
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIULIO LANZAVECCHIA

**Studi sulla muscolatura elicoidale e paramiosinica.
Nota IV. La muscolatura longitudinale e circolare
della parete corporea degli Anellidi Tubificidi**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 50 (1971), n.1, p. 50-56.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_50_1_50_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. — *Studi sulla muscolatura elicoidale e paramiosinica.*
Nota IV. *La muscolatura longitudinale e circolare della parete corporea degli Anellidi Tubificidi.* Nota (*) di GIULIO LANZAVECCHIA, presentata (**) dal Corrisp. S. RANZI.

SUMMARY. — This paper deals with the body wall helical muscles of *Tubificidae* (*Annelida*, *Oligochaeta*). The majority of the longitudinal muscles are ribbonlike; their primary myofilaments are $6\ \mu$ long and $300\ \text{Å}$ thick; the secondary-primary filament ratio is about 7-8. Another kind of longitudinal muscle can be seen close to the basement membrane: they show a triangle-like section, and are easily recognizable because of the diameter of primary myofilaments (up to $600\ \text{Å}$), while the secondary-primary filament ratio is 15-16. The circular muscles are even more irregular, and they do not show a definite helical structure, though in transverse sections A and I zones are evident, with primary filaments $500-600\ \text{Å}$ in diameter, and a very great number of the secondary ones.

Sebbene i muscoli elicoidali e a striatura doppia obliqua siano ben noti nelle loro linee generali (per una bibliografia ed una descrizione essenziale si rimanda alla prima nota di questa serie: Lanzavecchia, 1968 a), meno note sono ovviamente le modulazioni morfologiche che si possono mettere in evidenza in muscoli di questo tipo, sia in animali diversi, sia nello stesso animale in diversi distretti corporei. Una dettagliata conoscenza di queste variazioni morfologiche più o meno grandi, se accoppiata alla possibilità di attribuire ad ogni tipo di muscolo una precisa funzione, potrà ovviamente contribuire ad una migliore interpretazione del meccanismo di contrazione di questa categoria di muscoli. In vista di una tale eventualità è stata presa in esame la muscolatura circolare e longitudinale della parete corporea degli Anellidi Tubificidi, ove si osservano fibre di aspetto differente, anche se tutte facilmente riconducibili allo schema generale del tipo elicoidale.

Esemplari di *Tubifex tubifex* L. e *Limnodrilus udekemianus* Claparede, sono stati fissati in condizioni di completa distensione, e di contrazione massima o media. Nel primo caso gli animali sono stati brevemente addormentati in alcool etilico 5%, e quindi bloccati su di un'asticella di legno, prima della fissazione. Gli animali possono essere legati all'asticella in modo da consentire, al loro risveglio, il grado desiderato di contrazione, e fissati poi in queste condizioni. Se gli animali vengono fissati senza alcun trattamento, si contraggono al massimo delle loro possibilità. La fissazione è stata fatta in aldeide glutarica 3% in tampone cacodilato 0,1 Mol. a pH 7,2, e CaCl_2 0,003 Mol. per due ore. Dopo lavaggio in tampone cacodilato 0,1 Mol. e glucosio 10%, si fissa ulteriormente per due ore in acido osmico 1% in tampone fosfati pH 7,2. Durante la disidratazione gli animali, tagliati in brevi segmenti, sono stati precolorati con acetato di uranile. I preparati inclusi in una miscela di Epon 812 e Araldite sono stati sezionati con gli ultramicrotomi Ultrotome I ovvero III LKB, e dopo colorazione con citrato di Pb sono stati osservati con i microscopi elettronici Hitachi HS-7 e Hitachi HU-11 ES.

(*) Ricerche eseguite nell'Istituto di Zoologia dell'Università di Milano. Contratto del C.N.R. n. 69.02309.0.115.3607.

(**) Nella seduta del 12 dicembre 1970.

I muscoli della parete corporea dei Tubificidi sono disposti in due strati regolari, immediatamente al disotto dell'epitelio di rivestimento. Quest'ultimo è tipicamente monostratificato, è costituito da diversi tipi cellulari, ed è ricoperto dalla caratteristica cuticola esterna. Alla base dell'epitelio vi è una sottile membrana basale, ed immediatamente al disotto di essa si trova uno strato discontinuo di fibre circolari, che poggiano a loro volta su di un'altra membrana basale, di maggiore spessore. Vi è quindi uno spesso strato unicellulare di fibre longitudinali (Tav. I, fig. 1; Tav. II, fig. 3). Queste ultime formano un involucri continuo, e sono separate dalla cavità del corpo per mezzo di un sottile ed estremamente irregolare rivestimento celomatico (Tav. I, fig. 2). Poiché non sono state rilevate differenze nella muscolatura delle due specie studiate, i dati presentati in questa Nota si riferiscono indifferentemente ad osservazioni compiute sull'una o sull'altra di esse.

Fibre longitudinali. Quasi tutte le fibre longitudinali sono nastriformi: sono infatti molto appiattite, ed in sezione trasversale presentano l'aspetto di ellissi irregolari ed allungate, con un diametro maggiore di 10–30 μ , ed un diametro minore di appena 2–4 μ (Tav. II, fig. 3). Il diametro maggiore è sempre orientato perpendicolarmente alla superficie del corpo. La parte contrattile vera e propria è rivolta verso la parete corporea, e prende contatto con la membrana basale che divide i muscoli longitudinali da quelli circolari mediante un'espansione citoplasmatica più o meno larga. Questa termina in genere con una formazione dilatata dall'aspetto di un emidesmosoma, cui giungono fasci di filamenti dello scheletro intracellulare, il cui sviluppo è tuttavia assai modesto (Tav. IV, fig. 8). La parte della fibra rivolta verso la cavità celomatica si allarga a costituire un'ampia regione di forma irregolare, che si insinua tra i prolungamenti delle cellule del mesotelio (Tav. IV, fig. 7). In questa regione oltre al nucleo si osserva un'enorme quantità di particelle di glicogeno, prevalentemente di tipo α . Granuli α di glicogeno si trovano anche in notevole quantità nelle propaggini citoplasmatiche irregolari che si osservano qua e là lungo la superficie delle fibre, e talvolta anche lungo i lati delle fibre stesse (Tav. I, fig. 2; Tav. II, fig. 3; Tav. VI, fig. 12). Particelle β di glicogeno sono meno frequenti. I mitocondri, di forma assolutamente normale, sono localizzati in prevalenza al limite tra la regione contrattile e quella nucleare, ricca di glicogeno (Tav. V, fig. 9), ma si possono facilmente osservare anche in altri distretti (Tav. II, fig. 3). Non sono mai stati osservati all'interno della parte contrattile, ed in complesso sono piuttosto scarsi, il che sembra indicare che questi muscoli svolgono un'attività modesta; essi posseggono comunque un'abbondante riserva energetica sotto forma di glicogeno, ed è quindi probabile che possano svolgere un lavoro prolungato anche in condizioni di scarsa ossigenazione dell'acqua.

La parte contrattile mostra chiaramente la sua organizzazione di tipo elicoidale nelle sezioni trasversali. È infatti visibile la successione regolare di bande o zone A ed I, tipica dei muscoli di questa categoria quando vengono osservati in queste condizioni di orientamento (Tav. II, fig. 3; Tav. III, fig. 6);

una simile distribuzione si mette in evidenza nei muscoli decontratti. In corrispondenza del diametro maggiore dell'ellissi del muscolo (sempre in sezione trasversale) si può individuare, con facilità più o meno grande, una linea determinata dalla disposizione relativa dei « sarcomeri » (Tav. II, fig. 3), o da una caratteristica disposizione dei tubuli del reticolo (Tav. III, fig. 6). Tale linea corrisponde al piano sagittale che divide la fibra nelle due metà caratterizzate da una striatura obliqua diretta in senso opposto; ai punti estremi dell'ellisse, rivolti uno verso la membrana basale e l'altro verso la cavità celomatica, i « sarcomeri » presentano spesso una disposizione radiale (Tav. II, fig. 3, \nearrow) in accordo con quanto è stato illustrato da Bouligand (1966) a proposito delle relazioni esistenti tra muscoli elicoidali a sezione rotonda e con regione citoplasmatica non contrattile centrale, muscoli a striatura doppia obliqua, a sezione ellittica e senza citoplasma centrale, derivati dai primi in seguito ad una specie di processo di compressione laterale.

Al centro di ogni banda I si osservano sia elementi Z, che appaiono come formazioni dense digitiformi del diametro di 200–300 Å, sia tubuli del reticolo sarcoplasmatico, che prendono origine dalle cisterne subsarcolemmali, disposte con una certa regolarità alla periferia di ogni fibra (Tav. II, fig. 3). La disposizione degli elementi Z e dei tubuli del reticolo è praticamente uguale a quella descritta per i muscoli di *Lumbricus* (Lanzavecchia, 1968 a); le due strutture presentano comunque un andamento sinuoso, per cui facilmente escono dal piano di sezione. I tubuli del reticolo appaiono talvolta continui attraverso il piano che in sezione trasversale divide ogni fibra in due metà con striatura orientata secondo direzioni opposte (Tav. III, fig. 4). Una tale continuità morfologica può essere compatibile soltanto con il fatto che la contrazione si realizzi secondo le modalità precedentemente illustrate (Lanzavecchia, 1968 b), e quindi che i rapporti tra le strutture giacenti in ogni strato della fibra perpendicolare all'asse maggiore di questa rimangano invariati.

Le cisterne subsarcolemmali sono frequentissime lungo i margini della fibra, e sono chiaramente continue con uno o più tubuli del reticolo (Tav. III, fig. 5). La loro probabile analogia con le diadi e le triadi delle fibre muscolari di Insetti e Vertebrati è stata analizzata con cura da Rosenbluth (1968, 1969); la presenza di materiale denso agli elettroni tra la membrana esterna della fibra, e quella della cisterna, è chiaramente in favore di questa ipotesi (Tav. V, fig. 10). La mancanza di un sistema T può ovviamente essere correlata all'aspetto nastriforme delle fibre di questi muscoli, per cui non è necessario provvedere ad un sistema di invaginazioni della membrana cellulare, in modo da far giungere l'eccitamento (depolarizzazione del sarcolemma) al centro della fibra stessa. Lo spessore di questa è infatti dello stesso ordine di grandezza di quello delle miofibrille dei muscoli striati normali (o poco superiore), per cui la presenza del sistema T appare inutile.

Anche le piccole fibre atriali del miocardio di gatto hanno un sistema T praticamente assente, e cisterne subsarcolemmali (Mc Nutt e Fawcett, 1969).

Sempre in sezione trasversale, e nel muscolo decontratto, la distanza tra due elementi Z successivi è di circa 0,30–0,35 μ , e le zone A ed I mostrano

pressapoco la stessa ampiezza. I filamenti primari sono disposti secondo uno schema esagonale abbastanza impreciso in tre o quattro linee, ed il loro diametro è di circa 300 Å al centro della zona A, e si riduce alla periferia; ciò significa che questi filamenti presentano una regione centrale di diametro uniforme, e vanno assottigliandosi alle loro estremità. I filamenti secondari hanno un diametro di 70-80 Å, e sono disposti in modo irregolare, formando delle corone irregolari attorno ai primari, costituite da 12-15 elementi (ove le misurazioni sono possibili). Il rapporto tra filamenti secondari e primari è uguale a 7-8, come in *Lumbricus*, e tale alto valore non può essere imputato ad una sovrapposizione dei filamenti di actina al centro del sarcomero, in quanto è chiaramente visibile una zona H priva di filamenti secondari (Tav. III, fig. 6).

Nei muscoli contratti l'ampiezza del sarcomero aumenta fino a 0,40-0,45 μ (misurata da un elemento Z al successivo), in conseguenza del fatto che la distanza tra i filamenti aumenta con la contrazione, onde mantenere uguale il volume della fibra. In ciascun « sarcomero » inoltre il numero delle serie di filamenti primari sale a 7-8, il che indica un diverso sfasamento in senso longitudinale. La banda I non è più visibile, in quanto i filamenti primari giungono a ridosso degli elementi Z, senza tuttavia scavalcarli. I filamenti secondari sono sempre disposti con irregolarità, ed il rapporto tra essi ed i primari sale a valori molto elevati (14-15). In queste condizioni non è più visibile la zona H, ed il numero di filamenti secondari così elevato deve essere interpretato come conseguenza di una sovrapposizione al centro del sarcomero (Tav. V, fig. 11).

Nelle sezioni longitudinali la morfologia di questi muscoli è studiabile con difficoltà, in quanto sono sufficienti piccole variazioni nel piano della sezione rispetto all'asse longitudinale del muscolo stesso, o all'asse maggiore della sezione trasversale della fibra, per determinare grandi variazioni nell'apparenza dell'inclinazione della striatura, secondo quanto è stato ben illustrato da Rosenbluth (1965) nei muscoli di *Ascaris*. La lunghezza dei filamenti primari non è facilmente determinabile, in quanto essi difficilmente giacciono per intero nel piano della sezione. Una lunga serie di osservazioni fa tuttavia pensare che essa si aggiri sui 6 μ . Sulla base di questo valore e dell'ampiezza del « sarcomero » in sezione trasversale, si può calcolare l'angolo di inclinazione della striatura: nella fibra in riposo tale angolo è di 1°35', e sale a 4° nei muscoli contratti (questi valori sono uguali a quelli osservati in *Lumbricus*). Sempre nelle sezioni longitudinali appare evidente l'alternanza tra elementi Z e tubuli del reticolo, e sono pure evidenziabili le relazioni che intercorrono tra fibre adiacenti (Tav. VI, fig. 12). Le estroflessioni laterali ricche di glicogeno appaiono fortemente uncinata tra loro, a costituire una sorta di cerniera pressoché continua tra le fibre, conferendo così una certa rigidità all'intera parete muscolare.

Tra i muscoli ora descritti se ne osservano altri, sempre longitudinali, di più piccole dimensioni e di aspetto caratteristico: nella loro forma più tipica hanno una sezione pressapoco triangolare, con la base del triangolo

addossata alla membrana basale che li separa dai muscoli circolari. Oltre che per la forma, si riconoscono anche per il fatto di avere « sarcomeri » più irregolari ed ampi, e filamenti primari di diametro maggiore (fino a 600 Å). Il rapporto tra filamenti secondari e primari è singolarmente alto, e può raggiungere il valore di 15-16 in muscoli completamente rilasciati (come può dedursi dalla presenza di bande A e I ben distinte, e di evidenti zone H) (Tav. II, fig. 3; Tav. VI, fig. 13). Le bande I appaiono divise pressapoco a metà da elementi Z molto irregolari, che prendono contatto con la membrana cellulare mediante espansioni allargate. Gli elementi del reticolo sarcoplasmatico sono scarsi, e poco numerose sono pure le cisterne subsarcolemmali. L'ampiezza delle bande I è sensibilmente superiore a quella delle bande A, il che teoricamente può consentire una contrazione superiore al 50 %; le immagini di questi muscoli in condizione contratta non sono tuttavia chiare, e non permettono di esprimere delle ipotesi sulle loro proprietà contrattili. Non è stato neppure possibile misurare con precisione la lunghezza dei filamenti primari, che non sembrano tuttavia essere più brevi di 10 μ .

Fibre circolari. Sono di piccole dimensioni, con contorno ovale o anche irregolare, e talvolta unite tra loro a coppie (Tav. VII, fig. 14); formano un sottile strato discontinuo immediatamente al disotto dell'epidermide, ed in sezioni trasversali (longitudinali rispetto all'asse del verme) ricordano le fibre longitudinali a sezione triangolare. Come questi presentano una disposizione irregolare dei due tipi di miofilamenti, ed un elevato (15-16) rapporto tra quelli secondari e quelli primari (Tav. VII, fig. 15). Anche in queste fibre i filamenti primari hanno un diametro che raggiunge i 600 Å, e spesso una sezione ovale o a biscotto nelle sezioni trasversali, che fa pensare alla possibilità di una fusione tra due filamenti.

I filamenti primari delle tre categorie di muscoli osservati presentano in sezione longitudinale una struttura trasversale, sia pure non molto regolare, con un periodo di 70-80 Å; è quindi probabile che contengano strutture di tipo paramiosinico (Tav. VI, fig. 12 a).

Tenendo tuttavia conto delle analogie esistenti tra l'organizzazione macromolecolare dei sistemi miosinici e paramiosinici, e delle difficoltà che derivano, in ricerche del genere, dalla semplice osservazione con la tecnica delle sezioni, è opportuno studiare questo problema con maggior cura, ricorrendo all'analisi di miofilamenti isolati.

Le osservazioni compiute sui muscoli elicoidali di *Tubifex* e *Limnodrilus* confermano quanto è stato già detto a proposito dei muscoli di *Lumbricus* (Lanzavecchia, 1968 a) e di quelli elicoidali in genere (Lanzavecchia, 1968 b), sia per quanto concerne le variazioni nella disposizione dei diversi elementi strutturali nel corso della contrazione, sia a proposito del significato funzionale degli elementi Z.

Basandosi solo sui dati morfologici presentati, e quindi in mancanza di ogni più precisa e diretta conoscenza sulla fisiologia della contrazione delle

diverse categorie di muscoli, è possibile avanzare l'ipotesi che i muscoli elicoidali a sezione ellittica allungata siano implicati nella determinazione dei movimenti ondulanti e continui del verme, mentre quelli a sezione triangolare siano legati alla lenta contrazione tonica, per la penetrazione nel fango. Il primo tipo di muscoli infatti, in quanto possiede sarcomeri relativamente più corti, ed un minore rapporto tra i due tipi di miofilamenti, sembra doversi contrarre con maggiore velocità (Lanzavecchia, 1967), mentre i muscoli a sezione triangolare, avendo miofilamenti primari molto più lunghi, devono teoricamente contrarsi, ferme restando tutte le altre condizioni, con velocità proporzionalmente minore. L'elevatissimo rapporto tra miofilamenti secondari e primari porta inoltre ad un ulteriore incremento del numero di ponti agenti in parallelo, capaci cioè di aumentare la tensione sviluppabile dal muscolo.

LAVORI CITATI

- BOULIGAND Y., *La disposition des myofilaments chez une Annélide Polychète*, « J. Microscopie », 5, 305-322 (1966).
- LANZAVECCHIA G., *Analisi comparata ultrastrutturale dei sistemi contrattili*, « Istituto Lombardo (Rend. Sc.) » B 101, 233-328 (1967).
- LANZAVECCHIA G., *Studi sulla muscolatura elicoidale e paramiosinica*. - Nota I. *Morfologia ultrastrutturale dei muscoli longitudinali di Lumbricus terrestris L.*, « Accad. Naz. Lincei (Rend. Sci. fis. mat. nat.) », 44, 448-454 (1968 a).
- LANZAVECCHIA G., *Studi sulla muscolatura elicoidale e paramiosinica*. - Nota II. *Meccanismo di contrazione dei muscoli elicoidali*, « Accad. Naz. Lincei (Rend. Sci. fis. mat. nat.) », 44, 575-583 (1968 b).
- MC NUTT N. S. and FAWCETT D. W., *The ultrastructure of the Cat myocardium. II. Atrial muscle*, « J. Cell Biol. », 42, 46-67 (1969).
- ROSENBLUTH J., *Ultrastructural organization of obliquely striated muscle fibers in Ascaris lumbricoides*, « J. Cell Biol. », 25, 495-515 (1965).
- ROSENBLUTH J., *Obliquely striated muscle. IV - Sarcoplasmic reticulum, contractile apparatus, and endomysium of the body muscle of a Polychaete, Glycera, in relation to its speed*, « J. Cell Biol. », 36, 245-259 (1968).
- ROSENBLUTH J., *Ultrastructure of dyads in muscle fibers of Ascaris lumbricoides*, « J. Cell Biol. », 42, 817-825 (1969).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-VII

TAVOLA I

- Fig. 1. - Sotto l'epitelio monostratificato si osservano alcune fibre circolari (C) sezionate trasversalmente, e la parte periferica delle fibre longitudinali (L). $\times 6.500$.
- Fig. 2. - Fibre longitudinali verso la cavità celomatica. Sulla sinistra è visibile il sistema di incastri che unisce due fibre. $\times 6.500$.

TAVOLA II

- Fig. 3. - In alto è visibile un particolare di una fibra circolare sezionata longitudinalmente (C). Sotto la membrana basale (*m.b.*) si osservano numerose fibre longitudinali in sezione trasversale. Due di esse (T) hanno una tipica forma tringolare. È visibile talvolta la disposizione radiale dei « sarcomeri » al margine estremo delle fibre (\nearrow). *g* = glicogeno; *m* = mitocondri. $\times 25.000$.

TAVOLA III

- Fig. 4. - Fibra longitudinale decontratta in sezione trasversale. Un tubulo del reticolo attraversa completamente la fibra. $\times 63.000$.
- Fig. 5. - È visibile una cisterna subsarcolemmale da cui partono due tubuli del reticolo. $\times 78.000$.
- Fig. 6. - Fibra longitudinale decontratta in sezione trasversale. Si nota la successione delle bande dei « sarcomeri », la disposizione dei tubuli e degli elementi Z. Al centro della fibra si distingue il piano sagittale che la divide in due metà, con striatura ad orientamento invertito (\nearrow). $\times 36.000$.

TAVOLA IV

- Fig. 7. - Parte profonda della fibra, verso la cavità celomatica. Si osserva la regione nucleare, con glicogeno molto abbondante. $\times 24.000$.
- Fig. 8. - Modalità di attacco delle fibre longitudinali sulla membrana basale; si osservano espansioni cellulari terminanti con emidesmosomi. $\times 40.000$.

TAVOLA V

- Fig. 9. - Gruppo di mitocondri, concentrati tra la regione contrattile e la zona citoplasmatica ricca di glicogeno. $\times 40.000$.
- Fig. 10. - Particolare di una cisterna subsarcolemmale, con materiale osmiofilo tra membrana cellulare e membrana della cisterna. $\times 200.000$.
- Fig. 11. - Fibra longitudinale fortemente contratta, in sezione trasversale, con evidenti sovrapposizioni di filamenti secondari di due « sarcomeri » adiacenti. Sono visibili corone regolari di 10-12 filamenti secondari attorno ad un primario. $\times 130.000$.

TAVOLA VI

- Fig. 12. - Fibra longitudinale in sezione longitudinale, con tubuli del reticolo ed elementi Z sezionati trasversalmente. In alto a destra immagini di incastro tra lembi citoplasmatici di due fibre, con numerosi granuli di glicogeno. $\times 21.000$.
- Fig. 12 a. - Particolare di miofilamenti primari, con periodo di 70-80 Å. $\times 145.000$.
- Fig. 13. - Sezione trasversale di muscolo « triangolare » decontratto. Sono evidenti il grande diametro dei filamenti primari, l'elevatissimo numero dei secondari, l'aspetto irregolare degli elementi Z e la quasi totale assenza del reticolo. $\times 105.000$.

TAVOLA VII

- Fig. 14. - Fibre circolari in sezione trasversale. $\times 25.000$.
- Fig. 15. - Particolare di fibra circolare in sezione trasversale. Il suo aspetto è molto simile a quello delle fibre « triangolari ». $\times 130.000$.













