale del tronco ed è fiancheggiato da due voluminose ghiandole faringee (Tav. 7, f).

## ANALISI DELLE STRUTTURE SENSORIALI DELLA BOCCA:

### *Oikopleura dioica* (Tav. 1,2,3)

Per quanto riguarda le strutture sensoriali della bocca i risultati confermano quelli di Olsson *et al.* (1990) e Bollner *et al.* (1986).

Le porzioni destra e sinistra del primo nervo derivano dall'organo di senso ventrale come descritto da Bollner *et al.* (1986). Queste contattano il ganglio cerebrale a livello di una sua estroflessione anteriore (Tav. 2, c).

Il secondo nervo si diparte anch'esso dalla parte anteriore del cervello, ma a causa delle dimensioni estremamente ridotte e della scarsa qualità di conservazione dei tessuti non è stato possibile individuarne con precisione il percorso.

Il ramo dorsale si porta in posizione anteriore all'interno del labbro superiore mentre il ramo ventrale corre intorno alla bocca per entrare nel labbro inferiore, dove contatta i meccanocettori dell'anello circumorale.

In sezione frontale sono state individuate due cellule adiacenti sulla parete esterna del labbro superiore, che per forma e posizione possono essere identificate come le cellule del labbro superiore descritte da Olsson. Di queste cellule è stata osservata la vicinanza al ramo dorsale del secondo nervo, ma non il contatto diretto. Rispetto a quanto descritto da Olsson, queste cellule si trovano in posizione più ventrale, a contatto con l'anello circumorale, e non sulla punta più esterna del labbro superiore (Tav. 3, b). Per quanto riguarda gli altri meccanocettori, questi sono disposti a formare l'anello continuo di cellule cigliate. La porzione ventrale-anteriore dell'anello è allocata sulla punta del labbro inferiore, rivolta verso l'esterno. Seguendo l'andamento di queste cellule si nota che, ai lati della bocca, riducono le dimensioni e si affacciano sul lato interno del labbro inferiore (Tav. 3, d,e). Poi, salendo verso il labbro superiore, si portano più all'interno e producono l'estroflessione che segna il confine tra bocca e prefaringe (Tav. 2, d).

Anche per la porzione dorso-caudale dell'anello circumorale si osserva la tendenza delle cellule cigliate a presentare dimensioni maggiori nell'area mediana, per diminuirle verso i lati.

Questa porzione dell'anello si trova in posizione più anteriore rispetto a quanto descritto da Olsson *et al.* (1990), come rivisto da Caicci (2006-2007). Le due bande (destra e sinistra) di cellule cigliate infatti, non si portano molto all'interno del faringe, ma salgono dal labbro inferiore unendosi a livello del labbro superiore.

*Oikopleura longicauda* (Fig. 4 e Tav. 4,5)

La ricostruzione delle sezioni sagittali e frontali ha portato alla luce delle differenze sostanziali rispetto alla specie più conosciuta, *O. dioica*.

La regione rostrale del cervello presenta un'evidente estroflessione da cui si dipartono le due grosse porzioni del primo nervo (Tav. 5, b). Queste non si portano direttamente in direzione anteriore, ma si allontanano lateralmente l'una dall'altra per poi scendere parallele e verticali verso la regione ventrale mantenendosi a stretto contatto con l'oikoplasto, e quindi riavvicinandosi a livello dell'organo sensoriale ventrale (sulla parete antero-ventrale del tronco) da cui si originano.

Le due porzioni del primo nervo formano così un anello verticale, perpendicolare all'asse antero-posteriore.

A livello dell'estroflessione del cervello partono le porzioni destra e sinistra del secondo nervo; ognuna viaggia orizzontalmente in direzione anteriore ramificandosi a livello dell'anello formato dal primo nervo.

Un ramo si dirige verso il labbro inferiore mantenendosi parallelo al primo nervo (**secondo nervo ventrale dx e sin**) mentre l'altro si mantiene orizzontale, procedendo in direzione anteriore verso il labbro superiore (**secondo nervo dorsale dx e sin**).

Prima di procedere nella descrizione dell'andamento del secondo nervo è necessario illustrare la disposizione dei meccanocettori dell'anello circumorale, questi presentano due sostanziali differenze rispetto a quelli di *O. dioica*.

La prima consiste nelle non continuità dell'anello: esso si compone infatti di due unità distinte e contrapposte a forma di arco, che prendono il nome di **arco del labbro inferiore** ed **arco del labbro superiore**. Gli archi sono separati da due tratti privi di cellule cigliate situati ai lati della bocca e sono innervati da rami differenti del secondo nervo.

La seconda differenza consiste nella presenza di due cellule meccanocentriche poste lateralmente sul pavimento del prefaringe. Queste non sono direttamente connesse ai due archi di meccanocettori, ma presentano forma e dimensioni simili a quelle delle cellule mediane dell'arco del labbro superiore. Sono entrambe contattate da un ramo del secondo nervo ventrale (Tav. 4, d; Tav. 5, g).

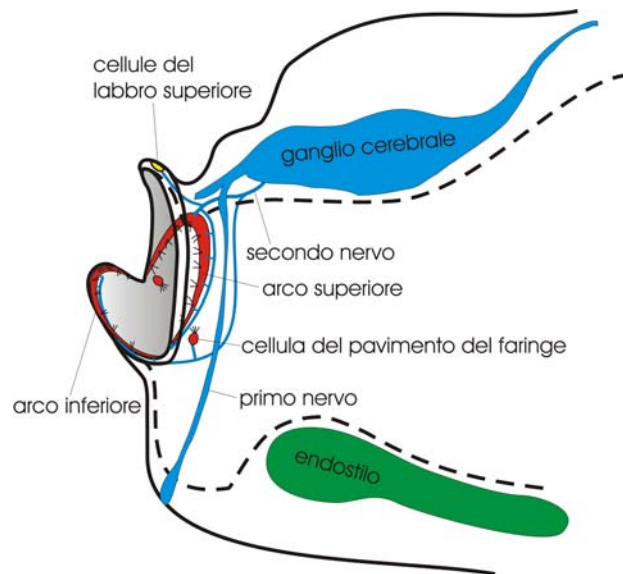
Tornando all'andamento del secondo nervo si può ora capire la logica delle diramazioni descritte sopra e delle successive.

Il secondo nervo ventrale, dopo essere sceso in posizione ventrale, si dirama ulteriormente. Un piccolo ramo si dirige verso l'interno per contattare i due

singoli meccanocettori posti sul pavimento del prefaringe, mentre l'altro ramo viaggia in direzione anteriore entrando nel labbro inferiore e contattandone le cellule cigliate.

Il secondo nervo dorsale invece, giunto in prossimità dell'arco del labbro superiore, si dirama anch'esso formando un piccolo ramo, che prosegue il suo percorso in direzione dorsale all'interno del labbro superiore per contattare probabilmente le cellule del labbro superiore (non identificate nelle sezioni).

Il percorso dell'altro ramo continua, parallelo a quello delle cellule cigliate dell'arco superiore che contatta.



**Fig.4** Schema delle strutture sensoriali della bocca e dell'andamento dei nervi in *Oikopleura longicauda*.

#### ***Oikopleura albicans*** (Fig. 5 e Tav. 6,7)

In questa specie l'organizzazione delle strutture sensoriali orali presenta elementi in comune con entrambe le specie sopra descritte.

Il primo nervo si diparte da una zona rostro-ventrale del ganglio cerebrale come una piccola estroflessione che si dirama subito nelle due porzioni destra e sinistra, le quali si associano immediatamente all'oikoplasto nella discesa verso la parete ventrale del tronco, dov'è presente l'organo di senso ventrale che le origina, similmente a *O. dioica* e *O. longicauda* (Tav. 7, b).

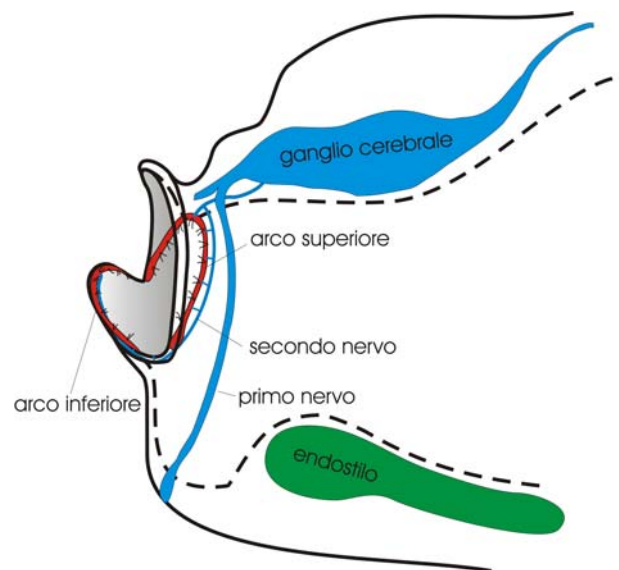
Sempre dalla zona ventrale anteriore del cervello parte il secondo nervo (destro e sinistro) che segue un percorso simile a quello visto in *O. dioica*: si porta in direzione anteriore verso la porzione più dorsale dell'anello circumorale di meccanocettori e lì, con piccole diramazioni, contatta singolarmente le cellule cigliate. Il resto del percorso si compie parallelamente a queste cellule e vede il passaggio del nervo all'interno del labbro inferiore senza soluzione di continuità.

Diversamente da quanto osservato in *O. dioica* e *O. longicauda*, in questa specie manca una suddivisione del secondo nervo in ramo dorsale e ramo ventrale. Non sono state osservate, infatti, porzioni del nervo risalenti nel labbro superiore a contattarne eventuali cellule sensoriali.

Per quanto riguarda l'organizzazione dei meccanocettori dell'anello circumorale, questi presentano una disposizione del tutto simile a quelli di *O. dioica*.

Le cellule del labbro inferiore hanno dimensioni più grandi rispetto a quelle del labbro superiore e dimensioni massime nella zona mediana (Tav. 6, d). Ai bordi della bocca le cellule del labbro inferiore e superiore si avvicinano, senza però toccarsi (Tav. 6, f; Tav. 7, g). Ciò causa un'interruzione nella continuità dell'anello circumorale che, diversamente da quanto osservato in *O. longicauda*, non è indicata dell'andamento del secondo nervo, che contatta con rami separati i due archi.

Possiamo in generale suddividere l'anello circumorale in un arco superiore ed uno inferiore.



**Fig.5** Schema delle strutture sensoriali della bocca e dell'andamento dei nervi in *Oikopleura albicans*.

#### ANALISI CITOLOGICA DELLE CELLULE SENSORIALI:

Lo studio dell'ultrastruttura purtroppo non ha prodotto i risultati attesi. In fase di analisi al microscopio elettronico, infatti, le sezioni sottili si presentavano molto poco contrastate, anche con tempi di colorazione prolungati, rendendo molto difficoltoso l'orientamento e limitando la possibilità di ottenere fotografie di qualità presentabile.

***Oikopleura dioica*** (Tav. 1,2,3)

L'anello circumorale è costituito da due bande di cellule meccanocentrici cigliate che si uniscono in corrispondenza del piano sagittale mediano del tronco, contattate dal secondo nervo ventrale destro e sinistro. Le cellule presenti sul labbro inferiore hanno forma sferica e, sul lato apicale, producono lunghe ciglia rigide, la cui lunghezza è variabile. Lungo tutto il percorso dell'anello i meccanocettori sono associati a cellule di supporto strettamente adese. Queste si presentano come cellule epidermiche lisce e appiattite che si estendono a fiancheggiare le cellule cigliate, formando due sottili lamine che ne coprono i lati e parzialmente l'apice, lasciando libera solamente la stretta fascia apicale da cui si innalzano le ciglia. Questa disposizione va quindi a formare una struttura a doccia che percorre il labbro inferiore per tutta la sua lunghezza. Anche al microscopio ottico si può osservare come queste cellule di supporto siano assai appiattite dove ricoprono le cellule sensoriali e si ampliano alla base. La parte dell'anello che interessa il labbro superiore presenta cellule cigliate di forma sferica e dimensioni molto minori rispetto a quelle del labbro inferiore. Le cellule di supporto vanno a formare una struttura a doccia del tutto simile a quella del labbro inferiore, ma in questo caso hanno dimensioni relative maggiori rispetto alle cellule sensoriali che avvolgono. Il complesso di cellule sensoriali e di supporto presenta in sezione sagittale una forma trapezoidale, con l'apice dei meccanocettori leggermente inclinato in direzione anteriore rispetto alla verticale.

***Oikopleura longicauda*** (Tav. 4,5,8)

Come descritto in precedenza le strutture sensoriali della bocca in questa specie si dividono in tre componenti: l'arco di meccanocettori del labbro inferiore, l'arco del labbro superiore e le due grosse cellule cigliate sul pavimento del prefaringe. Le cellule dell'arco inferiore hanno forma trapezoidale e sono associate a cellule di supporto, che le avvolgono formando una doccia in corrispondenza della fila di ciglia (Tav. 8, c,d). Le dimensioni delle cellule cigliate sono minime nelle zone laterali e massime nella zona centrale del labbro. Le dimensioni delle cellule di supporto invece sono inversamente proporzionali a quelle dei rispettivi meccanocettori. Così nella zona mediana dell'arco le grosse cellule cigliate sono avvolte da piatte e sottili cellule di supporto che non presentano più l'espansione alla base, mentre ai margini laterali le espansioni sono alquanto evidenti e di dimensioni paragonabili alle stesse cellule sensoriali. I meccanocettori dell'arco superiore hanno forma sferoidale più o meno schiacciata. La distribuzione delle dimensioni è complementare a quella osservata per l'arco inferiore, le cellule più grandi sono infatti disposte ai lati dell'arco, mentre al centro dello stesso troviamo

meccanocettori relativamente più piccoli. I due archi e le relative direzioni delle ciglia sono disposti specularmente, quindi le cellule dell'arco inferiore guardano verso l'interno in direzione dell'arco superiore, e viceversa. E' da notare che le generali dimensioni dei due archi causano un importante restringimento del dotto alimentare. Le due cellule sensoriali del pavimento prefaringeo hanno forma rotondeggiante ed allungata lungo l'asse apice-base (Tav. 4, d). Presentano un ciuffo di ciglia rigide sul lato apicale e sono anch'esse associate a cellule di supporto che ne avvolgono l'intera circonferenza. Queste cellule, per la posizione e la struttura che presentano, potrebbero verosimilmente svolgere funzione di ricezione degli stimoli meccanici. Le cellule di supporto ai lati della bocca sembrano rappresentare l'elemento che unisce le tre componenti di strutture sensoriali orali. Sia in sezione sagittale che frontale infatti, è stata osservata la connessione tra cellule appiattite ed estese, associate ai meccanocettori marginali dei due archi, e alle cellule del pavimento del prefaringe (Tav. 4, h).

***Oikopleura albicans*** (Tav. 6,7,8)

In generale per questa specie la struttura a doccia formata da meccanocettori dell'anello circumorale e cellule di supporto è del tutto simile a quella descritta per *O. dioica*. Sia le cellule cigliate del labbro superiore che quelle del labbro inferiore sono di forma sferica e presentano ciuffi di ciglia rigide sul lato apicale (Tav. 8, a,b). A differenza delle altre due specie però, si osserva che i meccanocettori del labbro inferiore rivolgono le ciglia verso l'esterno e non verso l'interno, in direzione del labbro superiore. I meccanocettori presenti sul labbro superiore sono rivolti anch'essi verso l'esterno. Le dimensioni delle cellule dell'arco inferiore sono maggiori rispetto a quelle dell'arco superiore e si mantengono quasi costanti per tutta la lunghezza del labbro, per poi rimpicciolirsi velocemente alle estremità. Le cellule del labbro superiore mantengono anch'esse dimensioni costanti nella parte centrale dell'arco, ma alle due estremità laterali si ingrandiscono.



## 5. DISCUSSIONE

Nonostante la loro diffusa e abbondante presenza nei mari, le appendicolarie sono ancora organismi poco conosciuti e studiati. Questa carenza di conoscenze è dovuta alle reali difficoltà che bisogna affrontare dalla fase di raccolta, estremamente delicata, a quella effettiva di studio. L'insieme dei diversi problemi che si incontrano lungo questo percorso porta inevitabilmente ad una rilevante perdita di informazioni, che spesso rende scarsi risultati anche dopo settimane di lavoro.

Questo studio ha portato a nuove conoscenze sulla morfologia e l'organizzazione delle strutture sensoriali delle tre le specie prese in esame.

*O. dioica* era la più conosciuta e indagata da studi precedenti, i risultati riguardanti l'organizzazione dell'anello circumorale confermano in generale la descrizione di Olsson *et al.* (1990) nonché la revisione di Caicci (2006-2007). Riguardo le due cellule del labbro superiore e la loro posizione rispetto all'anello non sarà possibile trarre delle conclusioni certe fino a quando non si riuscirà ad osservare un loro contatto col secondo nervo dorsale al microscopio elettronico.

Per quanto riguarda le altre due specie prese in esame non esistevano invece studi riguardanti l'organizzazione delle strutture sensoriali.

Tutto quello che è stato descritto a proposito dei meccanoettori della bocca ed il loro rapporto col ganglio cerebrale, rappresenta quindi una novità e potrà essere ulteriormente approfondito da futuri lavori.

Di notevole interesse è stato il ritrovamento delle cellule cigliate sul pavimento del prefaringe in *O. longicauda*, queste, seppur separate dai due archi di meccanoettori orali, sono contattate dallo stesso ramo del secondo nervo, che si dirige poi alle cellule cigliate del labbro inferiore. Tali cellule sono completamente avvolte da cellule di supporto che lasciano scoperto solamente il lato apicale, da cui emergono i ciuffi di ciglia. La loro struttura è quindi paragonabile a quella delle cellule cigliate degli archi. Se, oltre a ciò, consideriamo anche la loro posizione strategica ed il loro collegamento col ganglio cerebrale (effettuato dal secondo nervo), possiamo verosimilmente ipotizzare che svolgano funzione meccanorecetttrice.

Di estremo interesse è stato anche individuare un'organizzazione peculiare del secondo nervo e dei meccanoettori orali. L'insieme di queste cellule non si dispone a formare un anello continuo (come in *O. dioica*), ma si divide in tre componenti. Questa divisione è ulteriormente evidenziata dal fatto che il secondo nervo dorsale (che in *O. dioica* innervava le sole cellule del labbro superiore) contatta sia le cellule del labbro superiore che l'intero arco superiore, mentre il

secondo nervo ventrale contatta, oltre all'intero arco inferiore, le cellule del prefaringe.

Nel caso di *O. albicans*, è stato interessante registrare variazioni rispetto alla condizione conosciuta in *O. dioica*, come la divisione dell'anello circumorale in due archi di cellule cigliate e l'assenza delle "cellule del labbro superiore". Queste cellule sono dotate di un ciglio durante la fase larvale degli individui di *O. dioica* che viene perso dopo la metamorfosi, fatto che segnala un probabile inutilizzo (o cambio di funzione) negli individui adulti. L'assenza di questi meccanicettori in *O. albicans*, potrebbe essere quindi spiegata con un'ulteriore regressione dovuta alla minore utilità di queste cellule. Lo stesso fenomeno potrebbe aver causato la perdita di meccanicettori ai lati della bocca e la conseguente separazione dell'anello circumorale in due archi (osservata anche in *O. longicauda*).

Per quanto riguarda la tipologia delle cellule sensoriali indagate in questo studio non si può confermare definitivamente che siano di tipo secondario, come proposto da Olsson *et al.* (1990), a causa dell'assenza di risultati al microscopio elettronico.

#### **Anello circumorale e organo coronale:**

Le cellule cigliate orali delle appendicolarie, associate alle cellule di supporto, formano una struttura sensoriale che potrebbe essere paragonata all'organo coronale delle ascidie. Nel sifone orale di questi organismi è stata infatti osservata e descritta una struttura meccanicettrice definita "organo coronale" (Burighel *et al.*, 2003; Manni *et al.*, 2004), che è costituito da una fila di cellule sensoriali percorrenti la superficie interna del sifone e formanti così un anello continuo esposto al flusso entrante d'acqua. Anche la morfologia e la posizione di questo organo suggeriscono che possa trattarsi di un sistema in grado di percepire i movimenti dell'acqua e le dimensioni delle particelle entranti e quindi possa giocare un ruolo importante nelle reazioni di questi animali.

A livello ultrastrutturale, i meccanicettori dell'anello circumorale in *O. dioica* presentano un numero elevato di ciglia per ogni cellula, ma mancano di microvilli, come anche rinvenuto per l'organo coronale delle ascidie del gruppo Enterogona (Caicci 2006-2007).

Anche la divisione del faringe delle appendicolarie in tre tratti (bocca, prefaringe, faringe *s.s.*) è riconducibile a quella osservata nelle ascidie, in cui le ciglia dell'organo coronale e dei solchi pericoronali (a livello dell'endostilo) separano il sifone orale dal prefaringe dal faringe.

Proprio per questa somiglianza è stata volontariamente evitata la nomenclatura proposta da Olsson *et al.*(1990), che suddivideva il faringe delle appendicolarie in una porzione superiore ed una inferiore in corrispondenza dell'anello circumorale.

Alla luce di queste considerazioni, di altri studi ultrastrutturali sulla morfologia dell'anello circumorale e dell'organo coronale, nonché vista la posizione filogenetica delle appendicolarie rispetto agli altri tunicati, Caicci (2006-2007) ipotizza che la presenza di cellule sensoriali secondarie ricche di ciglia ma sprovviste di microvilli, rappresenti la condizione plesiomorfa di ascidie e appendicolarie.

Anche Bassham e Postlethwait (2005) sostengono, nonostante le differenti morfologie dei meccanocettori secondari cigliati, presenti a livello orale in ascidie, appendicolarie e cefalocordati, che non possa essere esclusa l'ipotesi di un organo ancestrale comune.

Nel caso specifico delle appendicolarie possiamo affermare che l'organo costituito dall'insieme di meccanocettori della bocca sia soggetto ad una certa variabilità morfologica anche all'interno dello stesso genere (*Oikopleura*).

La struttura ad anello continuo dei meccanocettori potrebbe dunque rappresentare la condizione ancestrale, mantenutasi in *O. dioica*, da cui sarebbero evolute le strutture ad arco e le cellule del pavimento del prefaringe osservate in *O. longicauda* ed *O. albicans*.

A seguito di questo lavoro rimangono aperti alcuni problemi che necessiterebbero di ulteriori approfondimenti. Dovrebbe essere definite con precisione la posizione delle cellule del labbro superiore di *O. dioica* e gli eventuali rapporti col secondo nervo e con l'anello circumorale. In *O. longicauda* va approfondita l'ultrastruttura delle cellule del prefaringe e i loro rapporti con i due archi di meccanocettori, come anche la posizione delle due cellule del labbro superiore. L'analisi di individui più giovani e allo stadio larvale dovrebbe essere utile per approfondire i processi di modifica e regressione delle strutture sensoriali della bocca.

## 6. CONCLUSIONI

Durante questo tirocinio mi sono avvicinato all'ambiente della ricerca universitaria di base, potendo così apprendere interessanti tecniche di studio inerenti alla morfologia funzionale. Ho imparato a costruire lame di vetro e ad orientare e preparare i campioni per il taglio all'ultramicrotomo; ho acquisito dimestichezza con le tecniche di taglio, colorazione e osservazione di sezioni al microscopio ottico; ho assistito più volte alla preparazione ed all'osservazione di sezioni al microscopio elettronico a trasmissione; ho appreso tecniche di acquisizione e miglioramento di immagini digitali e di creazione di modelli schematici tramite programmi di computer grafica; ho avuto la possibilità di approfondire le mie conoscenze di zoologia ed anatomia comparata, focalizzandomi sull'analisi morfologica di alcune specie di cordati.

Lo studio delle appendicolarie, animali molto piccoli e solo apparentemente semplici, si è rivelato interessante ed appassionante fin dall'inizio, presentandomi ogni giorno nuove problematiche ed interrogativi a cui rispondere.

Oltre ad aver acquisito capacità tecniche, ho imparato ad affrontare la lettura dei risultati che man mano ottenevo, anche in assenza di preliminari informazioni bibliografiche. La successiva fase di interpretazione è stata poi svolta attraverso il confronto con i dati provenienti da altri autori.

Questo studio, inoltre, mi ha reso orgoglioso nell'apportare nuovi contributi alla comprensione dell'area orale delle appendicolarie e delle relative strutture sensoriali.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Bassham S., Postlethwait J.H.** (2005) The evolutionary history of placodes: a molecular genetic investigation of the larvacean *Oikopleura dioica*. *Development* **132**, 4259-4272
- Bollner T., Holmberg K., Olsson R.** (1986) A rostral sensory mechanism in *Oikopleura dioica* (Appendicularia). *Acta Zool. (Stockholm)* **67**, 235-241.
- Bone Q.** (1998) The Biology of Pelagic Tunicates. *Oxford University Press*, (Oxford, New York) pp.340.
- Bone Q., Ryan K.P.** (1978) The Langerhans receptor of *Oikopleura* (Tunicata: Larvacea). *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* **59**, 69-75.
- Brena C., Cima F., GB. Martinucci, Burighel P.** (2005). The appendicularian alimentary tract: a comparative study. In: G. Gorsky, MJ Youngbluth, D. Deibel (Eds.) Response of marine ecosystems to global change: ecological impact of appendicularians. *GB Scientific Publisher. Paris*, pp. 161-170.
- Burighel P., Lane N. J., Gasparini F., Tiozzo S., Zaniolo G., Candia Carnevali M.D., Manni L.** (2003) A novel, secondary sensory cell organ in ascidians: in search of the ancestor of the vertebrate lateral line. *J. Comp. Neurol.* **461**:236-249.
- Caicci F.** (2006-2007) Tesi di Dottorato dal titolo: Sviluppo ed evoluzione degli organi sensoriali nei tunicati, Università di Padova.
- Galt C.P., Mackie C.O.** (1971) Electrical correlates of ciliary reversal in *Oikopleura*. *J. Exp. Biol.* **55**, 205-212
- Holmberg K.** (1982) The ciliated brain duct of *Oikopleura dioica* (Tunicata, Appendicularia). *Acta Zool. (Stockholm)* **63**, 101-109.
- Holmberg K.** (1984) A transmission electron microscopic investigation of the sensory vesicle in the brain of *Oikopleura dioica* (Appendicularia). *Zool. Morphol* **104**, 298-303
- Manni L., Lane NJ., Joly J-S., Gasparini F., Tiozzo S., Caicci F., Zaniolo G., Burighel P.** (2004) Neurogenic and non neurogenic placodes in ascidians. *J. exp. Zoolog. Part B (Mol Dev Evol)* **203B**: 483-504.
- Olsson R., Holmberg K., Lilliemark Y.** (1990). Fine structure of the brain and brain nerves of *Oikopleura dioica* (Urochordata, Appendicularia). *Zool. Morphol.* **110**, 1-7.



## **APPENDICE FOTOGRAFICA**

TAVOLA 1:

Sezioni trasversali di *Oikopleura dioica* selezionate da una serie completa ottenuta a partire dalla parte anteriore del tronco verso quella posteriore. Si riconoscono le principali strutture della bocca, del faringe anteriore e del ganglio cerebrale. (x 300).

In **c** sono indicate le bande pericoronali con le punte di freccia. Il tratteggio delimita l'area dell'apertura boccale.

In **e** le punte di freccia indicano il primo nervo al contatto con l'oikoplasto.

In **g** sono indicate con l'asterisco le due ghiandole faringee ai lati dell'endostilo.

In **h** le punte di freccia indicano le bande pericoronali.



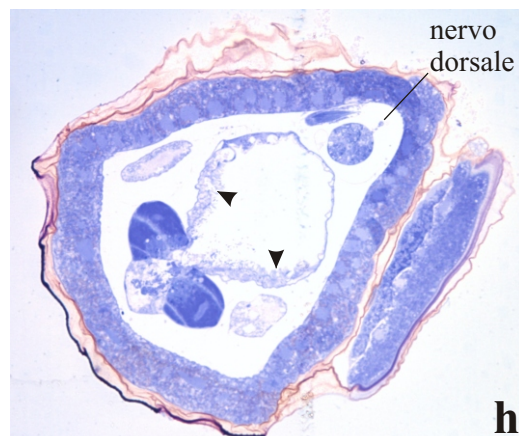
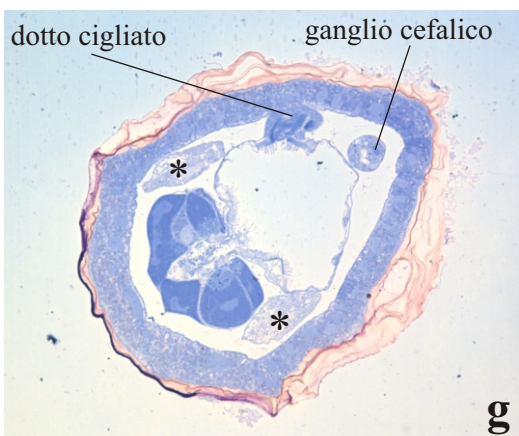
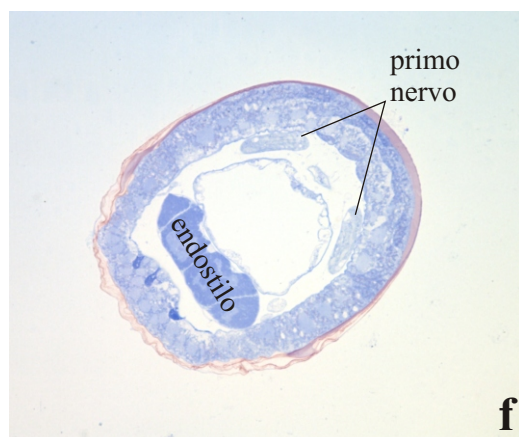
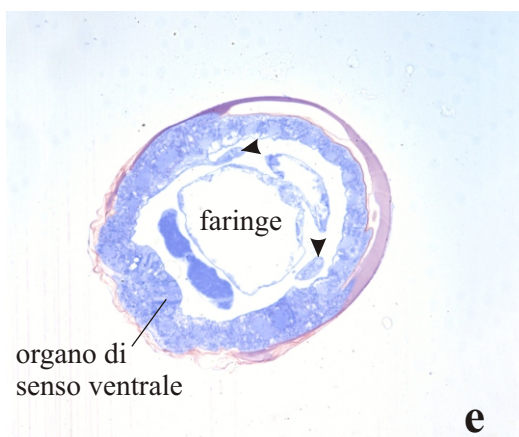
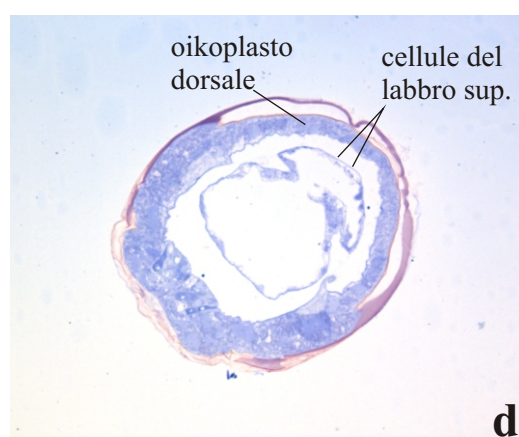
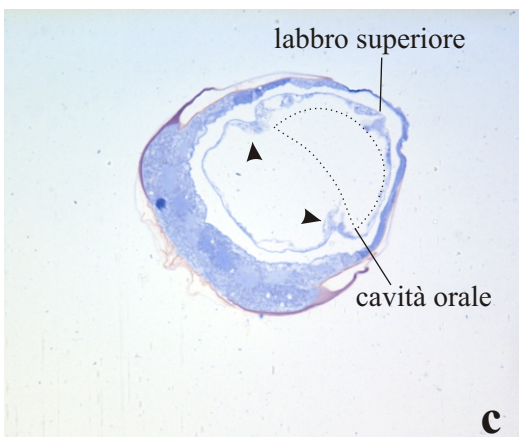
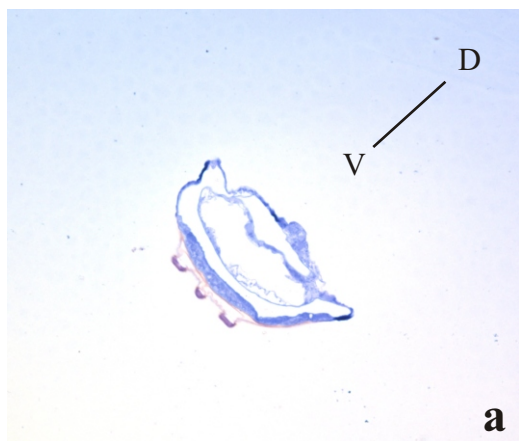


TAVOLA 2:

Sezioni trasversali di *Oikopleura dioica* selezionate da una serie completa ottenuta a partire dal lato sinistro verso quello destro. (x 300)

In figura **b** sono indicati con le punte di freccia due tratti del cordone neurale.

In figura **c** sono indicate con punte di freccia le bande pericoronali e con l'asterisco una ghiandola faringea.



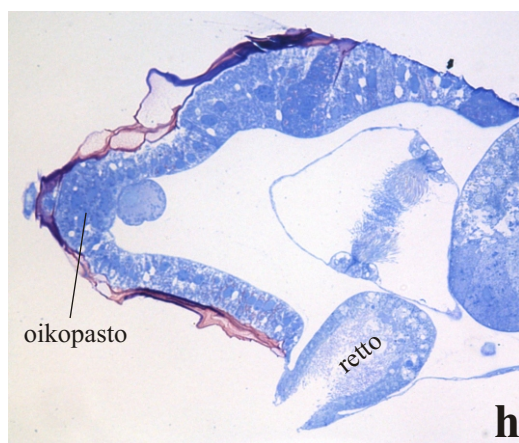
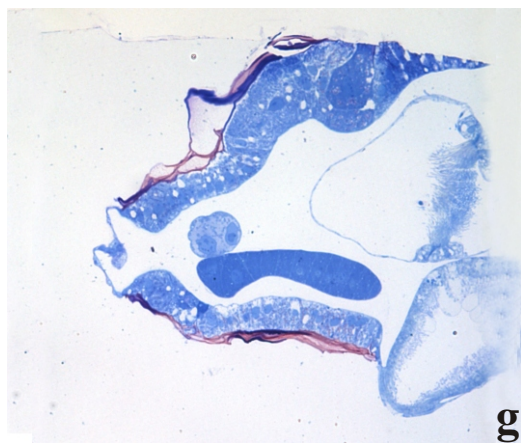
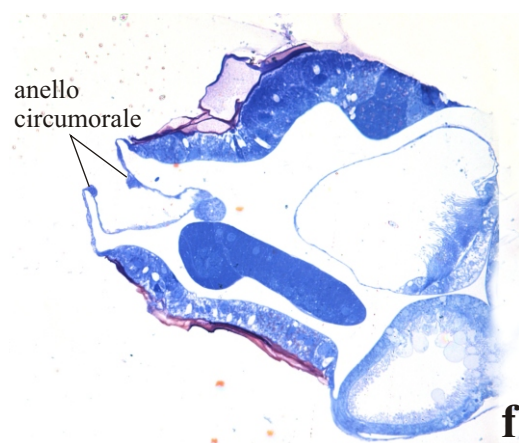
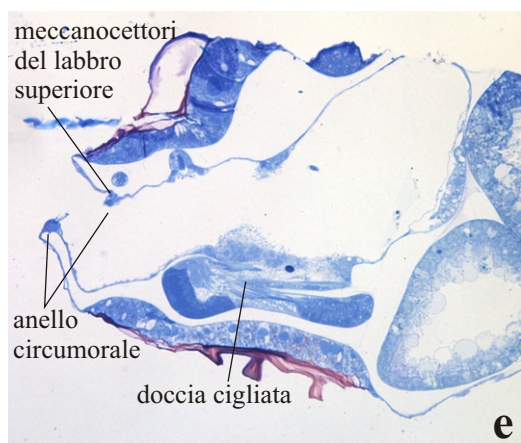
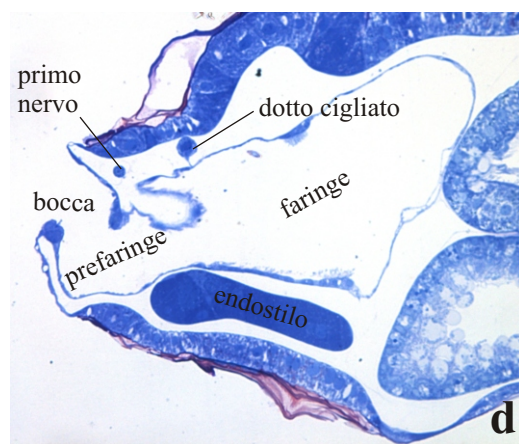
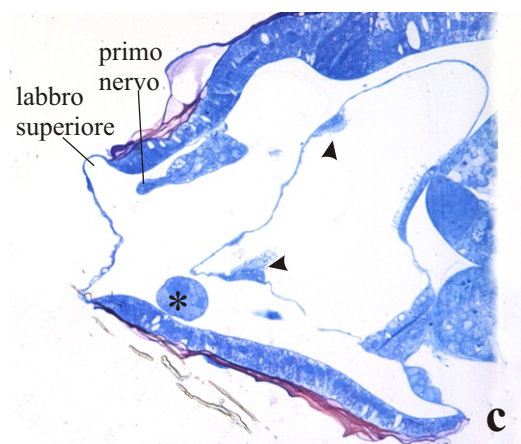
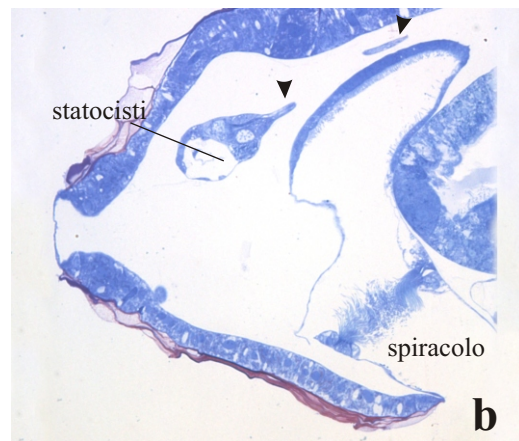
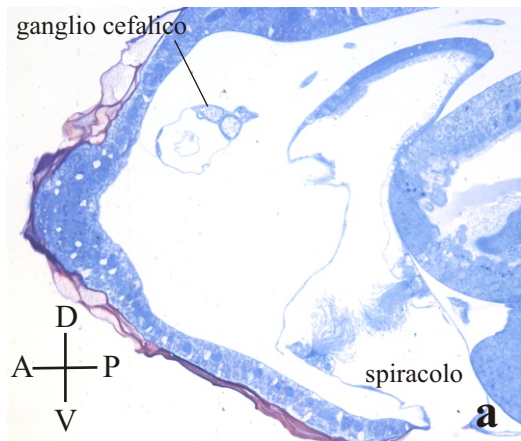


TAVOLA 3:

Sezioni frontali di *Oikopleura dioica* selezionate da una serie completa ottenuta a partire dal lato dorsale verso quello ventrale. Si riconoscono le principali strutture sensoriali della bocca. (x 300)

In figura **b** sono indicate con le punte di freccia le due cellule che potrebbero corrispondere alle “cellule del labbro superiore” presentate da Olsson *et al.*(1990)  
In **c** le punte di freccia indicano le bande pericoronali.



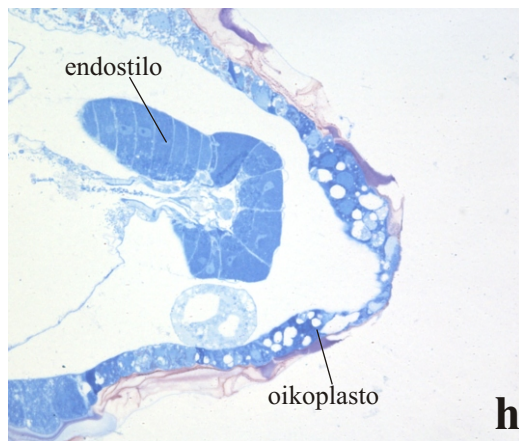
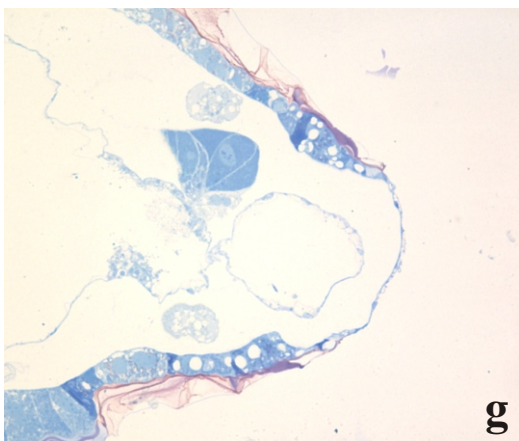
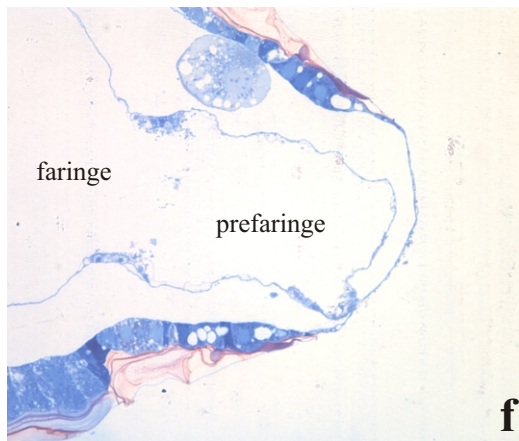
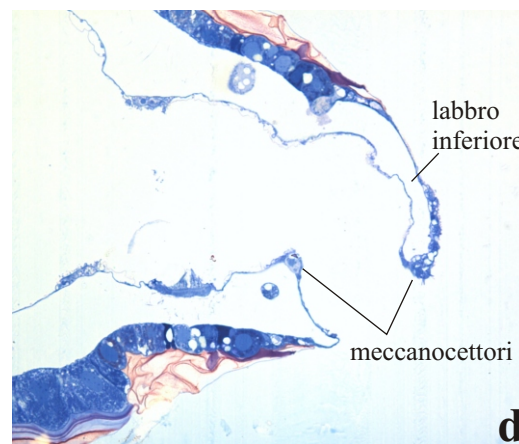
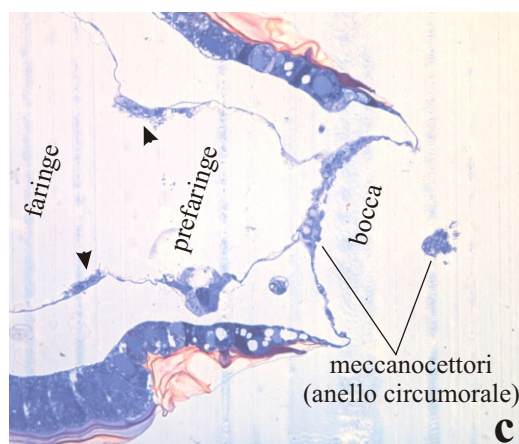
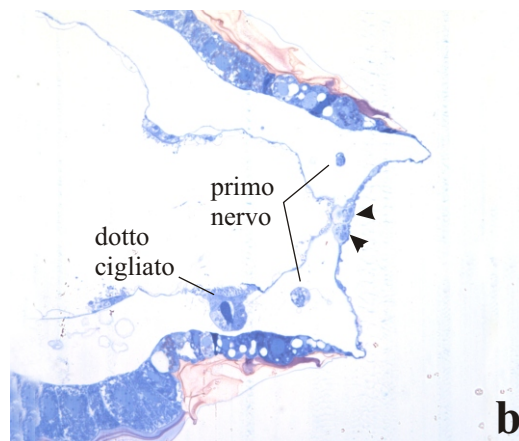
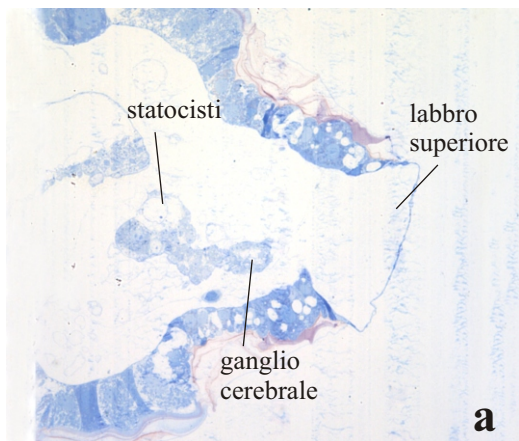


TAVOLA 4:

Sezioni sagittali di *Oikopleura longicauda* selezionate da una serie completa ottenuta a partire dal lato sinistro verso quello destro. (x 300)



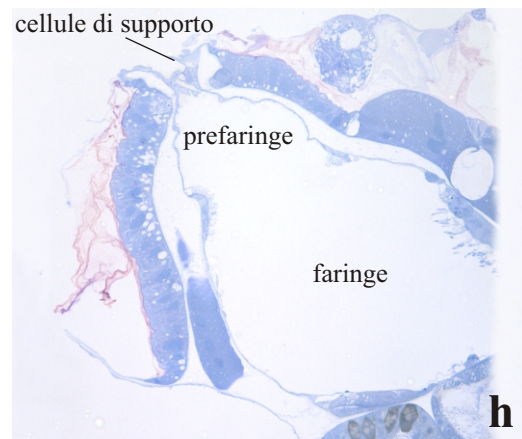
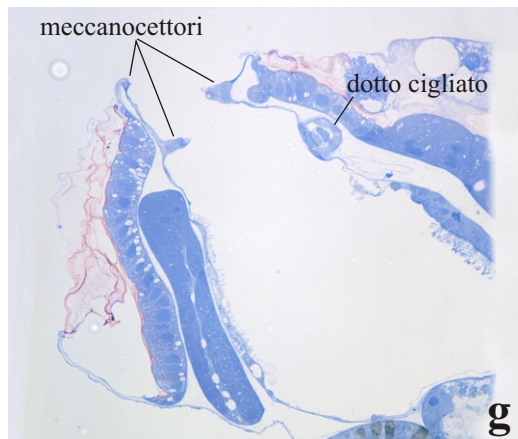
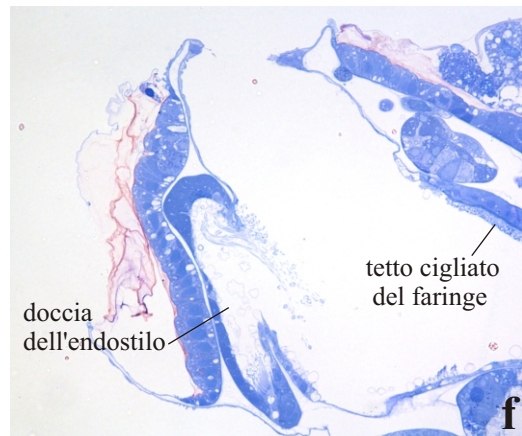
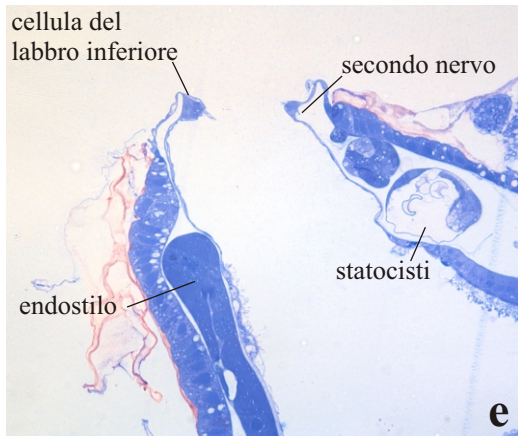
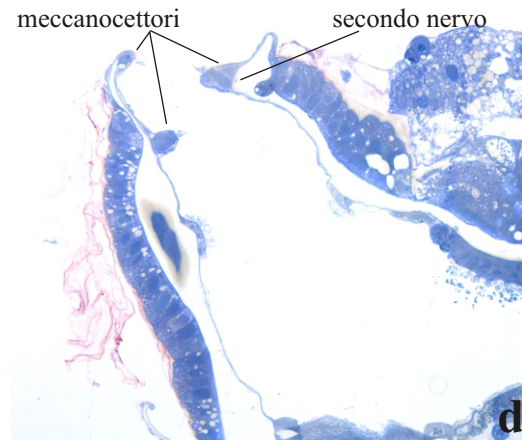
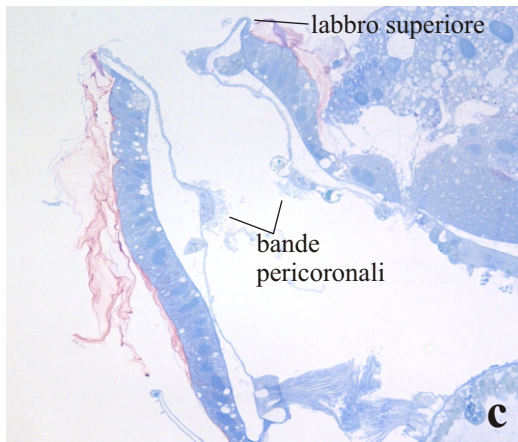
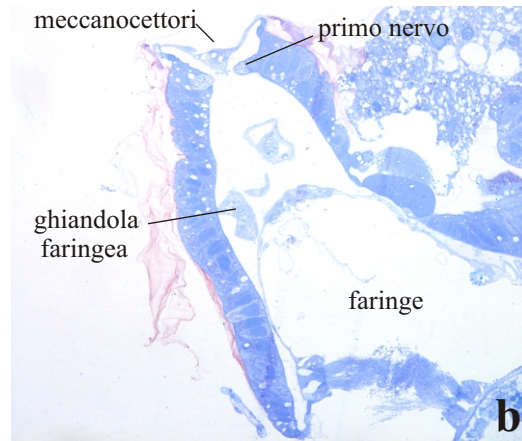
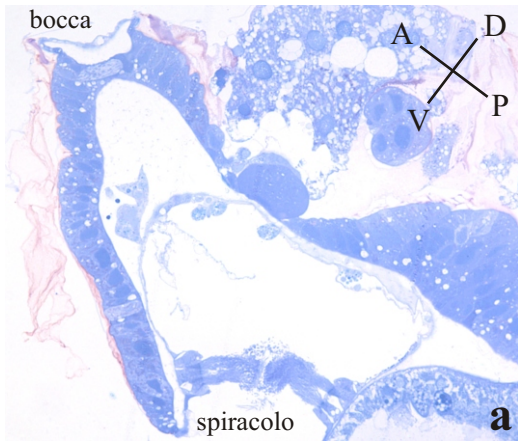


TAVOLA 5:

Sezioni frontali di *Oikopleura longicauda* selezionate da una serie completa ottenuta a partire dal lato dorsale verso quello ventrale. (x 300)

In **a** le punte di freccia indicano l'andamento del cordone neurale che collega il ganglio cerebrale ed il ganglio caudale.

In **b** l'oikoplasto è segnalato dagli asterischi.

In **c** sono indicate con le punte di freccia le bande pericoronali.



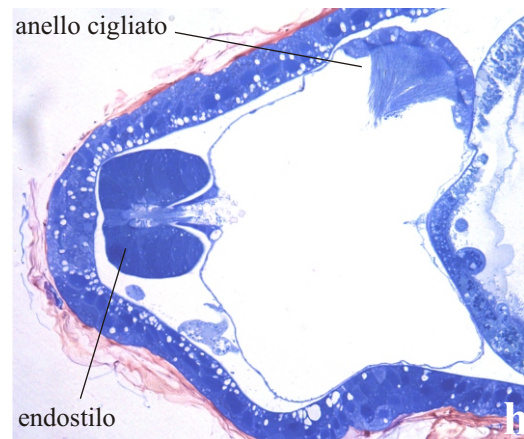
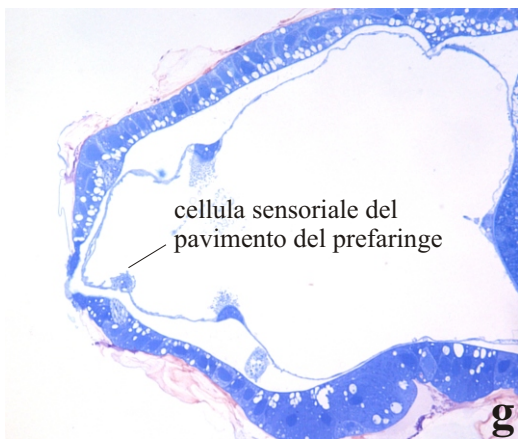
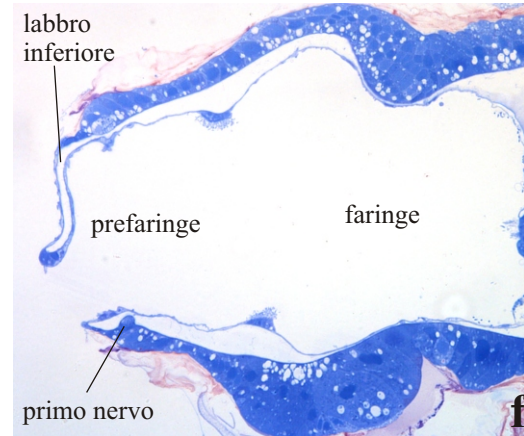
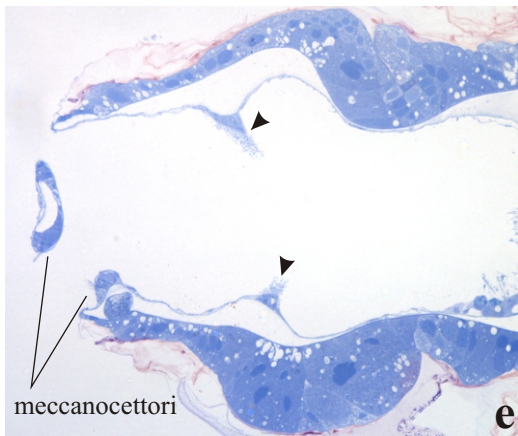
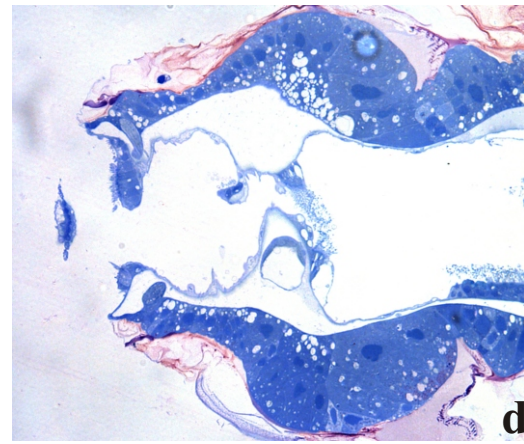
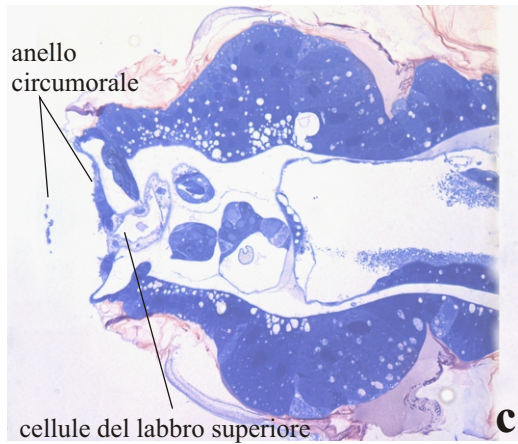
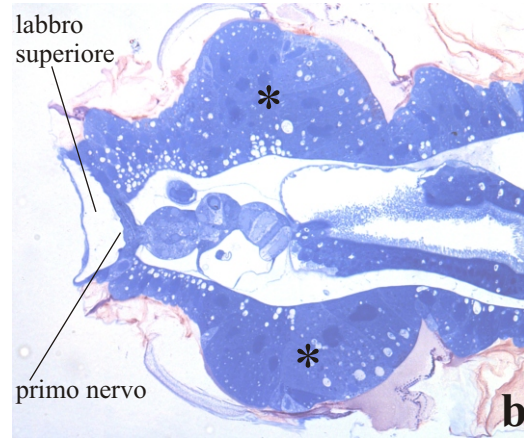
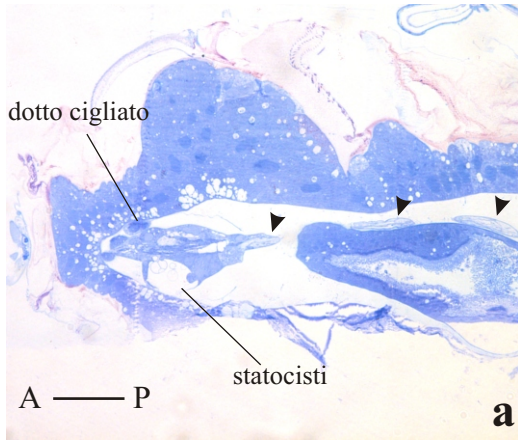


TAVOLA 6:

Sezione sagittali di *Oikopleura albicans* selezionate da una serie completa ottenuta a partire dal lato sinistro verso quello destro. (x 150)

La foto **b** è stata ottenuta involontariamente da una sezione più spessa, in questa però si può notare l'andamento dei due archi (evidenziato dai puntini rossi) grazie all'effetto tridimensionale.



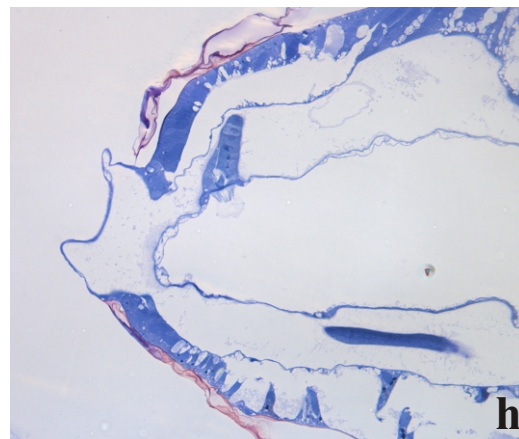
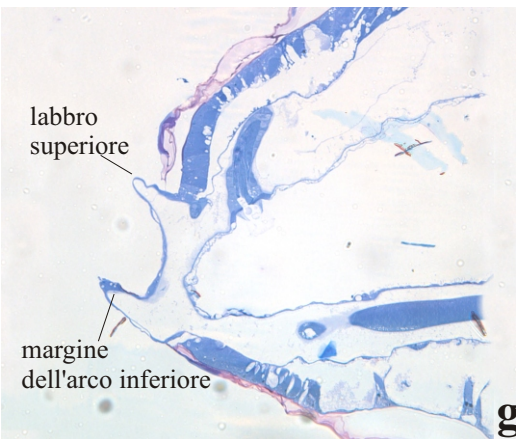
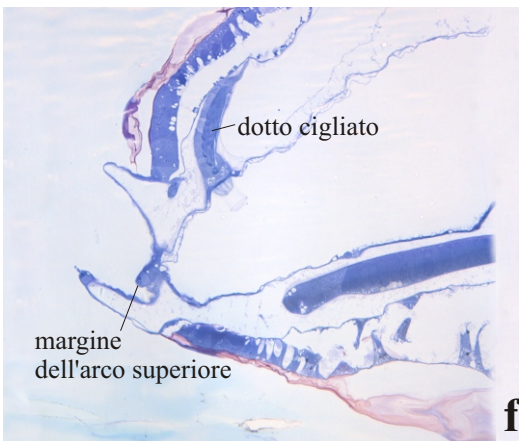
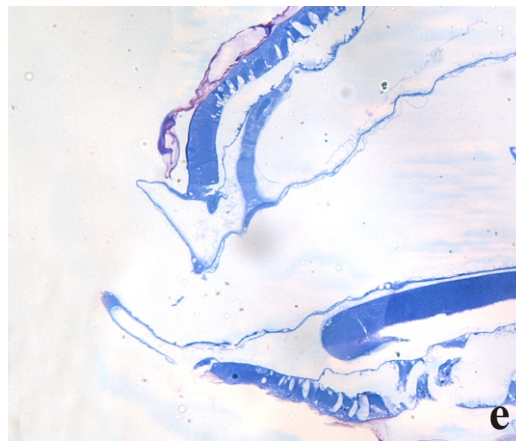
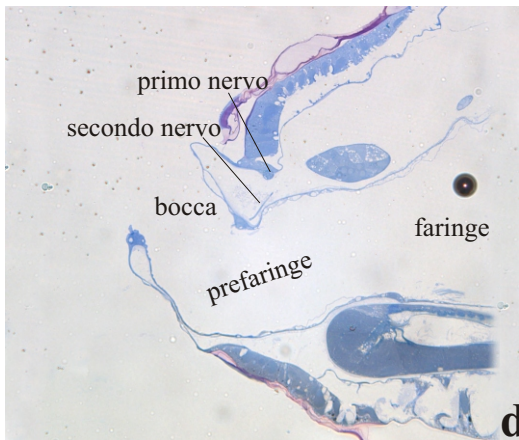
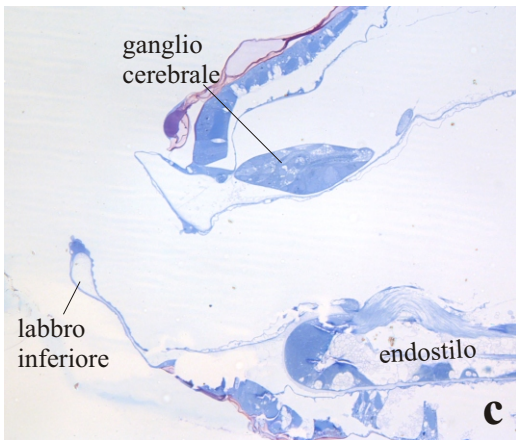
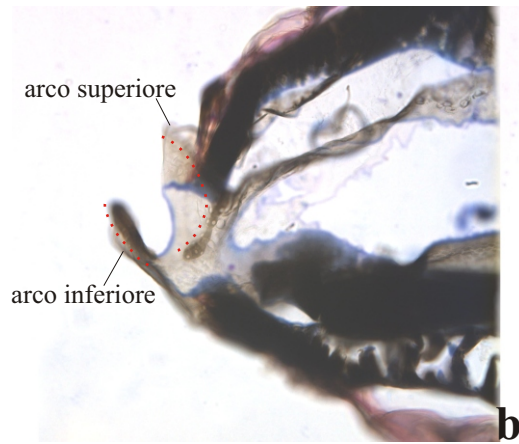
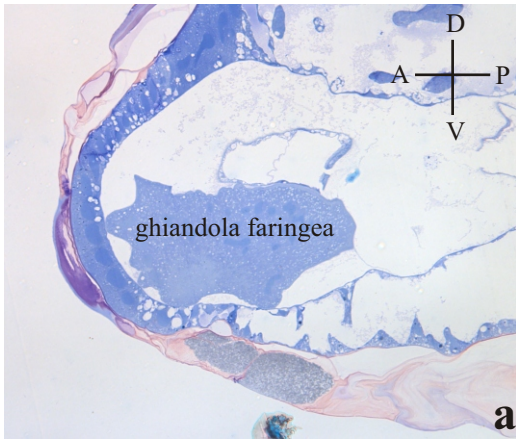


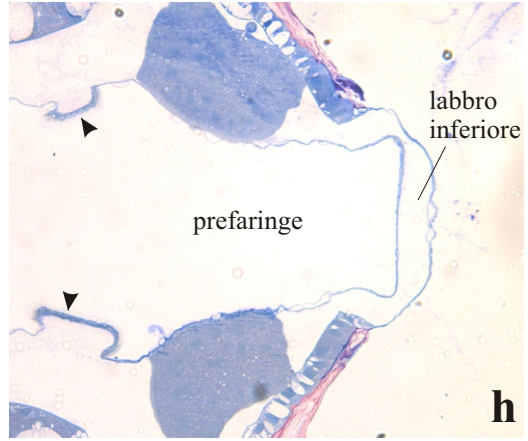
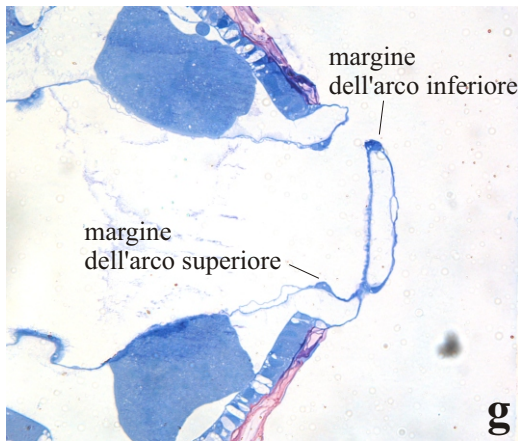
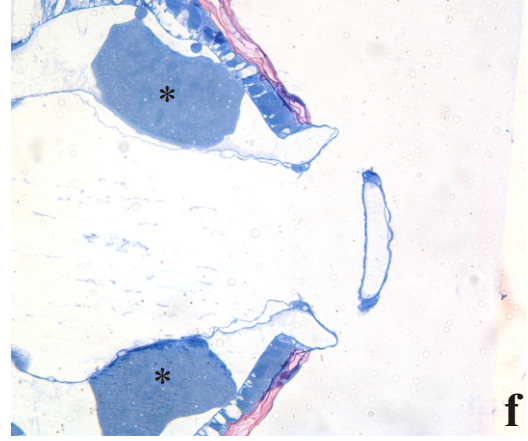
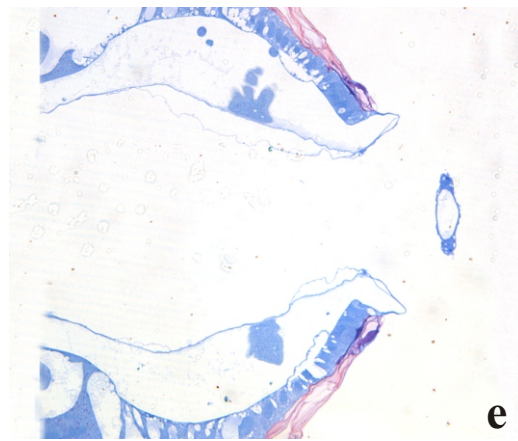
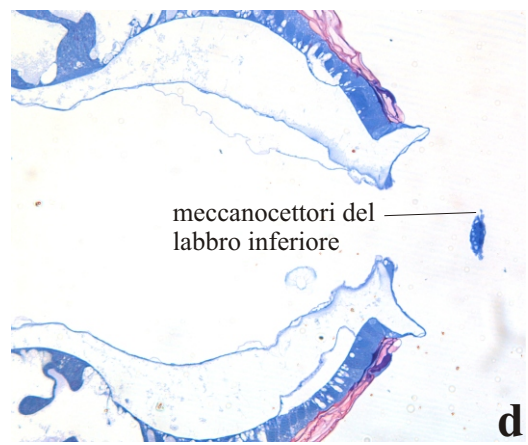
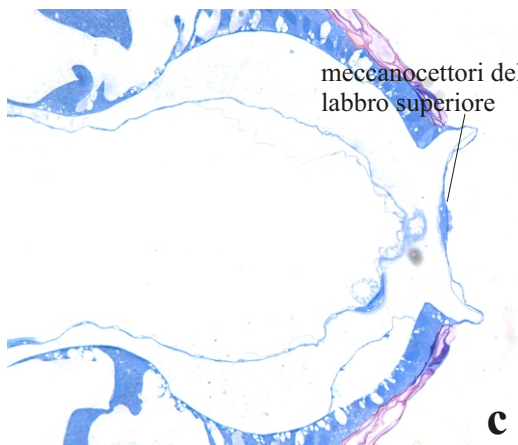
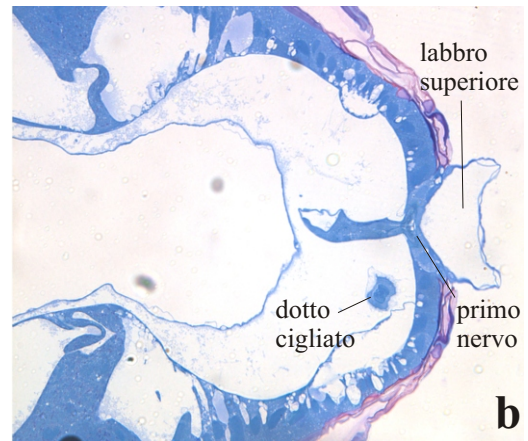
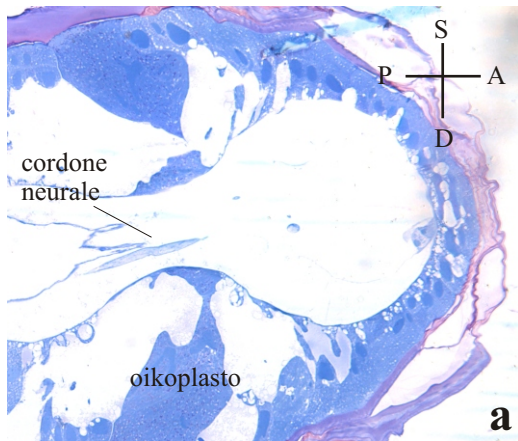
TAVOLA 7:

Sezioni frontali di *Oikopleura albicans* selezionate a partire da una serie completa ottenuta a partire dal lato dorsale verso quello ventrale. (x 150)

In **f** sono indicate con l'asterisco le ghiandole faringee.

In **h** con le punte di freccia sono indicate le bande pericoronali.





#### TAVOLA 8:

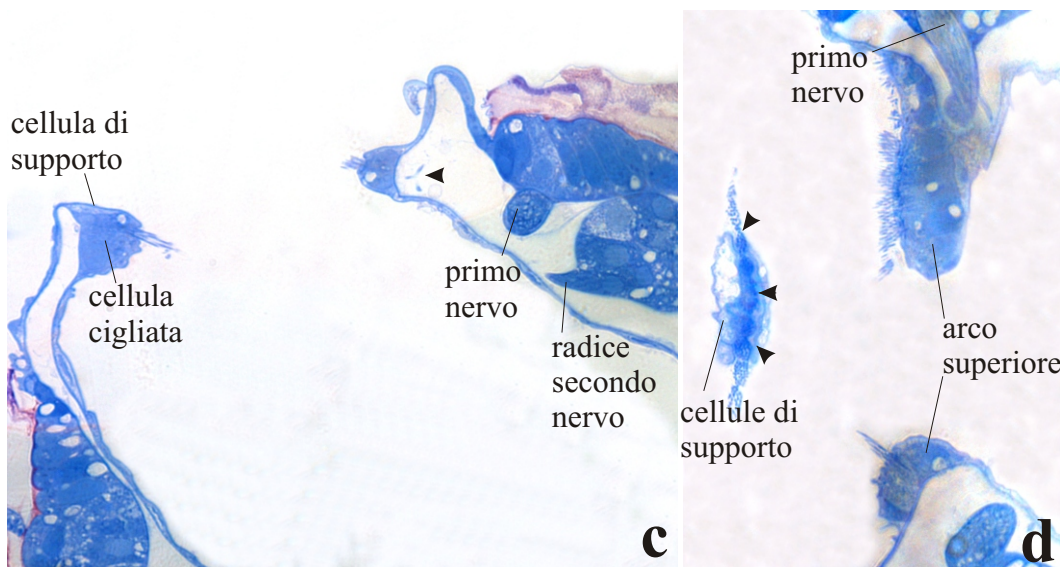
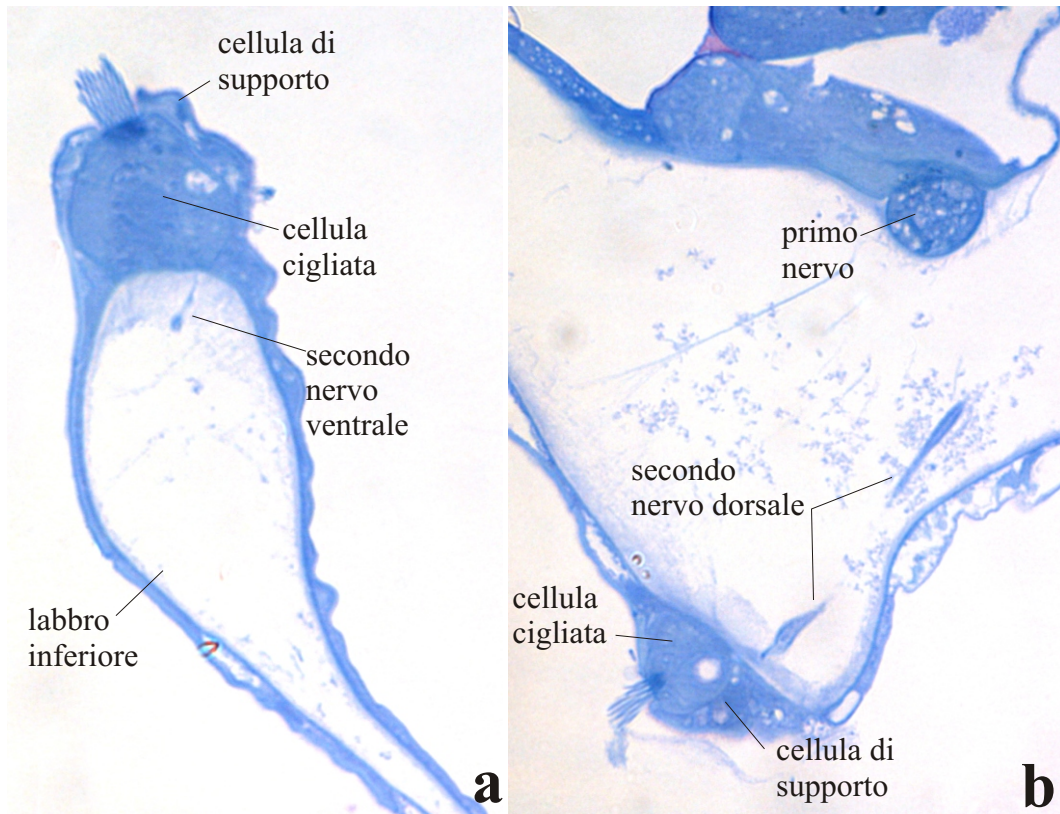
Dettagli di sezioni sagittali e frontali di *Oikopleura albicans* e *Oikopleura longicauda*.

Foto **a**: sezione sagittale del labbro inferiore di *O. albicans*. Si osserva una cellula cigliata dell'arco inferiore contattata alla base dal secondo nervo ventrale. Questa è avvolta da cellule di supporto che lasciano scoperte le ciglia. (x 740)

Foto **b**: sezione sagittale del labbro superiore di *O. albicans*. Si notano: il primo nervo tagliato trasversalmente associato all'oikoplasto; il secondo nervo dorsale che si avvicina alle cellule cigliate dell'arco superiore, le quali sono avvolte da cellule di supporto. (x 740)

Foto **c**: sezione sagittale della bocca di *O. longicauda*. Si nota l'emergenza del secondo nervo dal cervello e la diramazione del suo ramo dorsale (indicata dalla punta di freccia). Si notano anche le cellule cigliate e di supporto dell'arco superiore e inferiore. (x 740)

Foto **d**: sezione frontale della bocca di *O. longicauda*. Si notano le cellule cigliate dell'arco superiore e la doccia formata dalle cellule di supporto che avvolgono i meccanicettori dell'arco inferiore. (x 740)







## Ringraziamenti:

*I miei ringraziamenti vanno al prof. Burighel che mi ha sempre dato piena fiducia e mi ha seguito con entusiasmo, guidandomi alla conoscenza delle appendicolarie.*

*Un particolare ringraziamento va poi a Federico, da cui ho appreso "l'arte del taglio" e tutte le altre tecniche di laboratorio.*

*Grazie ai miei vicini di ultramicrotomo, Milena e Alessandro, che hanno condiviso con me questa esperienza e tutti gli altri ragazzi del laboratorio: Rachele, Max, Valentina, Fabrizio, Marta, Alessia, Fabio e la dr.ssa Manni. per il magnifico ambiente che hanno creato ...probabilmente favorito dai fumi della toluidina...*

*Grazie a tutti gli studenti di STN con cui ho trascorso tre anni fantastici ed indimenticabili!*

*Un grazie speciale va ai miei amici per avermi migliorato ed al "variopinto" gruppo di pendolari della Verona - Padova per aver reso pericolosamente esilaranti gli interminabili viaggi in treno.*

*Infine ringrazio la mia famiglia per avermi consentito di portare avanti gli studi e l'interesse per le Scienze Naturali.*