
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIULIO LANZAVECCHIA

**Morfologia ultrastrutturale dei muscoli longitudinali
deill'oloturia (*Holothuria tubulosa*)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 42 (1967), n.6, p. 894-902.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1967_8_42_6_894_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/>

Zoologia. — *Morfologia ultrastrutturale dei muscoli longitudinali dell'oloturia* (*Holothuria tubulosa*) (*). Nota di GIULIO LANZAVECCHIA, presentata (**) dal Corrisp. S. RANZI.

SUMMARY. — The longitudinal muscles of Sea-cucumber *Holothuria tubulosa* are constituted by unicellular fibres, grouped into bundles of 3-10 cells. Every bundle is surrounded by a layer of collagen fibrils, parallel to the muscle fibers. These fibers are joined to one other by means of some cytoplasmic elongations, budding from the cell sides, which contain several glycogen granules and a few mitochondria. The fibrous part of the cell consists of a double system of myofilaments, which seem to be arranged in a random disposition. The primary myofilaments are 200-500 Å thick. They are encircled by 10-12 secondary filaments of about 70 Å. Pentalaminar junction-like structures are also described in this report. The possibility to relate them to an intracellular impulse propagation, is here discussed.

Sembra possibile, sulla base delle attuali conoscenze, tentare una correlazione tra la posizione sistematica dei diversi animali, e l'organizzazione ultrastrutturale dei loro muscoli. I caratteri che possono essere utilizzati in questo tentativo sono essenzialmente la disposizione reciproca dei filamenti secondari e primari, la struttura molecolare di questi ultimi, la morfologia della striatura trasversale (in particolare della stria Z), quella del reticolo sarcoplasmatico, ed infine la suddivisione in miofibrille o in strutture ad analogo significato funzionale nella fibra muscolare (Lanzavecchia, 1965). In questo senso vanno considerate le ricerche di Peachey (1961) sull'anfiosso. Per tale motivo è stata iniziata una serie di osservazioni allo scopo di analizzare al microscopio elettronico i muscoli meno conosciuti; la presente nota descrive l'organizzazione ultrastrutturale dei muscoli longitudinali del corpo dell'oloturia. I muscoli degli Echinodermi sono considerati di tipo liscio (von Buddenbrock, 1961), e l'unica eccezione nota si riferisce ai muscoli delle spine rotanti dell'echinoide *Centrostephanus*; secondo le antiche osservazioni di Hamman (1887) essi sarebbero infatti striati. Al microscopio elettronico la muscolatura degli Echinodermi è stata oggetto di numerosi lavori (Kawaguti, 1964 a, 1964 b, 1965 a, 1965 b; Kawaguti e Kamishima, 1965; Kawaguti e Ikemoto, 1965); gli autori giapponesi tuttavia hanno risolto in modo incompleto i principali problemi di organizzazione: in ogni caso tutti i muscoli osservati, sia di Oloturoidi che di Echinoidi, anche quelli delle spine di *Anthocidaris crassisпина*, sono risultati di tipo liscio e tutti costruiti secondo

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia dell'Università di Milano (Laboratorio di Microscopia elettronica «Fondazione C. Erba»). Gruppo di ricerca per l'Embriologia e il differenziamento cellulare del C.N.R.

(**) Nella seduta del 21 giugno 1967.

il medesimo piano di organizzazione. I risultati ottenuti al microscopio elettronico confermano in linea di massima quelli di Olson (1938) e di Freeman e Simon (1964), entrambi ottenuti al microscopio ottico.

MATERIALI E METODI.

In questa ricerca sono state utilizzate oloturie della specie *Holothuria tubulosa* Gm. Gli animali sono stati pescati in prossimità di Portofino, e conservati in laboratorio per un massimo di 24 ore in acqua di mare areata artificialmente. Per impedire la contrazione del corpo durante il processo di isolamento dei muscoli, si è aggiunto gradatamente $MgCl_2$ in sostanza all'acqua di mare, fino a che l'animale resta decontratto, ovvero si è raffreddata l'acqua stessa a 0°C. Entrambe le tecniche hanno dato risultati soddisfacenti. L'animale decontratto è stato fissato ad un'asse, in modo da impedirne ogni eventuale accorciamento. È stato quindi aperto, e la cavità del corpo privata dei visceri. Risultano così evidenti le cinque fasce di muscoli longitudinali: una di queste è stata staccata dalla parete mediante rottura delle connessioni connettivali e del rivestimento celomatico, e da essa è stata isolata una sottile striscia (1-2 mm di diametro). Un tratto di tale striscia muscolare lungo 4-5 cm è stato fissato ad una bacchetta di legno mediante legatura. Contrariamente a quanto affermato da Freeman e Simon (1964) non si è mai avuta rottura del muscolo. Durante tale operazione l'intero muscolo è rimasto connesso alle estremità anteriore e posteriore del corpo, e quindi mantenuto in condizione di completa distensione. Contemporaneamente su di esso è stata fatta fluire della glutaraldeide al 3% tamponata a pH 7,4 e contenente NaCl 2%. La listerella di muscolo è stata quindi staccata ed insieme alla bacchetta di legno che la manteneva distesa, immersa nella soluzione di glutaraldeide per due ore. È stata quindi lavata in tampone senza glutaraldeide e postfissata in acido osmico 1% a pH 7,4 in tampone fosfati ed NaCl 4%, per un'ora. È stata quindi lavata in NaCl 0,5% e disidratata (Millonig). Durante il processo di disidratazione la lista di muscolo è stata suddivisa in piccoli segmenti, per facilitarne l'inclusione. Questa è stata fatta in vestopal W, secondo le comuni tecniche. Nel corso della disidratazione il muscolo è stato anche precolorato con acetato di uranile o con acido fosfotungstico (PTA) per periodi variabili da un'ora a ventiquattro ore. Le sezioni sono state ottenute con l'Ultratome LKB, e dopo « colorazione » con citrato di Pb (Reynolds, 1963) sono state osservate al microscopio elettronico Hitachi HS 7.

OSSERVAZIONI.

In sezioni trasversali a piccolo ingrandimento, le fibre muscolari appaiono molto addossate le une alle altre, con piccoli spazi intercellulari, e frequentemente a mutuo contatto tra di loro (fig. 1). I limiti cellulari sono molto sinuosi (figg. 2 e 3), e la maggior parte della sezione della cellula è occupata dalla porzione contenente i miofilamenti. Vi sono tuttavia delle zone abbastanza estese ove si osservano degli addensamenti compatti di granuli di glicogeno (figg. 1 e 3). Tale osservazione è in buon accordo con quanto osservato da Kawaguti e Ikemoto (1965) (essi tuttavia ne vedono solo quantità modeste), e da Freeman e Simon (1964) mediante studio istochimico al microscopio ottico. È evidente che la quantità di glicogeno può variare in rapporto a diverse condizioni, e in particolare è stato osservato che esso si riduce con notevole rapidità se si stimola ripetutamente l'animale, facendolo contrarre con una certa frequenza durante il periodo di permanenza in laboratorio. È comunque certo che il glicogeno è presente nei muscoli delle oloturie in grande quantità,

contrariamente a quanto indicato da Hyman (1955), che si riferiva, interpretandola erroneamente, all'osservazione di Benazzi Lentati (1941), che faceva notare come gli studi sulla presenza di glicogeno negli Echinodermi fossero praticamente assenti. Le cellule muscolari sono riunite in gruppi di 3-10 unità, circondate da una fascia connettivale molto ricca di fibrille collagene (figg. 1 e 11): solo in rapporto a tale fascia gli spazi intercellulari si dilatano alquanto, e tuttavia nelle immagini osservate non costituiscono più del 10 % della sezione del muscolo. Ciò è in contrasto con i dati di Freeman e Simon (1964) secondo i quali tale spazio avrebbe un valore molto variabile, comunque non inferiore in media al 70 %, e con quelli di Simon e coll. (1964), i quali hanno calcolato lo spazio libero tra le fibre mediante studi di diffusione con albumina marcata con I^{132} ; esso risulterebbe pari al 30 %. È impossibile stabilire se il metodo di fissazione impiegato in questa ricerca non determina una contrazione del tessuto, con riduzione degli spazi intercellulari; la preservazione delle diverse strutture sembra invece sufficientemente buona. Nelle immagini di Kawaguti è sempre evidente un notevole distacco artificiale delle cellule muscolari, per cui gli spazi tra queste risultano ampi.

Del tutto particolari sono i rapporti che contraggono tra loro le fibre muscolari che costituiscono una specie di rosetta (in sezioni trasversali), circondata da una trama collagene. Dal corpo della fibra, che appare pressapoco rotondeggiante o poligonale, sempre nelle sezioni trasversali, partono delle proiezioni citoplasmatiche spesso aliformi, di lunghezza varia, che si incastrano tra di loro in modo da allacciare le cellule (figg. 2, 3 e 5). La loro lunghezza può raggiungere valori di 10-20 μ e forse più; lo spessore delle lamine più lunghe è invece di solito di poche centinaia di Å (fig. 4). In casi estremi raggiunge addirittura il valore minimo teorico di circa 150-160 Å, pari cioè alla somma esatta di due membrane cellulari senza sostanza interposta (fig. 6). La membrana delle fibre muscolari delle oloturie ha infatti uno spessore di 75-80 Å, ed una struttura chiaramente trilaminare (figg. 5 e 6). Il contatto tra le due membrane in tali porzioni dei lembi citoplasmatici, è tanto intimo da impedire la distinzione dei due foglietti proteici interni accollati, nelle condizioni raggiunte di risoluzione. Si viene a formare un apparente unico strato centrale, il cui spessore tuttavia è di 50-60 Å; ciò dimostra che esso risulta dalla apposizione di due normali foglietti proteici delle membrane cellulari (fig. 7). Il significato di questi veli citoplasmatici sembra unicamente quello di concorrere alla unione tra le fibre; queste infatti non presentano delle evidenti zone di contatto specifico sul tipo dei desmosomi o delle giunzioni pentalaminari. Nei muscoli delle spine di un echinoide, Kawaguti e Kamishima (1965) hanno notato la presenza di granulazioni J, alcune delle quali sono localizzate sulla parete della fibra, disposte simmetricamente rispetto ad altre granulazioni analoghe in fibre adiacenti. Secondo gli autori giapponesi esse formerebbero qualcosa di paragonabile ai desmosomi, e quindi concorrerebbero all'adesione tra le cellule. Le granulazioni J sono tuttavia assenti, secondo Kawaguti e Ikemoto (1965), nei muscoli longitudinali delle oloturie. In realtà se ne possono notare, sia pure di piccole dimensioni, nelle immagini osservate

in questa ricerca: esse comunque non formano strutture del tipo dei desmosomi. Giunzioni pentalaminari tipiche non sono mai state osservate; talvolta si vedono tuttavia delle zone di contatto tra due cellule, lunghe anche parecchi micron, in cui la sostanza intercellulare è assente, e i due strati proteici esterni delle membrane si giustappongono così strettamente da non poter più essere distinti (figg. 8 e 9). Il loro spessore complessivo di 50–60 Å dimostra chiaramente l'originaria duplicità della struttura (fig. 10). È difficile stabilire se queste zone di contatto sono implicate nella conduzione intracellulare degli stimoli, in modo analogo a quanto si verifica ad esempio nelle cellule muscolari lisce dei Vertebrati (Dewey e Barr, 1964), o se si tratta di artefatti conseguenti a fissazione con aldeide glutarica. A questi muscoli arrivano piccoli rami del nervo radiale, che in *Thyone briareus* (Prosser, 1964), sono intervallati di circa un millimetro. Le giunzioni neuromuscolari, o strutture funzionalmente uguali, devono tuttavia essere molto scarse, e nel corso di questa ricerca non è stato possibile mettere in evidenza nessuna struttura che potesse far pensare con certezza a qualcosa del genere. Osservazioni di Tao (1927) dimostrano che la contrazione può aver luogo solo in seguito ad una stimolazione nervosa, mentre non esiste una conduzione intramuscolare dello stimolo, almeno su lunghi tratti di muscolo. È possibile tuttavia pensare che all'interno di un unico fascio di fibre lo stimolo alla contrazione possa essere trasmesso attraverso zone di minor resistenza elettrica sul tipo di quelle descritte.

Secondo le tipiche descrizioni il nucleo è sempre localizzato sul margine laterale della fibra, e spesso, ma non sempre, sporge all'infuori di essa (fig. 4). Come si è detto, l'area maggiore della fibra muscolare in sezione trasversale è occupata dai miofilamenti; quelli primari mostrano un diametro che varia tra 200 e 500 Å, mentre secondo Kawaguti e Ikemoto (1965) in *Stichopus japonicus* avrebbero tutti un diametro di 220 Å. La loro disposizione è del tutto casuale, ma essi costituiscono ugualmente un sistema abbastanza compatto: la distanza media tra i centri di due filamenti primari vicini è infatti dell'ordine di 600 Å. Essi sono circondati da una corona irregolare di miofilamenti secondari (il cui diametro è di circa 80 Å), in numero difficilmente determinabile; in qualche caso se ne sono potuti contare dodici (fig. 12). Il rapporto numerico tra filamenti secondari e primari varia alquanto in diverse zone anche della stessa cellula, e ciò in conseguenza di una distribuzione non geometrica. In qualche caso infatti le corone di filamenti secondari sembrano indipendenti rispetto a quelle circostanti; più frequentemente alcuni miofilamenti secondari sono comuni a due corone adiacenti. Una simile organizzazione disordinata di miofilamenti si osserva nei muscoli lisci delle planarie (MacRae, 1963) ed in quelli paramiosinici dei Molluschi (Hanson e Lowy, 1961). Alla periferia della cellula, in genere al margine delle masse di glicogeno, o all'interno di queste, si osservano pochi e piccoli mitocondri (figg. 2, 3 e 14). Uno sviluppo così ridotto del condrioma è certamente da porre in relazione alla lentezza di movimenti delle olturie, ed alla loro scarsa motilità generale. È anche verosimile che la grande quantità di glicogeno presente in questi

muscoli possa fornire energia sufficiente per un certo periodo di attività, utilizzando il meccanismo anaerobico della glicolisi, e che in un secondo tempo i mitocondri possano ristorare le normali condizioni, durante i lunghi periodi di quasi immobilità dell'animale. Va anche ricordato che in condizioni di riposo i muscoli delle oloturie hanno un consumo di O_2 estremamente basso rispetto a quello dei muscoli dei Vertebrati (Gay e Simon, 1964).

Le cellule muscolari delle oloturie hanno una lunghezza compresa tra 200 e 600 μ , ed in sezione longitudinale appaiono come lunghi cilindri rastremati alle estremità. La parte contenente i miofilamenti occupa in genere un'ampia fascia centrale, mentre lateralmente si osservano spesso delle appendici citoplasmatiche, che presentano un curioso aspetto uncinato, e si ingranano con corrispondenti estroflessioni che partono da cellule adiacenti (figg. 13 e 14). Queste zone di citoplasma sono quasi sempre piene di glicogeno, che si presenta sotto forma di granuli fittamente addensati, tra cui si trovano alcuni mitocondri. Come è stato detto in precedenza, le cellule muscolari sono in genere riunite a costituire fascetti di 3-10 elementi: gli spazi tra le cellule di uno stesso fascetto sono molto esigui, ed in essi non sono mai visibili fibrille collagene. Gli spazi tra un fascio e l'altro sono di ampiezza variabile e contengono numerose fibrille collagene. Nelle immagini osservate esse hanno un periodo principale di circa 700 Å, mentre sono visibili nove bande intraperiodo. Secondo osservazioni di Baccetti su fibrille isolate di *Holothuria tubulosa*, il periodo sarebbe poco superiore a 600 Å, mentre si potrebbero distinguere sedici bande intraperiodo, disposte in modo leggermente differente rispetto a quanto si osserva nei Mammiferi. I dati di Baccetti sono del resto in accordo con l'analisi degli aminoacidi effettuata da Watson e Silvester (1959) e Piez e Gross (1959), che mettevano in rilievo una certa differenza tra il collagene dei Vertebrati e quello degli Echinodermi. Nelle sezioni il diametro delle fibrille collagene è abbastanza costante, e si aggira sui 500-700 Å (fig. 15); nelle fibrille isolate esso appare molto più variabile, e può scendere a valori poco superiori a 100 Å (fig. 16). Tutte le fibrille collagene sono disposte parallelamente o quasi tra di loro, e sono sempre orientate secondo la direzione delle fibre muscolari. Ciò appare chiaro sia all'osservazione di sezioni trasversali (fig. 11) che di sezioni longitudinali (figg. 13 e 15). Secondo Kawaguti e Ikemoto (1965) le fibrille collagene tra i fasci di fibre muscolari in *Stichopus japonicus* avrebbero un diametro di 100-300 Å ed un periodo di 200 Å. È possibile, soprattutto per quanto riguarda il periodo, che gli Autori giapponesi abbiano confuso le bande intraperiodo con il periodo vero e proprio. Tra le fibre collagene si trovano spesso numerosi granuli di glicogeno, che devono essere quasi certamente considerati di provenienza cellulare, diffusi negli spazi intercellulari in conseguenza di qualche rottura della membrana delle cellule nel corso della fissazione. È presente inoltre un materiale fibroso molto irregolare, che forma un intreccio lasso, con orientamento prevalente parallelo alla direzione delle fibre. Tale materiale si addensa attorno ai fasci di fibre muscolari, e corrisponde probabilmente alle sostanze di natura mucopolisaccaridica acida messa in evidenza da Freeman e Simon (1964).

In prossimità del margine cellulare, ed in rapporto a questo, si osservano frequentemente delle catene di vescicole con diametro variante tra 400 e 1000 Å. Queste catene sono orientate parallelamente alla direzione delle fibre muscolari, e non entrano mai nella porzione citoplasmatica ove sono contenuti i miofilamenti. Esse sembrano originarsi dalla membrana cellulare, e sono in effetti limitate da una membrana a tre strati di spessore identico a quella della cellula: per tale motivo possono essere considerate delle vescicole di pinocitosi (figg. 17 e 18). Secondo Kawaguti e Ikemoto (1965) si tratterebbe di vescicole di tipo sinattico, che penetrerebbero nella cellula per promuovere la contrazione. Sembra più probabile tuttavia che esse siano qualcosa di omologabile al sistema T dei muscoli striati; possono infatti essere intese da un punto di vista funzionale come introflessioni morfologicamente discontinue della membrana cellulare. In tal modo esse potrebbero trasferire l'eccitamento conseguente ad una depolarizzazione della membrana, all'interno della fibra muscolare. Tuttavia mentre nei muscoli striati il sistema T è funzionalmente legato al reticolo sarcoplasmatico e promuove in questo una liberazione di Ca^{++} responsabile dell'attivazione della ATPasi della miosina, nel muscolo delle oloturie non esiste un reticolo sarcoplasmatico. Il meccanismo con cui in questi muscoli viene indotta la contrazione, permane oscuro, in analogia del resto a quanto si verifica nei muscoli lisci dei Vertebrati.

I miofilamenti primari sono orientati quasi parallelamente alla direzione delle fibre muscolari, e tra di essi si trovano i miofilamenti secondari. La lunghezza di questi filamenti non può essere valutata con certezza, in quanto non è possibile determinare se essi terminano realmente, ovvero escono dal piano di sezione. Tra di essi si trovano sempre alcuni granuli di glicogeno (figg. 13 e 18). Considerando che il diametro dei miofilamenti primari è molto grande, e che esiste una certa somiglianza, almeno nella parte contrattile, tra i muscoli paramiosinici dei Molluschi e quelli delle oloturie, è logico chiedersi se anche in tale caso ci si trova di fronte a strutture di tipo paramiosinico. I miofilamenti paramiosinici dei Molluschi, osservati al microscopio elettronico in sezioni sottili longitudinali, presentano una tipica striatura trasversale od obliqua con un periodo minimo di 144 Å. Una immagine del genere non è mai stata osservata nelle sezioni dei muscoli delle oloturie, e ciò non può essere imputato ad una insufficiente risoluzione raggiunta in tale lavoro, poiché a lato dei miofilamenti appaiono chiaramente risolte le sottobande del collagene, e la struttura trilaminare della membrana cellulare. La tropomiosina A, responsabile delle strutture paramiosiniche, può tuttavia essere presente in quantità diverse nei differenti muscoli, e quindi può dare origine a strutture più o meno evidenti. Per tale motivo la mancanza della striatura trasversale tipica della paramiosina nei filamenti primari dei muscoli delle oloturie, non deve essere interpretata come una prova definitivamente negativa. Sono attualmente in corso ricerche di carattere biochimico e biofisico per risolvere in maniera conclusiva tale problema.

Come è stato detto nelle righe introduttive di tale nota, questo lavoro si inserisce in una serie di ricerche aventi lo scopo di analizzare l'ultrastruttura

dei muscoli nei diversi animali, con l'intento di cercare un'eventuale correlazione tra organizzazione strutturale dei sistemi contrattili e posizione sistemica degli animali stessi. Per tale motivo è prematuro attribuire un significato generale all'organizzazione strutturale che è stata descritta per i muscoli delle oloturie. È evidente infatti che un tentativo di risposta concreta al quesito proposto si potrà dare solo al termine di una lunga serie di osservazioni su materiale diverso.

LAVORI CITATI.

- BACCETTI B., *Tentativi di alte risoluzioni sul collagene degli Echinodermi*, « Boll. Biol. Sper. », (In corso di stampa).
- BENAZZI LENTATI G., *Sulla distribuzione del glicogeno e sulla glicemia vera degli Invertebrati*, « Arch. Zool. Ital. », Suppl. al Vol. 29 (« Attualità Zoologiche », 5) 35-69 (1941).
- BUDDENBROCK VON W., *Vergleichende Physiologie*, Bd. 5, Physiologie der Erfolgsorgane. Basel, Birkhäuser Verlag, p. 390 (1961).
- DEWEY M. M. e BARR L., *A study of the structure and distribution of the nexus*, « J. Cell. Biol. », 23, 553-585 (1964).
- FREEMAN W. P. e SIMON S. E., *The histology of holothuroidean muscle*, « J. Cell. Comp. Physiol. », 63, 25-31 (1964).
- GAY W. S. e SIMON S. E., *Metabolic control in holothuroidean muscle*, « Comp. Biochem. Physiol. », 11, 183-192 (1964).
- HAMANN O., *Beitrage zur Histologie der Echinodermen*, « Jena, Z. Med. Naturw. », 21, 87-266 (1887).
- HANSON J. e LOWY J., *The structure of the muscle fibres in the translucent part of the adductor of the oyster Crassostrea angulata*, « Proc. Roy. Soc., London », 154 B, 173-196 (1961).
- HYMAN L. H., *The Invertebrates. Echinodermata*. Vol. 4. MacGraw-Hill Book Co., Inc., New York and London, 1955, p. 219.
- KAWAGUTI S., *Electron microscopic structures of the podial wall of an Echinoid with special references to the nerve plexus and the muscle (Hemicentrotus pulcherrimus)*, « Biol. J. Okayama Univ. », 10, 1-12 (1964 a).
- KAWAGUTI S., *Electron microscopy on the intestinal wall of the sea-cucumber with special attention to its muscle and nerve plexus (Stichopus japonicus)*, « Biol. J. Okayama Univ. », 10, 39-50 (1964 b).
- KAWAGUTI S., *Electron microscopy on the ovarian wall of the Echinoid with special references to its muscles and nerve plexus (Hemicentrotus pulcherrimus)*, « Biol. J. Okayama Univ. », 11, 66-74 (1965 a).
- KAWAGUTI S., *Electron microscopy on the ampulla of the Echinoid (Hemicentrotus pulcherrimus)*, « Biol. J. Okayama Univ. », 11, 75-86 (1965 b).
- KAWAGUTI S. e KAMISHIMA Y., *Electron Microscopy on the spine muscle of the Echinoid (Anthodidaris crassispira)*, « Biol. J. Okayama Univ. », 11, 31-40 (1965).
- KAWAGUTI S. e IKEMOTO N., *Electron microscopy on the longitudinal muscle of the sea-cucumber (Stichopus japonicus)*, in: EBASHI S., OOSAWA F., SEKINE T. e TONOMURA Y., Eds., *Molecular Biology of muscular contraction*. Igaku Shoin Ltd., Tokyo, pp. 124-131 (1965).
- LANZAVECCHIA G., *Microscopia elettronica e zoologia*, « Boll. Zool. », 34, 57-92 (1965).
- MACRAE K. E., *Observation on the fine structure of pharyngeal muscle in the Planaria Dugesia Tigrina*, « J. Cell Biol. », 18, 651-662 (1963).
- MILLONIG G., Comunicazione personale.
- OLSON M., *The histology of the retractor muscles of Thyone briareus Leseur.*, « Biol. Bull., Woods Hole », 74, 342-347 (1938).

- PEACHEY L. D., *Structure of the longitudinal body muscles of Amphioxus*. « J. Biophys. Biochem. Cytol. », 10 suppl., 159-167 (1961).
- PIEZ K. A. e GROSS J., *The amino acid composition and morphology of some Invertebrate and Vertebrate collagens*, « Biochim. Biophys. Acta », 34, 24-39 (1959).
- PROSSER C. L., *Activation on a non-propagating muscle in Thyone*, « J. Cell. Comp. Physiol. », 44, 247-253 (1954).
- REYNOLDS E., *The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy*, « J. Cell Biol. », 17, 208-212 (1963).
- SIMON S. E., MULLER J. e DEWHURST D. J., *Ionic partition in holothuroidean muscle*, « J. Cell. Comp. Physiol. », 63, 77-84 (1964).
- TAO L., *Physiological characteristics of Caudina muscle, with some accounts on the innervation*, « Sci. Rep. Res. Insts. Tôhoku Univ. », ser. 4, 2, 265-392 (1927).
- WATSON M. R. e SILVESTER N. R., *Studies on Invertebrate collagen preparations*, « Biochem. J. », 71, 578-584 (1959).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-VI.

TAVOLA I.

- Fig. 1. - Sezione trasversale a piccolo ingrandimento. Sono visibili fibre a mutuo contatto, disposte in fasci separati da spazi con fibrille collagene (f). Ai margini di talune cellule si osservano delle ampie zone ricche di glicogeno (g). $\times 8.000$.
- Fig. 2. - Sezione trasversale. Aspetto degli ingranamenti tra le cellule; si vedono ammassi di glicogeno (g) e piccoli mitocondri (m). $\times 28.000$.
- Fig. 3. - Sezione trasversale. Ingranamenti molto complessi tra lembi citoplasmatici. $\times 24.000$.

TAVOLA II.

- Fig. 4. - Sezione trasversale. Le cellule appaiono strettamente incastrate tra di loro, ed è visibile un lungo velo citoplasmatico (\nearrow) che circonda la zona del nucleo (N) di una fibra muscolare adiacente. $\times 26.000$.
- Fig. 5. - Sezione trasversale. Aspetto a forte ingrandimento degli ingranamenti cellulari; è chiaramente visibile la struttura a tre strati della membrana cellulare. $\times 75.000$.

TAVOLA III.

- Fig. 6. - Sezione trasversale. Velo citoplasmatico che si insinua tra due cellule, ed assottigliato in modo che il citoplasma tra le due membrane viene ad essere del tutto assente. $\times 110.000$.
- Fig. 7. - Particolare della figura 6. È visibile chiaramente la struttura a tre strati delle membrane, e la caratteristica morfologia del sottile lembo citoplasmatico. Il citoplasma tra le due membrane è qui assente, fuorché in un piccolo punto (\nearrow), e lo strato opaco interno con il suo spessore di circa 50 \AA dimostra di essere il risultato dell'apposizione di due normali strati proteici. $\times 375.000$.
- Fig. 8. - Sezione trasversale. Limite tra due cellule ove non è possibile osservare materiale intercellulare. $\times 14.000$.
- Fig. 9. - Particolare della figura 8. La mancanza di materiale intercellulare determina la formazione di una struttura che sembra una giunzione pentalaminare. $\times 110.000$.
- Fig. 10. - Particolare della figura 9. Lo strato opaco interno è chiaramente più spesso di quelli laterali, per cui tale struttura non può essere considerata una vera giunzione pentalaminare. $\times 375.000$.

TAVOLA IV.

- Fig. 11. - Sezione trasversale. Particolare del limite tra due fasci di fibre. Lo spazio intercellulare è occupato da un gran numero di fibrille collagene, tutte sezionate trasversalmente. $\times 24.000$.
- Fig. 12. - Sezione trasversale. Aspetto dei rapporti reciproci tra miofilamenti primari e secondari. Entrambi sono disposti con irregolarità, ma talvolta attorno ai filamenti primari è possibile vedere una corona di 10-12 filamenti secondari (\nearrow). $\times 88.000$.

TAVOLA V.

- Fig. 13. - Sezione longitudinale. La porzione centrale delle fibre contiene i miofilamenti mentre le ali citoplasmatiche sono ricche di glicogeno. In basso a sinistra vi è un ampio spazio intercellulare contenente fibrille collagene. $\times 19.000$.
- Fig. 14. - Sezione longitudinale. Aspetto tipico degli ingranamenti delle ali citoplasmatiche di due fibre adiacenti (m = mitocondri). $\times 14.000$.
- Fig. 15. - Sezione longitudinale. Fibrille collagene sezionate per il lungo che mostrano alcune bande intraperiodo. $\times 125.000$.

TAVOLA VI.

- Fig. 16. - Fibrille collagene isolate e colorate positivamente con acetato di uranile. Il periodo è qui di circa 700 \AA e sono visibili dieci bande intraperiodo. $\times 125.000$.
- Fig. 17. - Sezione longitudinale. Aspetto delle vescicole disposte in serie sui margini delle cellule. È evidente la struttura trilaminare della loro membrana, di spessore identico a quello della membrana cellulare. $\times 75.000$.
- Fig. 18. - Sezione longitudinale. I miofilamenti primari e secondari sono distribuiti senza un ordine particolare e tra di essi si osservano dei granuli di glicogeno. Sul margine della cellula sono visibili numerose vescicole. $\times 75.000$.











