

# ESTRUCTURA DE LOS FILTROS BRANQUIALES DE ASCIDIAS (TUNICADOS)

X. TURON

Turon, X., 1990. Estructura de los filtros branquiales de ascidias (Tunicados). *Misc. Zool.*, 14: 125-133.

*Structure of the branchial filters of ascidians (Tunicates).*—The morphology of the food trapping mucous films of nine ascidian species has been analyzed by means of SEM and TEM studies, and some characteristics of these filters have been evaluated by image analysis. The results show that the filters consist of a delicate mesh of rectangular pores whose sizes range (in the preserved material) between  $0.12 \times 0.08$  and  $1.16 \times 0.36 \mu\text{m}$ , which represent most probably an underestimation of their actual *in vivo* sizes. A tendency towards more rectangular nets accompanies branchial complication, but the minimal dimensions of the nets are kept at similar values (retaining filtration efficiency with less mucus production).

Key words: Ascidians, Filter feeding, Mucous nets.

(*Rebut: 23 X 90; Acceptació condicional: 13 III 91; Acc. definitiva: 11 IV 91*)

X. Turon, Dept. de Biologia Animal (Invertebrats), Fac. de Biologia, Avda. Diagonal 645, 08028 Barcelona, Espanya (Spain).

## INTRODUCCIÓN

Las ascidias poseen un mecanismo de filtración para retener las partículas que transporta el agua a través de su aparato branquial. La parte fundamental de este filtro la constituye una película mucosa secretada por el endostilo a la que se adhieren las materias en suspensión. Esta película mucosa se desplaza por la acción de cilios hacia la parte dorsal de la branquia donde es enrollada formando un cordón alimentario que entra en el esófago (JØRGENSEN, 1966; FÉNAUX, 1968).

Los estudios de microscopía electrónica han revelado que esta capa mucosa está formada por una delicada malla de filamentos altamente porosa a través de la cual puede circular el agua mientras la mayoría de partículas son retenidas. La naturaleza de estos filamentos es una mezcla de mucoproteínas y polisacáridos (FLOOD & FIALA-MÉDIONI, 1981). FLOOD (1982) cuantifica la producción y velocidad de desplazamiento del mucus, mientras que HOLLEY (1986) propone un mecanismo para la producción de esta malla en las zonas

glandulares del endostilo. Sin embargo, hay pocos datos sobre la estructura de estas redes y únicamente se conoce en un número muy restringido de especies (MONNIOT, 1979a, 1979b; FLOOD & FIALA-MÉDIONI, 1979, 1981; FLOOD, 1981).

En este estudio se analiza, con el uso de microscopía electrónica, la estructura de las mallas mucosas de nueve especies de ascidias. Entre las especies examinadas hay cinco pertenecientes a los aplousobranquios, grupo del que no hay prácticamente información sobre los filtros mucosos (únicamente una imagen de *Synoicum argus* en MONNIOT, 1979a), probablemente por las reducidas dimensiones de los zooides que dificultan el estudio.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Las especies estudiadas han sido las siguientes (los números entre paréntesis indican el número de individuos o de colonias en los que se han efectuado las observaciones):

- O. Enterogona Perrier, 1898  
SubO. Aplousobranchiata Lahille, 1890  
Fam. Polytoridae Michaelsen, 1904  
*Cystodytes dellechiaiei* (Della Valle, 1877) (5)  
Fam. Polyclinidae Verrill, 1871  
*Aplidium conicum* (Olivi, 1792) (3)  
*Sidnyum turbinatum* Savigny, 1816 (3)  
Fam. Didemnidae Verrill, 1871  
*Diplosoma spongiforme* (Giard, 1872) (5)  
*Polysyncraton lacazei* (Giard, 1872) (4)  
SubO. Phlebobranchiata Lahille, 1890  
Fam. Perophoridae Giard, 1872  
*Ecteinascidia herdmanni* (Lahille, 1870) (6)  
Fam. Ascidiidae Herdman, 1880  
*Ascidella scabra* (Müller, 1776) (2)  
O. Pleurogona Perrier, 1898  
SubO. Stolidobranchiata Lahille, 1890  
Fam. Pyuridae Hartmeyer, 1908  
*Halocynthia papillosa* (Linnaeus, 1767) (5)  
*Microcosmus polymorphus* Heller, 1877 (4)

Los ejemplares de estas especies han sido recogidos en inmersión con escafandra autónoma en el litoral catalano-balear entre 1986 y 1989. Dado que los tunicados suelen interrumpir la formación del filtro mucoso si son molestados (JÖRGENSEN, 1966), los ejemplares han sido fijados *in situ* bajo el agua introduciéndolos en recipientes plásticos con formol al 7% en agua de mar. Posteriormente se ha sustituido el fijador por formol al 4% en agua de mar.

En los ejemplares estudiados con microscopía electrónica de barrido, después de la recolección y fijación se ha procedido a la separación de los zooides en las formas coloniales,

o del manto completo en formas solitarias, deshidratación en una serie ascendente de alcoholes y secado por la técnica del punto crítico. Una vez secos se ha abierto el saco branquial mediante disección (dado que si se abre antes el filtro mucoso se pierde durante el procesado) y se ha recubierto con oro por la técnica de "sputtering" para examinar el interior de la branquia. El grosor del recubrimiento de oro aplicado ha sido de aproximadamente 40 nm.

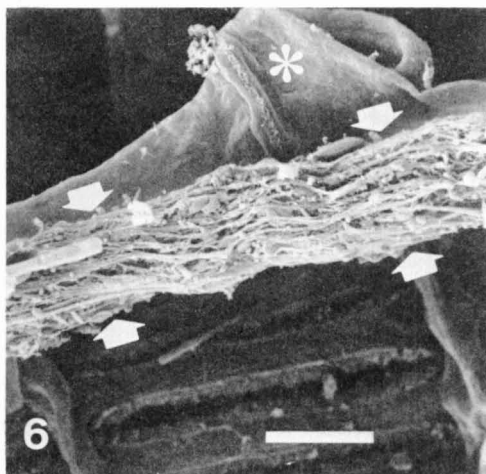
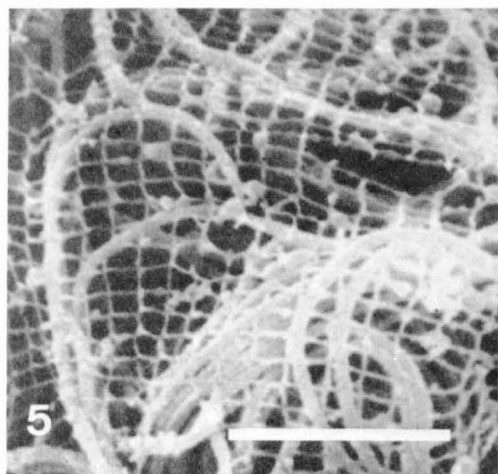
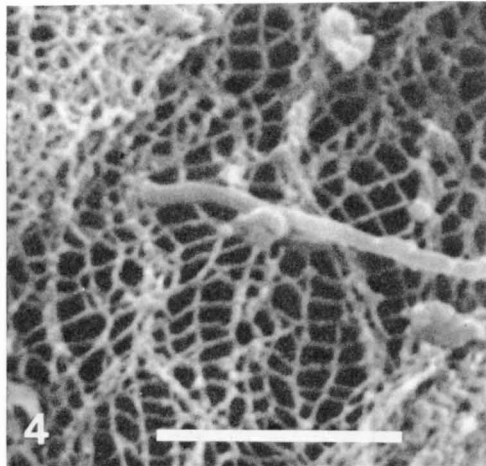
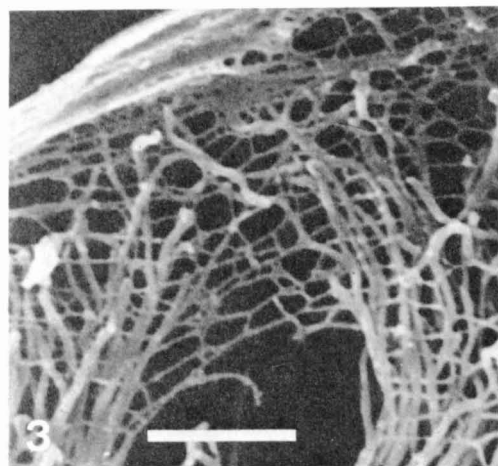
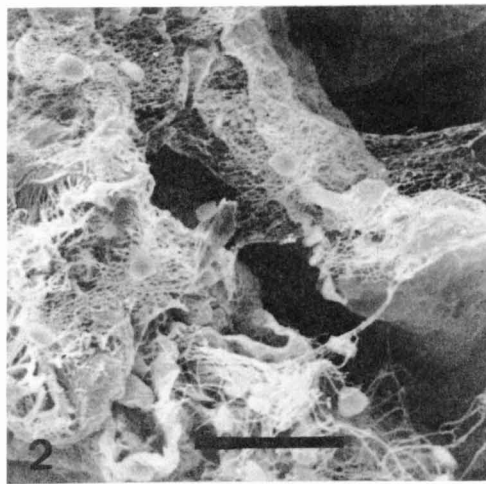
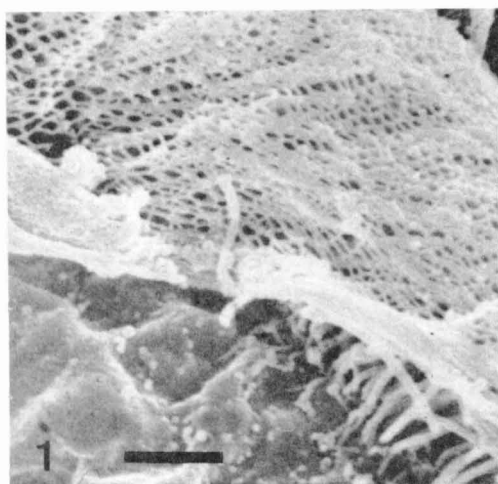
También se ha estudiado el filtro mucoso con el microscopio electrónico de transmisión en algunas especies. La preparación de las mismas se ha hecho según la técnica descrita en FLOOD (1981) y FLOOD & FIALA-MÉDIONI (1981): tras la fijación del ejemplar por el método descrito se ha procedido a abrir el saco branquial y se han colocado fragmentos de la película mucosa directamente en rejillas de microscopía recubiertas con una película de formvar y una capa de carbón. Estas rejillas se han lavado posteriormente en agua destilada y secado al aire, tras lo cual se han contrastado con acetato de uranilo y citrato de plomo por la técnica habitual para secciones ultrafinas (REYNOLDS, 1963). Esta técnica sólo se ha podido aplicar en las especies de estolidobranchios, cuya talla permite estas manipulaciones.

Las imágenes obtenidas por ambos métodos han sido digitalizadas y analizadas mediante un sistema IBAS de tratamiento de imágenes.

El sistema de tratamiento de imágenes utilizado, así como los microscopios electró-

Figs. 1-6. 1. *Cystodytes dellechiaiei*, filtro mucoso saliendo del endostilo, los cilios que lo mueven se pueden apreciar en el ángulo inferior derecho (escala: 2  $\mu$ m); 2. *Polysyncraton lacazei*, aspecto de la branquia en que pueden apreciarse fragmentos de la malla filtrante dispuestos sobre los estigmas (escala: 20  $\mu$ m); 3. *Diplosoma spongiforme*, detalle del filtro mucoso en el extremo de los cilios centrales del endostilo (escala: 2  $\mu$ m); 4. *Aplidium conicum*, malla mucosa extendida sobre los cilios de un estigma (escala: 2  $\mu$ m); 5. *Sidnyum turbinatum*, detalle de la malla mucosa (escala: 2  $\mu$ m); 6. *Ecteinascidia herdmanni*, vista del cordón mucoso alimenticio (flechas) bajo una lengüeta del rafe dorsal (\*) (escala: 100  $\mu$ m).

1. *Cystodytes dellechiaiei*, mucous filter protruding from the endostyle, cilia responsible for its movement are visible in the lower right corner (scale: 2  $\mu$ m); 2. *Polysyncraton lacazei*, view of the branchial sac with fragments of the filtering mesh over the stigmata (scale: 20  $\mu$ m); 3. *Diplosoma spongiforme*, detail of the mucous mesh over the central cilia of the endostyle (scale: 2  $\mu$ m); 4. *Aplidium conicum*, mucous layer stretched over the cilia of a stigma (scale: 2  $\mu$ m); 5. *Sidnyum turbinatum*, detail of the mucous mesh (scale: 2  $\mu$ m); 6. *Ecteinascidia herdmanni*, view of the food roll (arrows) under a dorsal languet (\*) (scale: 100  $\mu$ m).



nicos de rastreo Cambridge S-120 y de transmisión Hitachi H-600-AB empleados en este estudio pertenecen al Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Barcelona.

## RESULTADOS

Los resultados de las observaciones ultraestructurales aparecen en las figuras 1 a 12, expuestas en el orden aplousobranquios-flebo-branquios-estolidobranquios. Como ya ha sido puesto de manifiesto por otros autores (MONNIOT, 1979a), la observación del filtro mucoso en ascidias es extremadamente difícil dada la fragilidad del mismo y lo mal que soporta las técnicas de preparación para microscopía electrónica. Ello hace que en bastantes ocasiones los ejemplares aparezcan desprovistos de mucus o bien que éste se encuentre compactado en una masa cuya estructura es irreconocible. Frecuentemente lo único que queda del filtro es el cordón alimentario en la zona dorsal (fig. 6). En otros ejemplares se pueden observar en algunas zonas de la branquia fragmentos intactos de la película mucosa, que permiten el estudio y la realización de medidas.

Los estudios con microscopía de transmisión han sido hechos en las especies *Microcosmus polymorphus* y *Halocynthia papillosa*, aunque sólo se han obtenido resultados satisfactorios (figs. 10, 11) en esta última especie. En la primera, las redes mucosas han aparecido siempre con un grado variable de desorganización que impide un estudio ade-

cuado. Las imágenes de microscopía de barrido, por otra parte, muestran en ocasiones variaciones notables en el grado de compactación de la película mucosa, indicando fenómenos de retracción durante la preparación.

La estructura del mucus corresponde a una fina malla de aspecto reticulado formada por filamentos que se cruzan en ángulo recto delimitando poros de aspecto rectangular. Esta malla está constituida por filamentos de un diámetro entre 40 y 90 nm medidos en observaciones con microscopía de transmisión y entre 75 y 164 nm en imágenes de rastreo (afectadas por el grosor del recubrimiento con oro). En las imágenes de transmisión de *H. papillosa* puede apreciarse (figs. 10, 11) que los filamentos que forman los lados más largos de los poros son algo más finos que los que forman los lados más cortos. En las imágenes con microscopía de barrido esta diferencia no es apreciable.

Se han efectuado diversas medidas para caracterizar estas mallas mucosas. Dada la variabilidad en la compactación de las mismas y para permitir comparaciones, las medidas se han realizado siempre (en el caso de imágenes de barrido) sobre zonas de la película mucosa que visualmente aparecían bien distendidas (extendidas entre puntos fijos en la branquia) y siempre justo a la salida del endostilo. Los resultados se presentan en la tabla 1. Debido a que las mallas reticulares delimitan unos poros de aspecto más o menos rectangular según las especies y que hay una constancia en este carácter entre diferentes ejemplares de una misma especie, se ha usado como índice para medir el grado en que las

Figs. 7-12. 7. *Ecteinascidia herdmanni*, detalle de la malla mucosa (escala: 2  $\mu$ m); 8. *Ascidella scabra*, detalle de la malla mucosa (escala: 2  $\mu$ m); 9. *Halocynthia papillosa*, imagen de microscopía de transmisión de la malla mucosa (escala: 2  $\mu$ m); 10. *Halocynthia papillosa*, detalle de la malla mucosa vista en microscopía de transmisión (escala: 0,5  $\mu$ m); 11. *Halocynthia papillosa*, imagen de microscopía de barrido de la malla mucosa, obsérvese la retracción que presenta la red mucosa en esta imagen comparada con las figuras anteriores, así como los microorganismos adheridos a ella (escala: 10  $\mu$ m); 12. *Microcosmus polymorphus*, detalle de la malla mucosa (escala: 1  $\mu$ m).

7. *Ecteinascidia herdmanni*, detail of the mucous mesh (scale: 2  $\mu$ m); 8. *Ascidella scabra*, detail of the mucous mesh (scale: 2  $\mu$ m); 9. *Halocynthia papillosa*, TEM image of the mucous mesh (scale: 2  $\mu$ m); 10. *Halocynthia papillosa*, TEM detail of the mucous net (scale: 0,5  $\mu$ m); 11. *Halocynthia papillosa*, SEM image of the mucous mesh, note the shrinkage of this net compared with the previous figures and the microorganisms trapped in the mucous film (scale: 10  $\mu$ m); 12. *Microcosmus polymorphus*, detail of the mucous mesh (scale: 1  $\mu$ m).

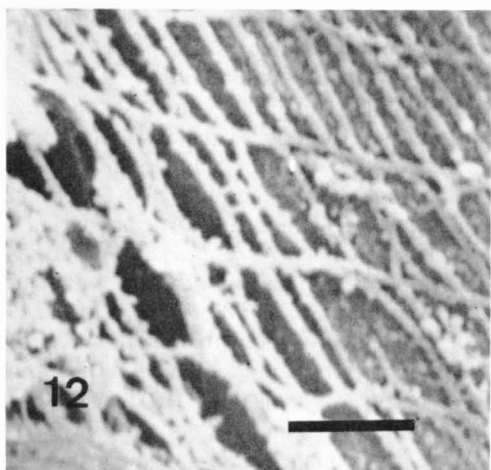
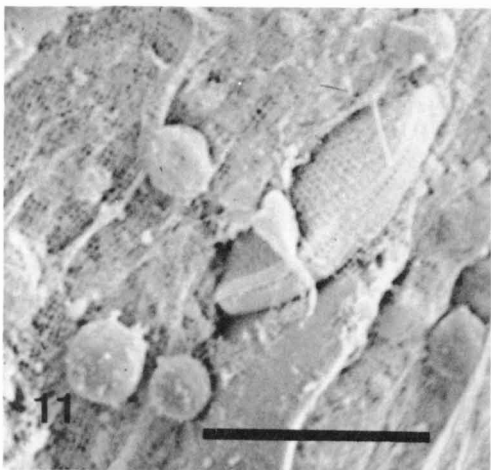
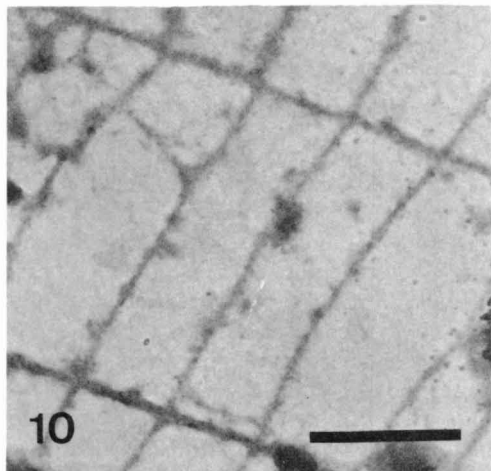
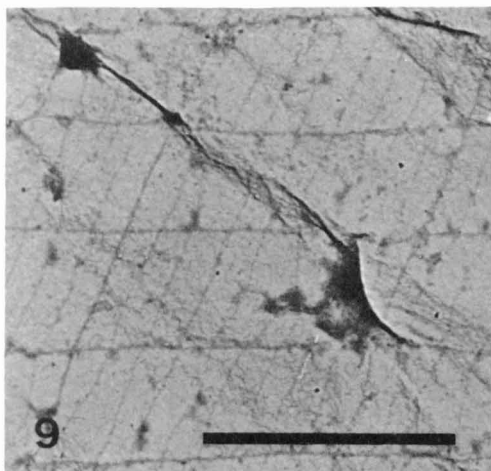
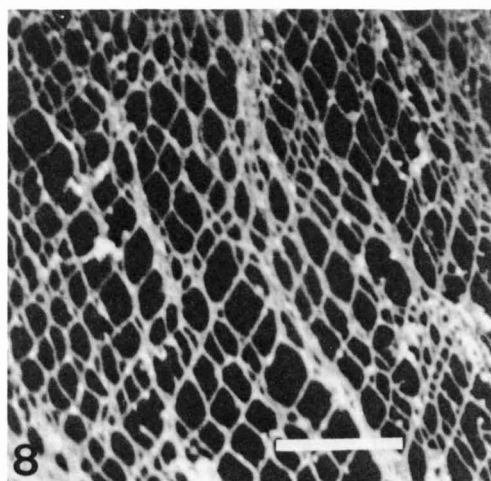
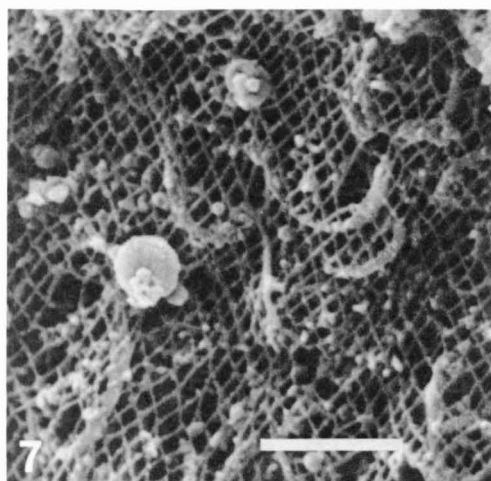


Tabla 1. Características del filtro mucoso de algunas de las especies estudiadas a partir de imágenes de microscopía de barrido, excepto en el caso de *Halocynthia papillosa* (microscopía de transmisión).

*Characteristics of the mucous nets of some of the species studied. All measurements correspond to SEM images, except for Halocynthia papillosa (studied under TEM).*

	Dimensión máxima ( $\mu\text{m}$ ) $\bar{x}$ (d.t.)	Dimensión mínima ( $\mu\text{m}$ ) $\bar{x}$ (d.t.)	Dmín/Dmáx	% porosidad
<b>Aplousobranchiata</b>				
<i>Cystodytes dellechiaiei</i>	0,1978 (0,0519)	0,1437 (0,0407)	0,73	62,27
<i>Diplosoma spongiforme</i>	0,4984 (0,1390)	0,2851 (0,0937)	0,57	61,75
<i>Polysyncrator lacazei</i>	0,5482 (0,2399)	0,3529 (0,1581)	0,64	60,62
<i>Aplidium conicum</i>	0,2005 (0,0331)	0,1598 (0,0219)	0,80	59,30
<i>Sidnyum turbinatum</i>	0,1192 (0,0403)	0,0793 (0,0231)	0,67	66,81
<b>Phlebobranchiata</b>				
<i>Ecteinascidia herdmanni</i>	0,1988 (0,0197)	0,1340 (0,0214)	0,67	59,25
<i>Ascidrella scabra</i>	0,6013 (0,1622)	0,4110 (0,0967)	0,68	72,06
<b>Stolidobranchiata</b>				
<i>Halocynthia papillosa</i>	1,1580 (0,0211)	0,3611 (0,0363)	0,31	82,86
<i>Microcosmus polymorphus</i>	1,2096 (0,0644)	0,2059 (0,0539)	0,17	65,23

mallas se apartan de un cuadrado perfecto el cociente entre el lado más corto y el más largo (Dmín/Dmáx en tabla 1). En un cuadrado perfecto éste valor será igual a 1; en un rectángulo el valor será progresivamente inferior conforme más alargado sea.

Las dimensiones medias de las mallas en las especies estudiadas son variables, oscilando entre los valores de 0,12 a 1,2  $\mu\text{m}$  en el lado más largo, y de 0,08 a 0,41  $\mu\text{m}$  en el lado más corto. Los valores de las áreas así delimitadas más pequeños se han registrado en *Sidnyum turbinatum* y los mayores en *Halocynthia papillosa* y *Microcosmus polymorphus*. La relación entre la dimensión mínima y máxima permite apreciar que las mallas son rectangulares en todos los casos, aunque en aplousobranquios y flebobranquios no se apartan mucho de los valores que corresponderían a un cuadrado, mientras que en las dos especies de estolidobranquios los poros son claramente rectangulares. La porosidad, esto es, el porcentaje de espacio ocupado por los poros tiene unos valores alrededor del 60-70% en las especies estudiadas, aunque debe tenerse en cuenta que se han evaluado mayoritariamente sobre imágenes de barrido, en que la

contracción y la capa de oro disminuyen la porosidad. En las imágenes de transmisión esta porosidad aumenta hasta el 80-85%, valores que son probablemente mucho más próximos a los parámetros reales.

## DISCUSIÓN

La microscopía electrónica permite un estudio detallado de la morfología de los filtros, aunque el principal problema radica en conocer el grado en que estas estructuras se retraen durante el proceso de preparación y, por tanto, si los valores morfométricos hallados responden a los reales, con sus consiguientes implicaciones en la capacidad de filtración. En principio, los filtros estudiados mediante microscopía de transmisión deben sufrir menos este fenómeno, pues se colocan extendidos en una superficie sobre la cual se secan sin poderse contraer. La comparación entre los datos obtenidos para una misma especie con microscopía de transmisión y de barrido (estudio que se ha podido hacer en las dos especies de estolidobranquios) muestra una retracción de estructuras en el segundo

caso de entre un 35 y un 45% respecto al primer caso (lo cual se corresponde bien con el valor del 38% citado por FLOOD & FIALA-MÉDIONI, 1981, para *Phallusia mammillata*). Por otro lado, aunque no se produjera una retracción, es imposible reproducir las condiciones naturales del filtro, sometido a unas fuerzas de distensión debidas a la resistencia que ofrece a la masa de agua en movimiento que atraviesa la branquia, con lo que las características de las mallas que se han medido pueden diferir de las que presentan en el filtro en funcionamiento. Los valores hallados para los diferentes parámetros analizados en este estudio son del mismo orden que los encontrados por FLOOD (1981) y FLOOD & FIALA-MÉDIONI (1981) en un total de seis especies de ascidias.

Una apreciación de la fiabilidad de las medidas obtenidas se puede obtener por comparación con estudios de la eficiencia de retención de partículas en ascidias. JØRGENSEN (1966) señala que *Ciona* y *Molgula* retienen completamente partículas de grafito de 1  $\mu\text{m}$  de diámetro. Sin embargo, RANDLOV & RIISGARD (1979) señalan para cuatro especies de ascidias que las partículas son completamente retenidas hasta diámetros de 2-3  $\mu\text{m}$ , perdiéndose rápidamente eficiencia en tamaños menores. FIALA-MÉDIONI (1978) señala retenciones no totales (entre el 65 y el 90%) para células algales de *Monochrysis lutheri*, de 2-3  $\mu\text{m}$  en su dimensión mínima. Todo ello parece indicar que las medidas aquí obtenidas son claramente menores que las que deben existir en las condiciones naturales de la película mucosa, y que incluso las observaciones con microscopía de transmisión representan una subestimación del tamaño real de los poros.

En cualquier caso, los valores calculados pueden usarse para establecer comparaciones entre especies, dado que la retracción afectará a todas ellas en aproximadamente el mismo grado. A las nueve especies que se relacionan en la tabla 1 se pueden añadir datos tomados de FLOOD & FIALA-MÉDIONI (1981) para *Ciona intestinalis* (dimensiones en micras de la malla rectangular:  $0,582 \pm 0,074 \times 0,420 \pm 0,050$ ), *Phallusia mammillata*

( $0,594 \pm 0,050 \times 0,309 \pm 0,015$ ), *Ascidella aspersa* ( $0,792 \pm 0,059 \times 0,297 \pm 0,021$ ), *Styela plicata* ( $1,751 \pm 0,149 \times 0,514 \pm 0,077$ ) y *Microcosmus sabatieri* ( $0,784 \pm 0,059 \times 0,316 \pm 0,035$ ). Igualmente se han considerado datos relativos a *Synoicum argus*, procesando con el mismo método digital que se ha usado en las muestras propias la imagen de la figura 17 de MONNIOT (1979a) (valores medios de la malla:  $0,2709 \times 0,2165 \mu\text{m}$ ). Con ello se pueden hacer comparaciones entre 15 especies pertenecientes a los tres grupos significativos de ascidias en lo que hace referencia a la complejidad de la estructura branquial: aplousobranquios, flebobranquios y estolidobranquios, y ver si algunas características de los filtros se corresponden con estos grados de organización del sistema branquial.

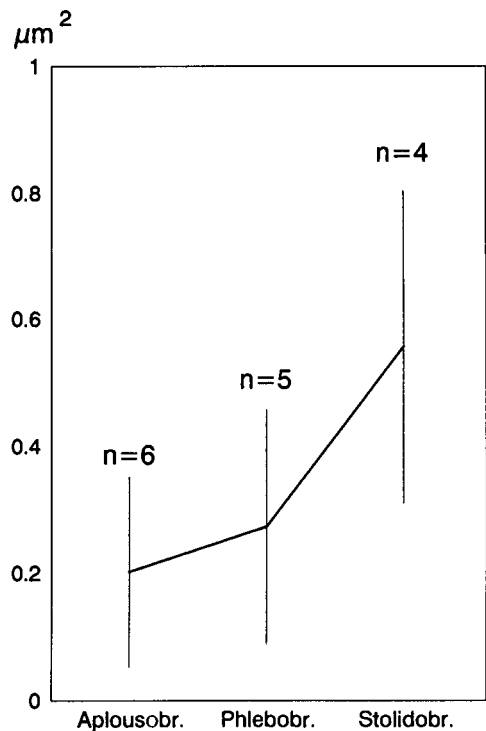


Fig. 13. Valores medios del área de los poros en los tres grupos de ascidias (las líneas verticales indican las desviaciones típicas).

Mean values of the pore areas in the three groups of ascidians (vertical lines indicate standard deviations).

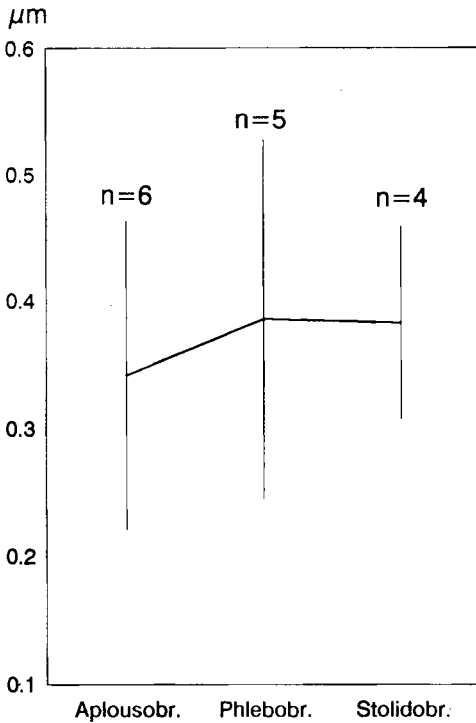


Fig. 14. Valores medios de las dimensiones mínimas de los poros en los tres grupos de ascidias (las líneas verticales indican las desviaciones típicas).

*Mean values of the minimal pore dimensions in the three groups of ascidians (vertical lines indicate standard deviations).*

A fin de que los datos sean comparables, se ha considerado que las preparaciones de microscopía de barrido presentan una retracción media de un 40% en sus dimensiones lineales respecto de las medidas hechas sobre preparaciones para microscopía de transmisión, efectuándose la correspondiente corrección. Los resultados de este estudio comparado se muestran en las figuras 13 a 15.

En la figura 13 puede apreciarse cómo el área media de los poros aumenta de los aplousobranquios (las formas con branquias más sencillas) a los flebobranquios y a los estolidobranquios (las formas con branquias más complejas). Sin embargo, esta tendencia no se observa si se considera la dimensión mínima de los poros (fig. 14) que es sensible-

mente similar en los tres grupos. El aumento de área en los estolidobranquios se debe, fundamentalmente, al aumento de la dimensión máxima, esto es, a la posesión de mallas más rectangulares. La figura 15 ilustra este punto mostrando la evolución del índice  $D_{mín}/D_{máx}$  en los tres grupos.

Dado que son pocas las especies tratadas en este estudio no es posible hacer generalizaciones, pero sí proponer posibles puntos de interés que puedan ser confirmados o desmentidos cuando el espectro de especies estudiado sea mayor. En este sentido, parece apreciarse claramente una tendencia a que la complicación branquial esté acompañada de la posesión de mallas más rectangulares, pero manteniendo las dimensiones mínimas de las

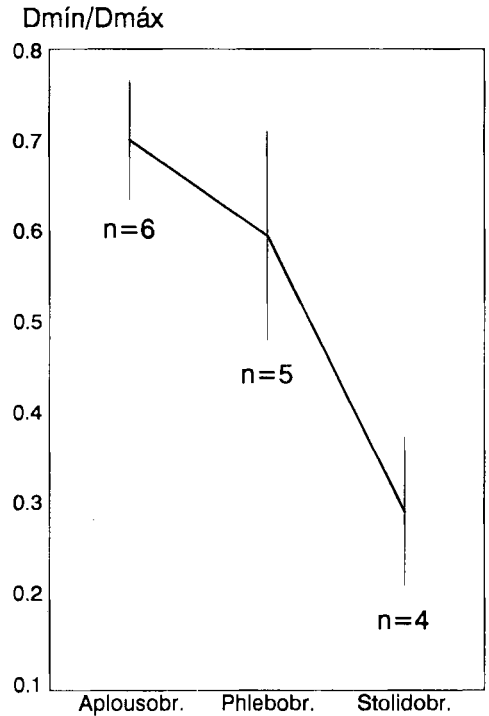


Fig. 15. Valores medios del índice  $D_{mín}/D_{máx}$  en los tres grupos de ascidias (las líneas verticales indican las desviaciones típicas).

*Mean values of the index  $D_{mín}/D_{máx}$  (shortest side/longest side) in the three groups of ascidians (vertical lines indicate standard deviations).*



mismas (esto es, la capacidad efectiva de filtración) sensiblemente igual. Ello supondría en estas especies un ahorro en la producción del filtro mucoso sin perder capacidad de retención. No puede perderse de vista el esfuerzo metabólico que supone la producción continuada de una película mucosa (hasta  $150 \text{ cm}^2 \text{ h}^{-1}$  ha medido FLOOD, 1982, en *Clavelina lepadiformis*) que es reabsorbida en parte, pero de la cual aproximadamente un 20% se pierde con las heces (datos de *Pyura praeputialis* citados por FIALA-MÉDIONI, 1987). La producción de mallas rectangulares sería la forma más económica para mantener una alta eficiencia de filtración con la mínima producción de mucus, como demuestran WALLACE & MALAS (1976) en filtros de larvas de tricópteros.

De hecho, aunque con dimensiones muy diferentes, el modelo de mallas rectangulares ha sido encontrado en grupos zoológicos muy diversos que utilizan películas mucosas para retener partículas: larvas de tricópteros (WALLACE & MALAS, 1976), casas de apendicularias (FLOOD, 1978, 1981), anélidos (*Chaetopterus variopedatus*, FLOOD & FIALA-MÉDIONI, 1982). FLOOD (1981) concluye que la formación de mallas es una propiedad fundamental del mucus y por ello se explica su aparición en grupos animales tan dispares, más que por una convergencia funcional. JÖRGENSEN et al. (1984) comparan la filtración entre diversos grupos de animales marinos que utilizan fundamentalmente cilios para capturar las partículas y otros que utilizan mallas mucosas. Los resultados apuntan a que el segundo grupo en general puede retener eficientemente partículas de menor talla.

## AGRADECIMIENTOS

Al personal del Servicio de Microscopía de la Universidad de Barcelona, por su ayuda en los problemas técnicos planteados por este estudio.

## REFERENCIAS

- FÉNAUX, R., 1968. Le mécanisme alimentaire chez les Tuniciers. *Année Biologique*, 7: 345-368.
- FIALA-MÉDIONI, A., 1978. Filter-feeding ethology of benthic invertebrates (Ascidians). IV. Pumping rate, filtration, filtration efficiency. *Mar. Biol.*, 48: 243-249.
- 1987. Lower chordates. In: *Animal energetics*: 323-356 (T.J. Pandian & F.J. Vernberg, Eds.). Academic Press, London.
- FLOOD, P.R., 1978. Filter characteristics of appendicularian food catching nets. *Experientia*, 34: 173-175.
- 1981. On the ultrastructure of mucus. *Biom. Res.*, 2 (Suppl.): 49-53.
- 1982. Transport speed of the mucous feeding filter in *Clavelina lepadiformis* (Apousobranchiata, Tunicata). *Acta Zool. (Stockh.)*, 63: 17-23.
- FLOOD, P.R. & FIALA-MÉDIONI, A., 1979. Filter characteristics of ascidian food trapping mucous films. *Acta Zool. (Stockh.)*, 60: 271-272.
- 1981. Ultrastructure and histochemistry of the food-trapping mucous film in benthic filter-feeders (Ascidians). *Acta Zool. (Stockh.)*, 62: 53-65.
- 1982. Structure of the mucous feeding filter of *Chaetopterus variopedatus* (Polychaeta). *Mar. Biol.*, 72: 27-33.
- HOLLEY, M.C., 1986. Cell shape, spatial patterns of cilia, and mucus-net construction in the ascidian endostyle. *Tissue & Cell*, 18: 667-684.
- JÖRGENSEN, C.B., 1966. *Biology of suspension feeding*. Pergamon Press, Oxford.
- JÖRGENSEN, C.B., KIORBOE, T., MOHLENBERG, F. & RIISGARD, H.U., 1984. Ciliary and mucus-net filter feeding, with special reference to fluid mechanical characteristics. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 15: 283-292.
- MONNIOT, F., 1979a. Microfiltres et ciliatures branchiales des ascidies littorales en microscopie électronique. *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 4e. sér, 1, sect. A, 4: 843-859.
- 1979b. Mise en évidence d'un filtre "micropore" naturel chez les Ascidiacea. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 289: 927-929.
- RANDLOV, A. & RIISGARD, H.U., 1979. Efficiency of particle retention and filtration rate in four species of ascidians. *Mar. Ecol. Progr. Sér.*, 1: 55-59.
- REYNOLDS, E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17: 208-212.
- WALLACE, J.B. & MALAS, D., 1976. The significance of the elongate, rectangular mesh found in capture nets of fine particle filter feeding trichoptera larvae. *Arch. Hydrobiol.*, 77: 205-212.