
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

MARINA CAMATINI, ABELE SAITA

**Studio al microscopio elettronico della muscolatura
di *Lithobius forficatus* L. durante l'anamorfosi**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 46 (1969), n.1, p. 73–80.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1969_8_46_1_73_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Zoologia. — *Studio al microscopio elettronico della muscolatura di Lithobius forficatus L. durante l'anamorfosi* (*). Nota di MARINA CAMATINI e ABELE SAITA, presentata (**) dal Corrisp. S. RANZI.

SUMMARY. — Some muscle fibers (ventral longitudinal, dorsal longitudinal, and dorso-ventral) of *Lithobius forficatus* L. are investigated by electron microscopy. The distribution of myofibrils and mitochondria, the arrangement of myofilaments, the relationship between cell membranes, sarcoplasmic reticulum and T-system tubules, are described.

This research was carried out in order to use ultrastructural findings for numerous problems of anamorphic development in Chilopoda Anamorpha.

Lo studio della muscolatura dei Chilopodi Anamorfi è stato utilizzato per puntualizzare sia le questioni relative alla segmentazione del tronco durante lo sviluppo postembrionale, sia le anomalie dei fasci muscolari nella zona del settimo e ottavo segmento degli Anamorfi rispetto alla situazione della muscolatura nella corrispondente zona degli Scolopendromorfi Epimorfi (fig. 1).

Allo scopo di unire l'indagine ultrastrutturale ai dati anatomici ottenuti con la microscopia ottica e ai metodi di comparazione che stabiliscono l'omologia dei vari muscoli in base ai punti di inserzione, si sono prese in esame le configurazioni ultramicroscopiche di diversi fasci muscolari di *Lithobius forficatus* allo stadio adulto e nel quinto stadio larvale. Malgrado qualche divergenza, gli Autori riconoscono, durante il periodo di anamorfosi, nei Litobiomorfi uno stadio « foetus » (larva prima) con sette paia di zampe ed un certo numero di abbozzi di altri arti (burgeons pédifères), e quattro stadi larvali di cui l'ultimo ha dodici paia di zampe e tre paia di abbozzi di altri arti a livello del quattordicesimo tergite « embrionale ».

Sia nell'adulto che nel quinto stadio larvale si sono scelti i gruppi muscolari appendicolari o dorso-ventrali e quelli longitudinali ventrali e longitudinali dorsali, sia della zona perturbata che di quella normale; inoltre nella larva si sono osservati alcuni fasci della zona di accrescimento.

MATERIALI E METODI.

In questa ricerca sono stati utilizzati esemplari adulti e al quinto stadio larvale di *Lithobius forficatus* L.. Gli animali sono stati assicurati ad una tavoletta in modo da evitare la contrazione della muscolatura longitudinale. Sono stati poi aperti lungo una linea laterale

(*) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Zoologia dell'Università di Milano dal Gruppo di Ricerca per l'Embriologia del C.N.R.

(**) Nella seduta del 14 dicembre 1968.

del corpo e si è immediatamente iniettato del fissatore, rinnovandolo più volte e mantenendo costante la distanza tra le placche tergalì e sternali per circa mezz'ora. Al termine di tale periodo i muscoli non sono più in grado di contrarsi, quindi l'ulteriore fissazione è stata fatta trasferendo nei fissativi i frammenti del corpo di *Lithobius*, e i muscoli sono stati staccati dal loro punto di inserzione durante la disidratazione, quando si trovavano in alcool 70%.

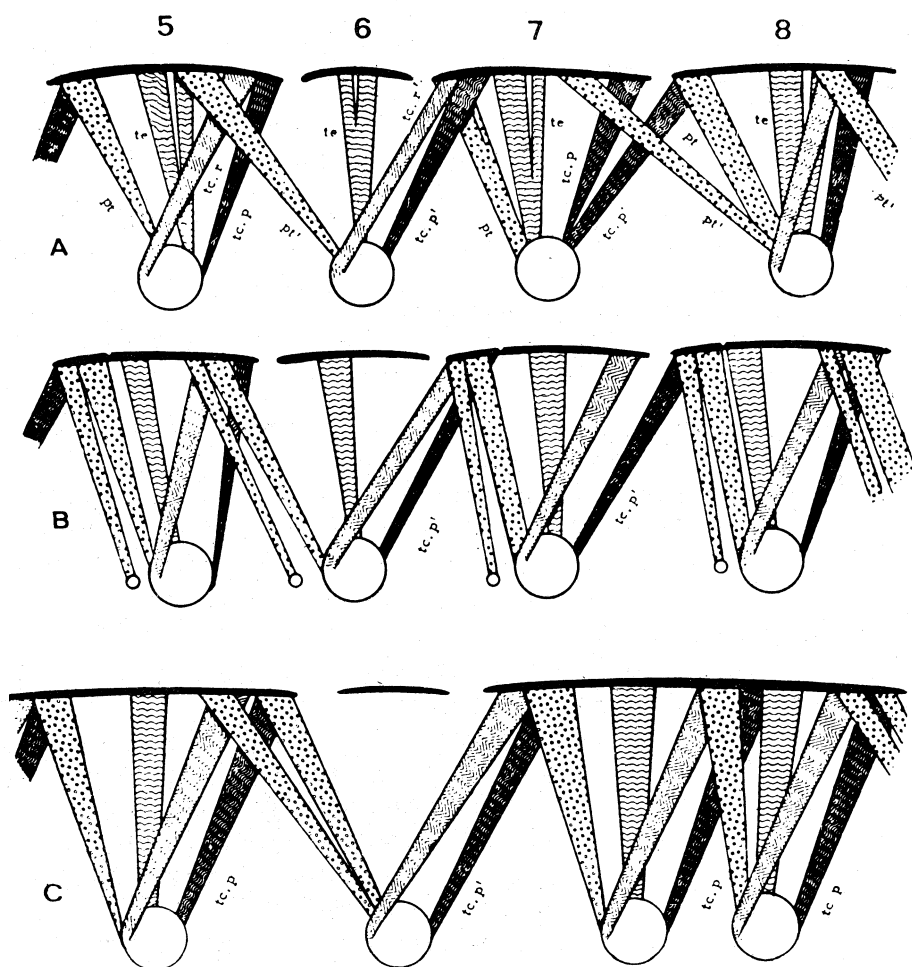


Fig. 1. – Muscolatura dorso-ventrale (appendicolare) schematica comparata di *Lithobius* (A), *Scolopendra* (B) e *Scutigera* (C).

I numeri 5, 6, 7, 8, indicano i tergiti. I muscoli omologhi hanno identico tratteggio: pt, pt' = procoxo-tergale; te = tergo-epicoxale; tc.r, tc.r' = tergo-coxale rotatore; tc.p, tc.p' = tergo-coxale posteriore. (da: Demange, 1967).

Sono stati isolati tre tipi di muscoli: i muscoli longitudinali dorsali, i dorso ventrali e i longitudinali ventrali. La fissazione è stata fatta per 1 h. in glutaraldeide al 3% in tampone fosfati a pH 7,2 (con glutaraldeide purificata su colonna di carbone), e, dopo lavaggio in tampone si è postfissato in acido osmico 1% a pH 7,2 in tampone fosfati. La disidratazione e l'inclusione in miscela Epon-Araldite sono state eseguite secondo i metodi usuali. Le sezioni sono state ottenute con l'ultramicrotomo LKB, e dopo colorazione con citrato di piombo, secondo Reynolds (1963), sono state osservate al microscopio elettronico Hitachi HS-7.

RISULTATI.

Muscoli longitudinali dorsali. — Questi muscoli sono situati lungo tutti i tergiti del tronco. Le bande muscolari si dividono in due zone: una superficiale ed una profonda con disposizione longitudinale o lievemente obliqua. I fasci muscolari anteriori mediani e quelli longitudinali laterali della zona superficiale si inseriscono tra i grossi e piccoli tergiti, tranne a livello del settimo tergite appartenente ad un metamero incompleto, dove il ritmo normale secondo cui è disposta la muscolatura è alterato e i muscoli obliqui non possono esistere, perché il piccolo tergite successivo al settimo è assente.

Questi fasci muscolari, a differenza di quelli dorso ventrali, appaiono appiattiti, e costituiti da più elementi di lunghezza crescente, che nella zona profonda partono dal bordo anteriore dei grandi tergiti coprendo i segmenti stigmatiferi e giungono alla metà del grande tergite precedente attraversando il segmento senza stigmate coperto da un piccolo tergite. Nella zona superficiale invece questi fasci si dividono in due gruppi: uno parte dal bordo di ciascun piccolo tergite e arriva al grande tergite precedente (fasci anteriori mediani), l'altro gruppo parte dalla porzione anteriore del piccolo tergite e arriva al bordo anteriore del grande tergite seguente (fasci posteriori).

Al microscopio elettronico, in sezione trasversale, le fibre si presentano suddivise in miofibrille allungate con orientamento parallelo al senso dell'appiattimento della fibra (Tav. I, fig. 1). Il reticolo sarcoplasmatico avvolge le miofibrille ed è abbastanza sviluppato; numerosi sono gli appaiamenti a diade tra le cisterne del reticolo sarcoplasmatico e i tubuli del sistema T. I mitocondri sono poco numerosi e di piccole dimensioni. A livello della banda A i miofilamenti primari sono circondati da circa 10–12 miofilamenti secondari (Tav. I, fig. 3). La distribuzione dei miofilamenti appare quindi simile a quella osservata nella maggior parte dei muscoli scheletrici degli Artropodi; la disposizione però dei filamenti primari è piuttosto irregolare o per lo meno non riconducibile ad uno schema esagonale.

In sezione longitudinale i sarcomeri appaiono abbastanza regolarmente allineati e la loro lunghezza varia a seconda del grado di contrazione, per la diversa sovrapposizione reciproca tra miofilamenti primari e secondari (Tav. I, fig. 2). La lunghezza del filamento primario è di circa 3,5–4 μ .

In generale questa configurazione strutturale si ripete pressoché identica nei diversi gruppi di muscoli longitudinali osservati con piccole variazioni nell'orientamento delle miofibrille nei fasci muscolari a diverso grado di appiattimento.

Muscoli dorso-ventrali. — Questi muscoli si possono dividere in segmentali, quando vanno dalle appendici dei segmenti macrotergali alla placca tergale corrispondente, mentre sono intersegmentali quelli che partono dalle appendici dei segmenti microtergali e si inseriscono al grande tergite precedente o a quello seguente. La particolare disposizione dei muscoli procoxo-tergali, tergo coxali e tergo epicoxali in *Lithobius* appare dalla fig. 1.

I fasci muscolari presentano una sezione poligonale e sono costituiti da numerose fibre strettamente accollate. Si può osservare che mentre la disposizione dei miofilamenti è identica a quella della muscolatura longitudinale dorsale precedentemente descritta, l'aspetto generale della fibra, al microscopio elettronico, presenta alcune differenze per quanto riguarda la configurazione delle miofibrille, la quantità di mitocondri, la localizzazione dei nuclei e i rapporti tra le membrane del reticolo sarcoplasmatico e quelle del sistema T.

Nella sezione di una fibra frequentemente si osserva la presenza di più gruppi di miofibrille a profilo irregolare e tra loro sfasate; questo fatto unitamente alla presenza di più nuclei, ognuno dei quali in rapporto ad un gruppo di miofibrille, induce a credere che la fibra risulti dalla fusione di più mioblasti durante l'ontogenesi (Tav. III, fig. 8).

I mitocondri sono numerosi e sono situati regolarmente a livello delle strie Z (Tav. II, fig. 4); il loro profilo è allungato ed occupano sempre anche parte della banda I (Tav. II, fig. 5). La membrana sarcoplasmatica si introflette con frequenza formando delle ampie invaginazioni, particolarmente in prossimità delle strie Z. In queste zone la membrana appare ispessita e densa agli elettroni (Tav. II, fig. 6), mentre le introflessioni che si spingono in profondità, continuandosi con i tubuli del sistema T, non interessano mai la membrana basale.

In sezione longitudinale il filamento primario ha sempre una misura superiore ai 4μ a differenza della lunghezza nei muscoli sia longitudinali dorsali che ventrali. Anche in queste fibre (Tav. III, fig. 7) le linee Z sono regolarmente allineate in miofibrille adiacenti, le diadi sono a livello delle bande A/I, e in sarcomeri decontratti (Tav. III, fig. 9) si nota la possibilità di escursione dei filamenti primari rispetto ai secondari, come generalmente si osserva nella muscolatura tonica degli Insetti.

Muscoli longitudinali ventrali. - Questa muscolatura è costituita da fasci che riuniscono ventralmente i vari segmenti decorrendo parallelamente all'asse maggiore del tronco dell'animale. Alcuni fasci si inseriscono obliquamente, ma apparendo difficilmente distinguibili da quelli realmente longitudinali ventrali, non vengono riferiti in questa analisi. L'aspetto ultrastrutturale di queste fibre è abbastanza simile a quello delle fibre longitudinali dorsali. Le sezioni trasversali interessano sempre un solo nucleo, le miofibrille sono nastroformi e sono disposte a guisa di raggi divergenti (Tav. IV, fig. 11). I mitocondri sono piccoli e poco numerosi e gli altri aspetti dell'organizzazione citologica sembrano ripetere l'organizzazione già osservata nei muscoli longitudinali dorsali, precedentemente descritti (Tav. IV, figg. 10 e 12). La lunghezza dei filamenti primari è compresa tra $3,5$ e 4μ .

Muscolatura della zona di sviluppo postembrionale. - Lo sviluppo postembrionale dei Litobiomorfi presenta un ritmo di acquisizione di due segmenti per stadio; questi segmenti appaiono sotto una forma incompleta detta « embrionale » e con particolari modalità già descritte da Murakami (1960).

In *Lithobius forficatus* allo stadio di larva quinta sono presenti dopo la muta tre nuovi segmenti (13°, 14°, 15°) con appendici di tipo embrionale. Per quanto la muscolatura di questa zona si possa considerare completamente sviluppata subito dopo la muta, si sono presi in esame alcuni gruppi muscolari allo scopo di verificare il grado di sviluppo degli elementi sarcoplasmatici.

Le fibre, almeno quelle da noi osservate, presentano caratteri pressoché identici a quelli dell'adulto. Appaiono infatti già sviluppati il reticolo sarcoplasmatico e le membrane del sistema T, risulta completamente configurato il profilo delle miofibrille e strutturati ormai gli elementi contrattili del sarcomero nella disposizione caratteristica dei miofilamenti (Tav. V, fig. 13).

Questa situazione corrisponde ai dati rilevati nell'embriogenesi di muscoli di altri Artropodi, nei quali risulta che l'animale, appena mutato possiede già l'apparato muscolare in grado di funzionare.

CONCLUSIONI.

I risultati di microscopia elettronica non paiono per ora sufficienti per stabilire delle differenze significative nell'ambito dei muscoli longitudinali dorsali utilizzabili a distinguere tra loro i fasci della zona profonda da quelli della zona superficiale, o quelli laterali da quelli mediani, gli anteriori dai posteriori o i segmentali dagli intersegmentali. Sembra quindi impossibile utilizzare questi dati per uno studio relativo al significato delle anomalie riscontrate nella zona del settimo e ottavo segmento; è inoltre ancora più difficile stabilire delle omologie di tipo morfologico o anche di tipo funzionale rispetto alla muscolatura corrispondente di *Scolopendra cingulata* e *Scutigera coleoptrata*. I dati ottenuti possono però essere confrontati a grandi linee coi risultati sulla muscolatura intersegmentale di *Scolopendra* (Camatini e Saita, 1967) e con quelli sulla muscolatura dorso ventrale di *Scutigera* (Camatini e Saita, 1968). Infatti anche in *Scolopendra* la muscolatura longitudinale ventrale presenta una disposizione delle miofibrille di tipo lamellare radiale, e d'altra parte in *Scutigera* i muscoli dorso ventrali presentano miofibrille riunite in gruppi tra loro sfasati, ciascuno dei quali con il proprio nucleo, come rilevato in questa ricerca nei muscoli dorso ventrali di *Lithobius forficatus*.

Per quanto si riferisce alla disposizione tra i miofilamenti primari e secondari il rapporto di 1 : 6 è identico a quello più diffuso nella muscolatura scheletrica e viscerale sia dei Crostacei (Bouligand, 1963; Swan, 1963; Brandt e coll., 1965; Fahrenbach, 1967) che degli Insetti (Toselli, 1965; Smith, 1966; Lanzavecchia e Villa, 1967; Smith, 1962; Hagopian, 1966 e 1967; Smith e coll., 1966; Sandborn e coll., 1967; Schaffer e coll., 1967), come pure nei Chilopodi (Camatini e Saita, 1967; Camatini e Saita, 1968) e nei Diplopodi (*Julus*, *Glomeris*, ricerche in corso).

Questa disposizione sembra caratteristica dei muscoli a contrazione piuttosto lenta, di tipo tonico; diverso è infatti il rapporto tra i miofilamenti

nei muscoli a contrazione veloce e ritmica come ad esempio quelli del volo degli Insetti o particolari muscoli a contrazione veloce nei Crostacei.

La lunghezza del filamento primario, misurata nei muscoli esaminati in questa ricerca, si può considerare compresa tra 3,5 e 4,5 μ , misura che corrisponde a quanto già riscontrato in *Scolopendra* e *Scutigera*; le piccole variazioni di lunghezza tra i filamenti primari dei muscoli longitudinali sia dorsali che ventrali rispetto a quelli dorso ventrali non sembra molto significativa e correlabile ad una notevole differenza di funzione. È evidente però che questa lunghezza (pressoché doppia rispetto a quella dei muscoli a contrazione veloce) è in relazione alla particolare situazione della muscolatura tonica, dove, ad una diminuzione di velocità corrisponde una maggiore possibilità di scorrimento e sovrapposizione dei miofilamenti tra loro e conseguentemente una maggiore tensione dovuta al maggior numero di ponti che si stabiliscono tra i due tipi di miofilamenti.

I risultati ottenuti dallo studio della muscolatura nei segmenti 13°, 14° e 15° della larva quinta di *Lithobius* non possono per ora essere utilizzati ai fini di chiarire i numerosi problemi relativi allo sviluppo postembrionale per anamorfosi esaminati e correlati recentemente con lo sviluppo postembrionale di tipo epimorfico (Demange, 1967).

Gli Autori ringraziano il professor G. Lanzavecchia per i suggerimenti avuti durante la stesura del lavoro.

LAVORI CITATI.

- BOULIGAND J., « J. de Microscopie », 2, 197 (1963).
BRANDT P. W., REUBEN J. P., GIRARDIER L. e GRUNDFEST H., « J. Cell Biol. », 25, 233 (1965).
CAMATINI M. e SAITA A., « Accad. Naz. Lincei (Rend. Sc. fis. mat. nat.) », 42, 704 (1967).
CAMATINI M. e SAITA A., « Accad. Naz. Lincei (Rend. Sc. fis. mat. nat.) », 44, 443 (1968).
DEMANGE J. M., « Mem. Mus. hist. nat. », ser. A, Zool. 44, 1 (1967).
FAHRENBACH W. H., « J. Cell. Biol. », 35, 69 (1967).
HAGOPIAN M., « J. Cell. Biol. », 28, 245 (1966).
HAGOPIAN M. e SPIRO D., « J. Cell. Biol. », 32, 535 (1967).
LANZAVECCHIA G. e VILLA L., « Accad. Naz. Lincei (Rend. Sc. fis. mat. nat.) », 42, 711 (1967).
MURAKAMI Y., « Zool. Mag. », 69, 121 (1960).
RAYNOLDS E., « J. Cell. Biol. », 17, 208 (1963).
SANDBORN E. B., DUCLOS S., MESSIER P. e ROBERGE J., « J. Ultrastructure Research », 18, 695 (1967).
SCHAFER C. W., VANDERBERG Y. P. e RHODIN Y., « J. Cell. Biol. », 34, 905 (1967).
SMITH D. S., « Rev. canad. Biol. », 21, 279 (1962).
SMITH D. S., « J. Cell. Biol. », 29, 449 (1966).
SMITH D. S., GUPTA B. K. e SMITH U., « J. Cell. Sc. », 1, 49 (1966).
SWAN R. C., « J. Cell. Biol. », 19, 68 A (1963).
TOSELLI P. A., « Anat. Record », 151, 427 (1965).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-V

TAVOLA I.

- Fig. 1. — Sezione trasversale di muscolo longitudinale dorsale. Le miofibrille (*M*) hanno un orientamento radiale, sono molto allungate e delimitate da membrane del reticolo sarcoplasmatico. In alto una terminazione nervosa (T.n.) con nucleo (*N*). $\times 5.400$.
- Fig. 2. — Sezione longitudinale di muscolo longitudinale dorsale. Il sarcomero è decontratto e si osservano le diverse bande (*Z*, *A*, *I*). Tra i sarcomeri evidenti alcune diadi (*D*). $\times 28.000$.
- Fig. 3. — Sezione trasversale di muscolo longitudinale dorsale a livello della banda A (*A*). Si nota la distribuzione di numerosi filamenti secondari (10-12) attorno ad ogni filamento primario. Tra le miofibrille sono presenti cisterne del reticolo sarcoplasmatico (*R. S.*). $\times 63.300$.

TAVOLA II.

- Fig. 4. — Sezione lievemente obliqua rispetto alla direzione trasversale della fibra di muscolo dorso ventrale. A livello della stria Z (*Z*) appare la regolare distribuzione dei mitocondri (*m*). $\times 27.000$.
- Fig. 5. — Sezione lievemente obliqua rispetto alla direzione trasversale della fibra di muscolo dorso ventrale. Si osserva la presenza di mitocondri (*m*) tra le miofibrille a livello della banda I (*I*). $\times 38.000$.
- Fig. 6. — Sezione pressoché trasversale di muscolo dorso ventrale che interessa il margine della fibra a livello della stria Z. In questa zona si osservano ispessimenti ($\nearrow$) e invaginazioni della membrana sarcoplasmatica. $\times 21.000$.

TAVOLA III.

- Fig. 7. — Sezione longitudinale di muscolo dorso ventrale. La sezione interessa due fibre adiacenti. Tra i nuclei di ciascuna fibra è visibile la membrana sarcoplasmatica. I sarcomeri sono contratti e le strie Z (*Z*) appaiono allineate in miofibrille adiacenti. $\times 5.300$.
- Fig. 8. — Sezione trasversale di muscolo dorso ventrale a piccolo ingrandimento. Appaiono diversi gruppi di miofibrille con più nuclei. $\times 5.000$.
- Fig. 9. — Sezione longitudinale di muscolo dorso ventrale. Il sarcomero è decontratto e sono evidenti le diverse bande (*Z*, *A*, *I*). $\times 22.000$.

TAVOLA IV.

- Fig. 10. — Sezione trasversale di muscolo longitudinale ventrale a livello della banda A (*A*). Evidente la corona di numerosi filamenti secondari attorno ad ogni primario. $\times 41.000$.

Fig. 11. – Sezione trasversale di muscolo longitudinale ventrale. La disposizione delle miofibrille è a raggio, dal nucleo (*N*) alla periferia della cellula. $\times 10.500$.

Fig. 12. – Sezione longitudinale di muscolo longitudinale ventrale. Particolare di un sarcomero per mettere in evidenza la disposizione dei miofilamenti nella banda A (*A*). $\times 38.000$.

TAVOLA V.

Fig. 13. – Sezione trasversale di fibra muscolare a livello dei segmenti «embrionali», che interessa la zona periferica di due fibre adiacenti. L'aspetto delle miofibrille, ed il rapporto tra i miofilamenti ha carattere pressoché definitivo. $\times 33.000$.

