

INDAGINE STRUTTURALE SULLA VOLTA DELLA CAVITÀ
OROFARINGEA DI TROTA IRIDEA (*SALMO GAIRDNERI*):
DISTRIBUZIONE E MORFOLOGIA DEI BOTTONI GUSTATIVI

STRUCTURAL STUDY ON THE ORO-PHARYNGEAL ARCH OF THE CAVITY
OF THE RAINBOW TROUT (*SALMO GAIRDNERI*):
MORPHOLOGY AND ANATOMICAL DISTRIBUTION OF THE TASTE BUDS

MARIA RITA STORNELLI, ALESSANDRA COLI, VINCENZO MIRAGLIOTTA,
MARIA PAOLA RICCIARDI, ELISABETTA GIANNESSI

RIASSUNTO

Gli Autori hanno esaminato nella trota iridea (*Salmo gairdneri*) la distribuzione, il numero e la morfologia dei bottoni gustativi nella volta della cavità orofaringea costituita da una parte rostrale, il palato, e da una caudale, la faringe. L'osservazione al microscopio ottico, effettuata su sezioni seriate ottenute dalle due porzioni della volta della cavità orofaringea, ha permesso di precisarne l'organizzazione istologica e di effettuare indagini morfometriche sui bottoni gustativi relative al loro numero e distribuzione. Nel palato essi sono localizzati prevalentemente nella parte rostrale, mentre nella faringe sono distribuiti principalmente nella parte caudale dove è presente l'organo palatino. La tipologia dei bottoni gustativi è riconducibile, nel palato, soprattutto a quella di tipo I e II in quanto essi superano la superficie libera dell'epitelio, mentre nella faringe sono prevalentemente di tipo III, perché rimangono nello spessore dell'epitelio. L'osservazione delle sezioni semifini ha permesso di precisare che ciascun bottone gustativo, posto all'apice di una papilla, sollevamento della lamina propria della mucosa, è circondato da cellule marginali appiattite che lo separano dall'epitelio di rivestimento. Strutturalmente i bottoni gustativi sono costituiti da cellule basali, cellule sensoriali chiare e cellule sensoriali scure. Il loro numero e la loro distribuzione sono strettamente dipendenti dall'habitat e dalla modalità di alimentazione della trota.

Parole chiave: trota iridea; cavità orofaringea; bottoni gustativi; distribuzione; morfologia.

SUMMARY

The number, morphology and anatomical distribution of the taste buds in the arch of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) oro-pharyngeal cavity were analysed. This latter is constituted from a cranial (palate) and a caudal portion (pharynx). The histological observation on serial sections from the two portions allowed to clarify the oro-pharyngeal cavity structural organization. Morphometrical analyses on the taste buds number and distribution were also performed. Taste buds are localised mainly in the cranial portion of palate and in the caudal portion of the pharynx; in this latter portion the palatin organ is also located. On the palatin area, taste buds exceed the epithelial surface with their apical portion and therefore they may be

referred to those reported as type I and II. On the contrary, pharyngeal taste buds, remain mostly confined in the epithelial level and so they may be referred to those defined as type III. Taste buds are located on elevated papillae, which are expansions of the mucosal lamina propria. They result separated from the epithelium by surrounding flattened marginal cells. On semi-thin sections taste buds result structurally composed by basal cells, light and dark sensorial cells. Their number and distribution are strictly related to the trout habitat and its feeding habits.

Key words: rainbow trout; oropharyngeal cavity; taste buds; distribution; morphology.

INTRODUZIONE

I pesci sono gli unici Vertebrati nei quali l'organo del gusto, rappresentato dai bottoni gustativi, è distribuito non solo in tutta la cavità orofaringea ma anche sulla superficie esterna del corpo sparsi o localizzati in aree come labbra, barbigli e pinne. La densità dei bottoni gustativi, soprattutto di quelli posti sulla cute, varia in relazione all'habitat (Aguirre & Lombarte, 2000; Harvey & Batty, 2002; Kiyohara et al., 1980); infatti le specie che vivono in acque limpide, potendo affidarsi all'organo della vista per procurarsi il cibo, presentano un numero di bottoni gustativi cutanei nettamente inferiori rispetto alle specie che abitano acque con scarsa visibilità. Vari fattori quali la lunghezza, il peso, l'età del pesce e lo spessore dell'epidermide influenzano anche la morfologia dei bottoni gustativi (Aguirre & Lombarte, 2000). Fishelson et al. (2004), Kiyohara et al. (1980), Kumari et al. (2005), hanno individuato tre tipi di bottoni gustativi definendo di tipo I e II quelli rilevati o leggermente rilevati il cui apice supera la superficie libera dell'epitelio di rivestimento nel quale sono localizzati; di tipo III quelli il cui apice si apre a livello della superficie libera dell'epitelio. La letteratura risulta carente di dati relativi alla distribuzione e quantizzazione dei bottoni gustativi nella cavità orofaringea di trota; solo Ezeasor (1982) ha condotto in tale specie uno studio relativo alla loro localizzazione ed ultrastruttura senza peraltro valutarne il numero, nelle varie porzioni della cavità buccale. La presente ricerca, pertanto, è volta a colmare la carenza bibliografica relativa alla quantizzazione dei bottoni gustativi, a valutarne la tipologia ed a precisarne la struttura a livello della cavità orofaringea della trota.

MATERIALI E METODI

Per il seguente lavoro sono state utilizzate 10 trote femmine di 12 mesi di età, provenienti dallo stesso allevamento, del peso medio di 450 gr. e della lunghezza media, compresa la pinna caudale, di 33 cm. Dai soggetti, sacrificati mediante overdose in bagno di MS-222 (tricain-metan-sulfonato), è stata rimossa la testa per prelevare la volta dell'orofaringe. Quest'ultima è stata divisa in due parti secondo la lunghezza, fissata in formalina tamponata ed inclusa in paraffina per ottenere da una metà sezioni seriate longitudinali e dall'altra trasversali. Alcuni campioni sono stati

fissati in glutaraldeide 2,5% e postfissati in tetrossido d'osmio per l'inclusione in resina epossidica al fine di ottenere sezioni semifini. Le sezioni seriate di 6 μ sono state colorate con E/E, PAS/E e blu di toluidina, quelle semifini con una miscela di blu di toluidina e blu di metilene 1%. Il numero dei bottoni gustativi è stato determinato mediante conteggio su sezioni seriate distanti tra loro 60 μ per avere la certezza di non contare lo stesso bottone più volte dato che dalle misurazioni effettuate la loro larghezza massima era risultata di 60,07 μ . Le dimensioni dei bottoni gustativi sono state calcolate mediante un analizzatore di immagini Leica Q Win.

RISULTATI

La volta della cavità orofaringea della trota può essere divisa in due settori:

1) *Rostrale* (palato) che si estende dalla valvola mascellare, piega della mucosa posta subito dietro il labbro superiore, fino al primo arco branchiale.

2) *Aborale* (faringe) continuazione del precedente, delimitato lateralmente dai quattro archi branchiali e caudalmente dall'esofago.

Il palato è lungo 2,5 cm \pm 0,4 e largo, nel suo punto massimo, 2 cm \pm 0,3 e presenta sulla linea mediana, una serie di denticoli che si prolungano fino a circa metà della sua lunghezza. La mucosa è sollevata in numerose pliche longitudinali più evidenti nella parte caudale. La faringe ha la stessa lunghezza del palato mentre la sua larghezza risulta inferiore (1 cm \pm 0,2) in quanto in parte occupata dagli archi branchiali; anch'essa presenta pliche longitudinali della mucosa (Fig. 1, p. 46). Dal punto di vista istologico la mucosa di entrambi i settori presenta un epitelio stratificato, definito "squamoso", che poggia su una spessa lamina propria. Lo strato basale è costituito da cellule alte, al di sopra delle quali sono presenti cellule più rotondeggianti organizzate in strati (da 6 a 15), più numerosi a livello della faringe rispetto al palato. Negli strati più superficiali, sono localizzate numerose cellule mucose, PAS+ e metacromatiche, in differenti stadi funzionali. La lamina propria poggia su una sottomucosa formata da uno strato superficiale più denso e da uno strato sottostante, più lasso, ricco di tessuto adiposo, che talora si infiltra tra i fasci longitudinali e trasversali di muscolatura striata propria dell'orofaringe (Fig. 2, 4, pp. 46-47; 5, p. 50). I bottoni gustativi sono sempre localizzati all'apice di papille della lamina propria della mucosa e sono circondati da cellule epiteliali appiattite, dette cellule marginali, che costituiscono un'interfaccia tra l'epitelio di rivestimento e le cellule proprie del bottone. Dall'osservazione delle sezioni semifini, i bottoni gustativi risultano costituiti da due tipi cellulari:

cellule basali: localizzate alla base del bottone, con asse maggiore del nucleo parallelo alla superficie dell'epitelio.

cellule sensoriali: alte che si spingono dalle cellule basali fino alla superficie epiteliale. Tali cellule, per la loro diversa affinità tintoriale, vengono distinte in cellule chiare, con nucleo ovoidale euromatico, e scure con nucleo più allungato e cromatina addensata (Fig. 7, p. 51).

I bottoni gustativi non sono uniformemente distribuiti nei due settori della cavità

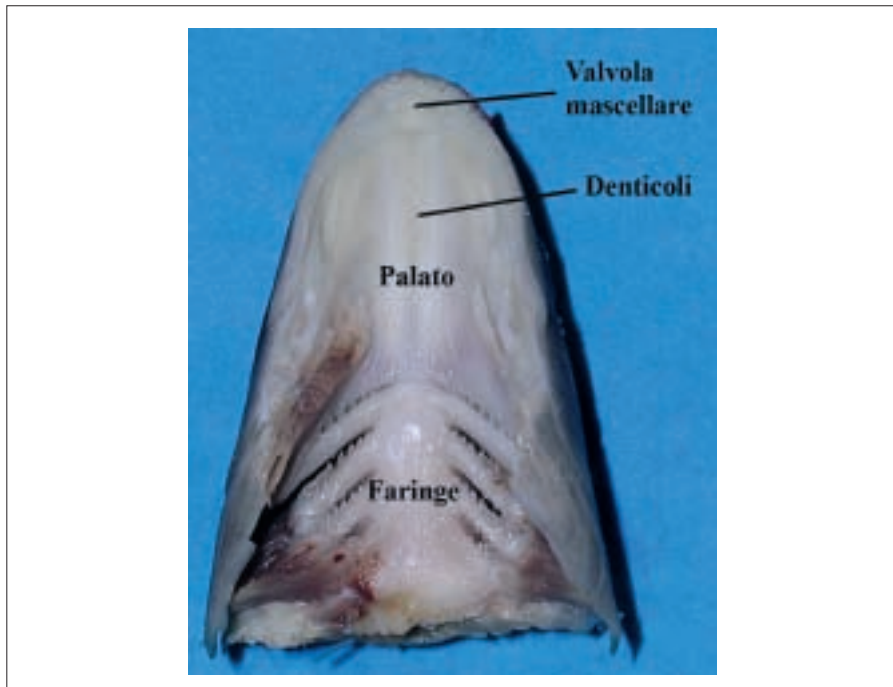


Fig. 1. Visione macroscopica della volta della cavità orofaringea di trota. *Macroscopic view of the arch of rainbow trout oropharyngeal cavity.*

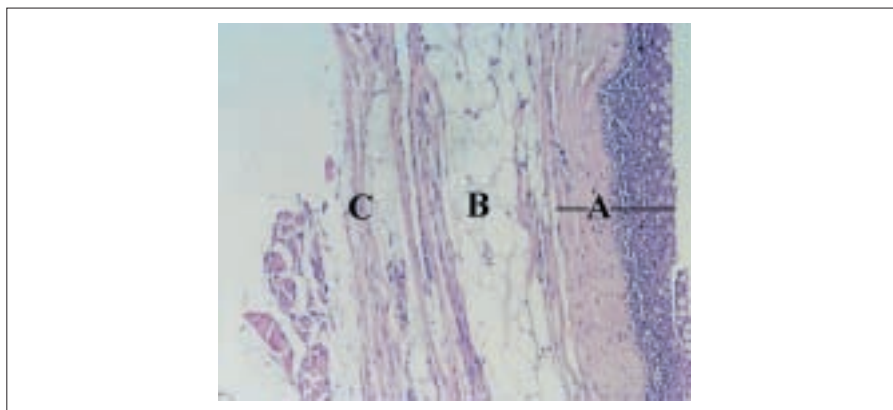


Fig. 2. Sezione istologica longitudinale a livello del palato: A) Tunica mucosa; B) Tunica sottomucosa; C) Muscolatura striata. E/E Ingr. 4x. *Longitudinal histological section of the palate: A) Tunica mucosa; B) Tunica submucosa; C) Tunica muscularis. H/E Magnification x4.*

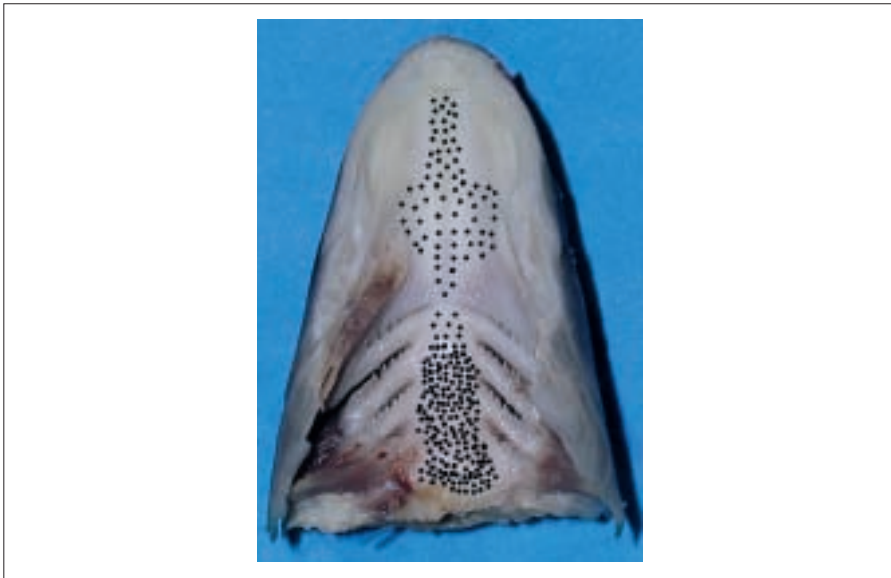


Fig. 3. Trasposizione grafica della distribuzione dei bottoni gustativi a livello del palato e della faringe. *Graphic report of palate and pharyngeal distribution of taste buds.*

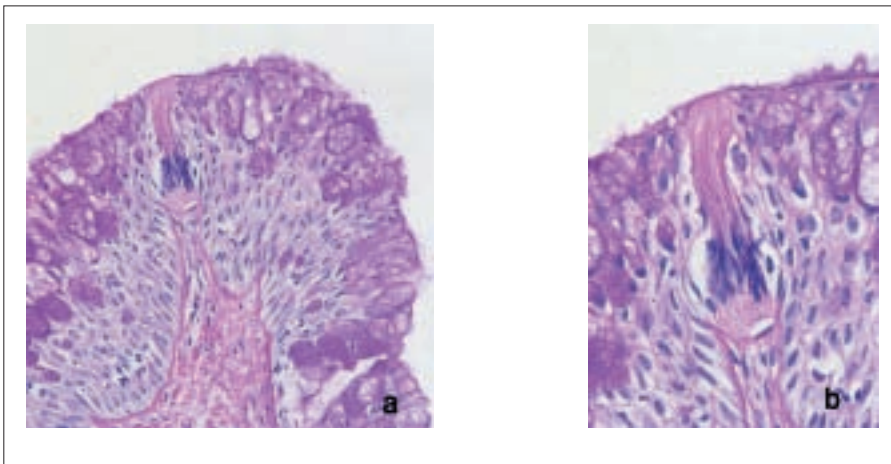


Fig. 4. a) Sezione trasversale a livello della faringe con cellule mucose PAS+ dell'epitelio in diversi stadi funzionali. Bottone gustativo di tipo III all'apice di una papilla connettivale. PAS/E Ingr. 20x. b) Particolare del bottone gustativo. Ingr. 40x. *a) Pharyngeal transversal section with epithelial goblet PAS+ cells in different functional phases. Type III taste bud on the top of a connective papilla. PAS/H Magnification x20. b) Taste bud magnification. Magnification x40.*

orofaringea da noi esaminati. Infatti dalle osservazioni istologiche del palato è stato possibile rilevare la presenza di circa 160 bottoni gustativi localizzati per lo più in posizione mediana nel terzo craniale e che nel terzo medio si spingono anche lateralmente. Nel terzo caudale si riducono numericamente restando localizzati solo lungo la linea mediana. Nella faringe i bottoni gustativi sono circa 600 quasi esclusivamente distribuiti nella porzione medio-caudale (Fig. 3, p. 47).

Anche la morfologia dei bottoni gustativi è diversa nei due settori esaminati. Infatti nel palato essi hanno forma per lo più rotondeggiante ($64 \pm 6,2 \mu \times 58 \pm 0,8 \mu$) e con la loro parte apicale superano la superficie libera dell'epitelio; possono pertanto essere riferibili a quelli definiti di tipo I e II (Fig. 5, p. 50).

Nella faringe risultano più stretti ($66 \pm 15 \mu \times 42 \pm 3,2 \mu$) e particolarmente assottigliati nella parte apicale che rimane a livello della superficie libera dell'epitelio e quindi sono riportabili al tipo III (Fig. 4, p. 47).

DISCUSSIONE

I risultati da noi ottenuti hanno consentito, da un lato di precisare, nella trota, la morfologia della volta della cavità orofaringea e la sua organizzazione istologica, dall'altro di quantificare la presenza, il tipo di distribuzione e la tipologia dei bottoni gustativi, dati fino ad oggi non riportati in letteratura relativamente a tale specie. Gli unici rilievi relativi al numero e distribuzione dei bottoni gustativi riguardano infatti unicamente il *Salvelinus* (Fishelson et al., 2004), specie ad habitat ed abitudini alimentari simili alla trota. L'autore peraltro riporta il numero complessivo dei bottoni gustativi a livello di tutta la cavità buccale e pertanto non è possibile effettuare un'analisi comparata tra i nostri dati e quelli riportati dal suddetto autore. La struttura della volta della cavità orofaringea di trota da noi descritta si discosta da quella riportata da Diaz et al. (2003) in *Engraulis anchoita* relativamente allo spessore della lamina propria e della sottomucosa. Infatti tale autore definisce lo spessore della lamina propria "sottile" e la sottomucosa "non ben distinta" mentre nella trota la lamina propria è spessa e la sottomucosa ben evidente ed infarcita di tessuto adiposo. Tale discordanza potrebbe essere correlata all'habitat marino della specie analizzata da Diaz. Per quanto riguarda la morfologia e struttura dei bottoni gustativi non abbiamo rilevato differenze con quanto riportato da altri Autori, sia pur relativamente a specie ittiche diverse (Crisp et al., 1975; Ezeasor, 1982; Fishelson et al., 2004; Hansen et al., 2002; Kiyohara et al., 1980; Linser et al., 1998; Ovalle & Shinn, 1977; Walker et al., 1981). La loro diversa rappresentatività nelle sedi analizzate può essere giustificata dalle abitudini alimentari della trota. È pensabile infatti che un predatore come tale specie catturi la preda afferrandola con i denti posti sulla mascella superiore ed inferiore per un primo apprezzamento del sapore da parte dei bottoni gustativi della parte rostrale del palato che, sporgendo sull'epitelio, potrebbero anche assolvere la funzione di meccanocettori. Se l'alimento è ben accetto, esso viene ingoiato e schiacciato tra le mascelle a livello faringeo dove l'abbondanza numerica dei bottoni gustativi, l'ispessimento della mucosa e della

muscolatura striata rivela la presenza dell'organo palatino. A questo livello avverrebbe quindi il pieno apprezzamento del gusto in quanto i bottoni gustativi del tipo III, ivi particolarmente rappresentati, avrebbero esclusivamente la funzione di chemiocettori.

È nostra intenzione estendere tale tipo di indagine al resto della cavità orofaringea per ottenere dati più completi su tale specie al fine di poter condurre un'analisi comparata con i risultati ottenuti in specie ad habitat ed attitudini alimentari simili.

BIBLIOGRAFIA

- AGUIRRE H., LOMBARTE A. (2000). Distribution Pattern of Taste Buds along Hyoidal Barbels of *Mullus barbatus* and *M. surmuletus*. *Brain Behav. Evol.*, 56 (6): 323-329.
- CRISP M., LOWE G.A., LAVERACK M.S. (1975). On the ultrastructure and permeability of taste buds of the marine teleost *Ciliata mustela*. *Tissue & Cell.*, 7 (1): 191-202.
- DIAZ A.O., GARCIA A.M., DEVINCENTI C.V., GOLDENBERG A.L. (2003). Morphological and Histochemical Characterization of the Mucosa of the Digestive Tract in *Engraulis anchoita* (Hubbs and Marini 1935). *Anat. Histol. Embryol.*, 32 (6): 341-348.
- EZEASOR D.N. (1982). Distribution and ultrastructure of taste buds in the oropharyngeal cavity of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 20: 53-68.
- FISHELSON L., DELAREA Y., ZVERDLING A. (2004). Taste Bud Form and Distribution on Lips and in the Oropharyngeal Cavity of Cardinal Fish Species (Apogonidae, Teleostei) with Remarks on their Dentition. *J. Morphol.*, 259: 316-327.
- HANSEN A., REUTTER K., ZEISKE E. (2002). Taste bud development in the zebrafish, *Danio rerio*. *Dev. Dyn.*, 223 (4): 483-496.
- HARVEY R., BATTY R.S. (2002). Cutaneous taste buds in gadoid fishes. *J. Fish Biol.*, 60: 583-592.
- KIYOHARA S., YAMASHITA S., KITOH J. (1980). Distribution of taste buds on the lips and inside the mouth in a minnow, *Pseudorasbora parva*. *Physiol. Behav.*, 24 (6): 1143-1147.
- KUMARI U., YASHPAL M., MITTAL S., MITTAL A.K. (2005). Morphology of the pharyngeal cavity, especially the surface ultrastructure of gill arches and gill rakers in relation to the feeding ecology of the catfish *Rita rita* (Siluriformes, Bagridae). *J. Morphol.*, 265 (2): 197-208.
- LINSER P.J., CARR W.E., CATE H., DERBY C.D., NETHERTON J.C. 3rd. (1998). Functional significance of the co-localization of taste buds and teeth in the pharyngeal jaws of the largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Biol. Bull.*, 195 (3): 273-281.
- OVALLE W.K., SHINN S.L. (1977). Surface morphology of taste buds in catfish barbels. *Cell. Tissue Res.*, 178 (3): 375-384.
- WALKER E.R., FIDLER S.F., HINTON D.E. (1981). Morphology of the buccopharyngeal portion of the gill in the fathead minnow *Pimephales promelas* (Rafinesque). *Anat. Rec.*, 2(1): 67-81.

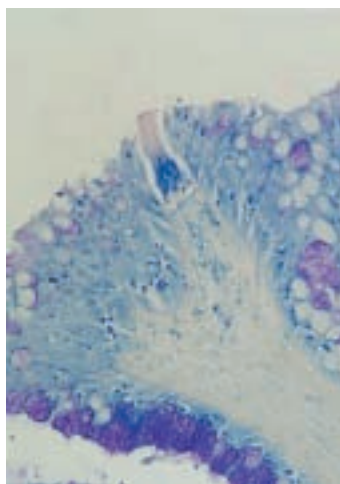


Fig. 5. Sezione trasversale a livello del palato con cellule mucose metacromatiche dell'epitelio. Bottone gustativo del tipo II. Blu di toluidina. Ingr. 10x. *Palate transversal section with epithelial metachromatic globet cells. Type II taste bud. Toluidin blue. Magnification x10.*

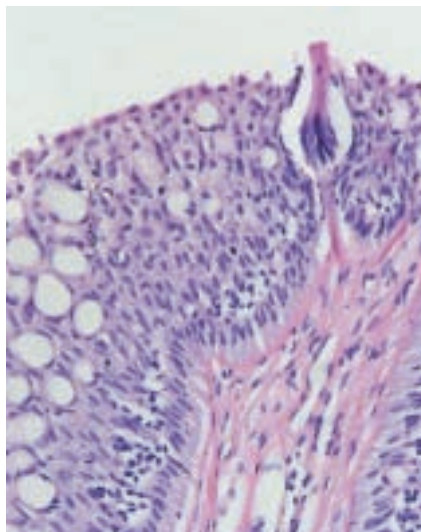


Fig. 6. Sezione longitudinale a livello del palato con bottone gustativo di tipo I. E/E Ingr. 20x. *Type I taste bud in palate longitudinal section. H/E. Magnification x20.*

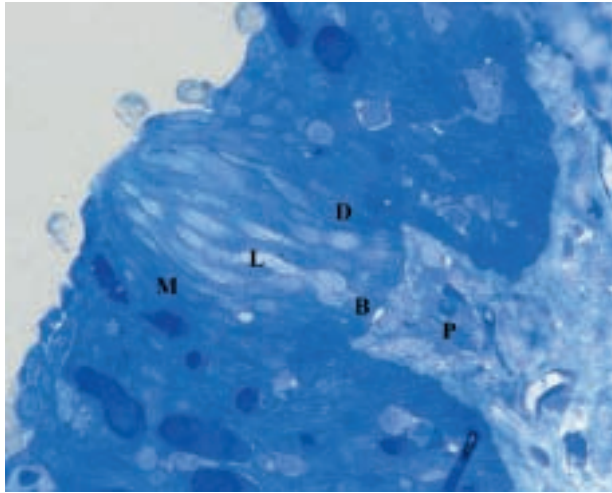


Fig. 7. Particolare di bottone gustativo di tipo II a livello del palato. B) Cellule basali; L) Cellule sensoriali chiare; D) Cellule sensoriali scure; M) Cellule marginali; P) Papilla connettivale. Blu di toluidina/blu di metilene. Sezione semifine.
Type II palate taste bud magnification. B) Basal cells; L) Light sensorial cells; D) Dark sensorial cells; M) Marginal cells; P) Connective papilla. Toluidin blue/Methylene blue. Semithin section.

