
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

DANIELA CANDIA CARNEVALI, ABELE SAITA

**Osservazioni sulla ultrastruttura dei muscoli
intersegmentali e delle giunzioni neuro-muscolari di
Himantarium gabrielis L. (Myriapoda, Chilopoda)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 57 (1974), n.1-2, p.
126–132.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_57_1-2_126_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. — *Osservazioni sulla ultrastruttura dei muscoli intersegmentali e delle giunzioni neuro-muscolari di Himantarium gabrielis L. (Myriapoda, Chilopoda)* (*). Nota (**) di M. DANIELA CANDIA CARNEVALI e ABELE SAITA, presentata dal Socio S. RANZI.

SUMMARY. — Intersegmental muscle fibers of *Himantarium gabrielis* are investigated by electron microscopy. The distribution of myofibrils and mitochondria, the relationships between cell membranes, sarcoplasmic reticulum and T-system tubules, are described in longitudinal and transversal sections of contracted and stretched fibers.

Neuromuscular junctions appear numerous on each fiber. At the region of nerve-muscle contact basement membranes of lemnoblast cover several axons. At the synaptic regions the plasma membranes of axon and of muscle fiber are closely apposed.

In un tipo zoologico vasto come quello degli Artropodi, in cui ciascun gruppo animale presenta delle specializzazioni caratteristiche, la morfologia ultrastrutturale dei sistemi muscolari, per altro ormai ben nota nelle sue linee generali, continua a prestarsi a sempre nuove indagini, soprattutto per quanto riguarda le svariate modulazioni e differenziazioni presentate dai diversi animali sia in rapporto alle differenti prestazioni funzionali, sia in rapporto alla diversa evoluzione delle varie specie (Lanzavecchia, 1967).

Lo studio dell'ultrastruttura dei muscoli di *Himantarium gabrielis*, Chilopode Anamorfo, inserendosi nel contesto del più ampio discorso che abbraccia i sistemi contrattili di tutti gli Artropodi, permette un confronto con i dati già esistenti, e invero un po' frammentari, sui Miriapodi.

Le attuali conoscenze sulla morfologia dei sistemi contrattili dei Miriapodi sono dovute alle osservazioni condotte su un limitato numero di specie, appartenenti ai Chilopodi: *Scolopendra cingulata* (Camatini e Saita, 1967), *Scutigera coleoptrata* (Camatini e Saita, 1968), *Lithobius forficatus* (Camatini e Saita, 1969) e ai Diplopodi: *Glomeris* e *Iulus* (Saita, 1969). È chiaro quindi che i risultati ottenuti finora non consentono di trarre conclusioni definitive che valgano per tutto il gruppo dei Miriapodi; la presente ricerca permette tuttavia di ampliare il quadro per quanto riguarda i Chilopodi, che risultano una classe abbastanza omogenea, almeno per quello che concerne l'ultrastruttura dei muscoli.

Come per gli Insetti, anche nei Chilopodi è possibile suddividere genericamente i sistemi muscolari in fibre « viscerali », devolute al controllo degli organi disposti nell'emocele, e fibre « scheletriche », responsabili di tutti i movimenti che coinvolgono l'esoscheletro (Smith, 1966).

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia dell'Università statale di Milano. Contratto dal C.N.R. n. 73.00524.04.115.3607.

(**) Pervenuta all'Accademia il 19 luglio 1974.

Nell'ambito della muscolatura scheletrica è stato possibile mettere in evidenza negli Insetti più tipi di fibre nello stesso animale, differenti sia da un punto di vista fisiologico, sia da un punto di vista morfologico; ricordiamo, ad esempio, la diversa struttura e distribuzione dei filamenti nei muscoli sincroni e asincroni del volo rispetto ai muscoli a contrazione tonica dell'addome.

I fasci muscolari dei Miriapodi esaminati, invece, pur essendo prelevati da distretti corporei diversi, mostrano una maggiore uniformità: anche se è possibile, infatti, mettere in evidenza differenziazioni ultrastrutturali di poco rilievo nella morfologia delle fibre muscolari, soprattutto relativamente alla forma delle miofibrille, alla lunghezza del filamento primario, alla distribuzione e al numero dei mitocondri, non sono state osservate differenze notevoli che giustifichino la possibilità di funzionalità molto dissimili (Camatini e Saita, 1969).

In generale i muscoli dei Miriapodi, pur presentando delle particolarità caratteristiche, ricordano abbastanza da vicino quelli a contrazione tonica degli Insetti (Pasquali-Ronchetti, 1968, 1970; McNeill e coll., 1972; Candia Carnevali e Valvassori, 1973).

Sono stati esaminati esemplari adulti di *Himantarium gabrielis*: gli animali sono stati assicurati ad un supporto di legno in vari gradi di stiramento, in modo da evitare la contrazione muscolare, previa iniezione all'interno del corpo di una certa quantità di fissativo (glutaraldeide 3% in tampone fosfati pH 7). Sono poi stati aperti lungo la linea mediana ventrale e si è iniettato del nuovo fissativo all'interno del corpo. Una volta eliminati i visceri, si è messa a nudo la muscolatura, mantenendo sempre i muscoli in stato di tensione per circa 30 minuti. I muscoli sono stati quindi tagliati in frammenti e ulteriormente fissati per circa due ore. Dopo un breve lavaggio in tampone, i pezzi sono stati postfissati in acido osmico 1% pH 7 in tampone fosfati.

Altre fissazioni sono state eseguite con S-collidina secondo il metodo di Karnowsky. La disidratazione e l'inclusione di Epon-Araldite sono state eseguite secondo i metodi usuali. Le sezioni sono state ottenute con ultramicrotomo Ultratome LKB I e III e dopo colorazione con citrato di piombo sono state osservate al microscopio elettronico Hitachi HS-11 ES e HS-8.

Ultrastruttura della fibra muscolare. - In *Himantarium*, come negli altri Miriapodi, i sistemi muscolari sono tutti di tipo striato. Per la presente ricerca sono stati esaminati in particolare i muscoli intersegmentali che costituiscono dei piccoli fasci giacenti da un segmento all'altro più o meno paralleli all'asse corporeo dell'animale. Le osservazioni sono state condotte principalmente sui fasci della muscolatura dorsale e sui fasci intersegmentali laterali. Si sono scelti questi fasci muscolari perché più facilmente individuabili per le maggiori omologie con i fasci intersegmentali degli altri Chilopodi (Demange, 1967).

Le singole fibre muscolari presentano forma più o meno ellittica e dimensioni abbastanza costanti (diametro maggiore di circa 16-18 micron, diametro minore di circa 10-12 micron) e costituiscono dei fascetti piuttosto isolati gli uni dagli altri; in generale si tratta di fibre di tipo tubulare, cioè con più nuclei disposti in posizione centrale, allineati nel senso della lunghezza delle fibre

(Tav. I, fig. 1). Queste, al microscopio elettronico, in sezione trasversale, mostrano una tipica suddivisione in un gran numero di miofibrille, con profilo molto allungato, disposte radialmente alla periferia della fibra; le miofibrille, piuttosto regolari, sia di disposizione che di forma e dimensioni (il diametro trasverso, che è costante, misura in media 0,8-1 micron circa), tendono a confluire l'una nell'altra verso il centro della fibra (Tav. IV, fig. 6).

In periferia il limite dei vari campi miofibrillari è segnato dalle profonde invaginazioni del sarcolemma costituenti il sistema T, mentre verso la parte più profonda della fibra le miofibrille appaiono delimitate irregolarmente da vescicole e cisterne del reticolo sarcoplasmatico, che le avvolgono in maniera più o meno continua prendendo frequenti rapporti con i tubuli del sistema T.

Il reticolo sarcoplasmatico, la cui distribuzione in tubuli e cisterne fenestrate risulta evidente soprattutto dalle sezioni longitudinali, pur essendo sempre abbondante intorno a tutta la miofibrilla, è particolarmente sviluppato intorno alla banda A; per quanto riguarda il sistema trasverso, invece, sembra che quest'ultimo si introfletta, di preferenza, a livello della zona di transizione fra A e I in quasi tutti i sarcomeri. Di conseguenza si avrà una localizzazione preferenziale in questa stessa zona delle diadi, risultanti dall'appaiamento dei due sistemi di membrane. Piuttosto caratteristica risulta l'estensione in superficie di alcune diadi, le cui membrane appaiono sviluppate in maniera singolare (Tav. III, fig. 5).

Nelle sezioni longitudinali (Tav. II, fig. 3 e 4), analogamente a quanto si osserva nei muscoli intersegmentali degli Insetti, anche in questi Chilopodi troviamo sarcomeri abbastanza lunghi; le dimensioni precise sono però difficilmente calcolabili a causa del diverso stadio di contrazione dei muscoli al momento della fissazione; in ogni caso la lunghezza del sarcomero oscilla fra i 6-7 micron circa in muscoli normalmente contratti, e i 10 micron circa in muscoli sottoposti a stiramento. Più omogenei e, quindi, più rilevanti sono i dati ottenuti misurando la lunghezza del filamento primario, che risulta di 5,5-6 micron circa.

Nelle sezioni longitudinali è evidente la tipica successione della bandatura del sarcomero: come per i muscoli intersegmentali degli Insetti, però, è piuttosto difficile distinguere la banda H ben distribuita rispetto ad una stria M. Ciò probabilmente dipende dal fatto che nello scorrimento i filamenti secondari, sia nella contrazione che nella decontrazione, non si mantengono perfettamente allineati. Le strie Z sono generalmente in registro.

A livello delle bande I si trovano prevalentemente localizzati i mitocondri, abbastanza numerosi e, in sezione longitudinale, di forma allungata (Tav. II, fig. 3). Essi, che in sezione trasversale risultano distribuiti fra una miofibrilla e l'altra, ma sempre in prossimità delle zone in cui la sezione colpisce la banda I, presentano forme e dimensioni perlopiù costanti e un sistema di creste abbastanza sviluppato (Tav. I, fig. 2).

I mitocondri, in particolare, rappresentano uno dei pochi elementi di discriminazione fra i vari sistemi di fibre muscolari studiati: dalle sezioni

effettuate sulla muscolatura laterale, sembra infatti che essi siano distribuiti con maggiore frequenza e con un orientamento meno ordinato e preciso di quanto riscontrato nei muscoli intersegmentali dorsali (Tav. IV, fig. 6). In ogni caso, però, i mitocondri, date le loro ridotte dimensioni e il loro confinamento in regioni limitate delle miofibrille, occupano un volume piuttosto trascurabile nelle fibre studiate, per cui se ne deduce che anche l'attività realizzata da questi muscoli sia abbastanza modesta e poco prolungata nel tempo. Nei muscoli dotati di altissime frequenze di contrazione, e quindi con attività intensissima, i mitocondri possono, infatti, raggiungere anche il 70% del volume totale della fibra, ad esempio, nei muscoli del volo di *Tenebrio molitor* (Smith, 1961).

In sezione trasversale sono particolarmente evidenti la distribuzione e il rapporto reciproco tra miofilamenti primari e secondari (Tav. III, fig. 5). Come già detto, sotto questo aspetto, i muscoli dei Chilopodi ricordano abbastanza da vicino quelli di tipo tonico degli Insetti: lo schema rigidamente esagonale dei miofilamenti primari osservato in questi ultimi non si riscontra tuttavia altrettanto evidente nei muscoli intersegmentali di *Himantarium*, dove in generale la disposizione geometrica dei miofilamenti appare alquanto irregolare. Nelle sezioni che interessano la banda A, i miofilamenti primari appaiono circondati da corone di circa 10-12 miofilamenti secondari, in maniera da far sì che il rapporto reciproco fra primari e secondari sia di circa 1:6.

In ogni caso anche i miofilamenti secondari sono disposti con una certa irregolarità, per cui più che delle vere e proprie corone essi formano degli aggruppamenti più o meno disordinati intorno ai miofilamenti spessi.

L'abbondanza dei miofilamenti secondari non è certo dovuta alla formazione di zone di sovrapposizione in conseguenza a supercontrazione, perché è facile colpire, nella stessa sezione, bande A e H, la cui presenza esclude quest'ultima ipotesi: inoltre, in fibre in particolare stato di decontrazione si osserva la stessa situazione sia per quanto riguarda la distribuzione irregolare dei miofilamenti primari, sia per quanto riguarda la distribuzione e il rapporto dei miofilamenti secondari rispetto ai primari.

I miofilamenti primari, che, come sempre, a livello della banda H appaiono leggermente più spessi, misurano in media 200-210 Å di diametro, mentre per i secondari il diametro medio (70 Å circa) non si discosta da quello misurato negli altri Artropodi in genere.

Ultrastruttura della giunzione neuro-muscolare. - Una menzione a parte meritano in questi muscoli le giunzioni neuromuscolari che si osservano con una notevole frequenza alla periferia delle fibre tanto nelle sezioni longitudinali che in quelle trasversali.

La relativa facilità con cui queste strutture sono reperibili è dovuta probabilmente al fatto che nei muscoli dei Chilopodi, come in quelli degli Insetti, diverse terminazioni motorie sono presenti in ciascuna fibra, per cui si realizza la condizione conosciuta come « innervazione multiterminale » (Hoyle, 1965).

Dalle sezioni appare, tra l'altro, piuttosto evidente che in queste terminazioni gli assoni interessati sono più d'uno, per cui in pratica ogni singola fibra muscolare riceve una innervazione multipla (Tav. IV, fig. 7): si ha cioè un tipo di « innervazione polineuronale » simile a quella osservata già negli Insetti. In questi, soprattutto in alcuni muscoli, praticamente tutte le fibre ricevono sempre due terminazioni assoniche, ben distinte anche come ruolo fisiologico, come dimostrato ampiamente da esperimenti con stimolazione indipendente dei due assoni motori definiti "slow" e « fast axons » (Hoyle, 1955).

Il fatto che una fibra muscolare sia innervata da assoni multipli, eccitatori e inibitori, le cui terminazioni convergono su molte regioni della membrana muscolare, fa sì che la forza e la velocità della contrazione siano la risultante finale di questi segnali nervosi convergenti e antagonisti; inoltre, trattandosi di un tipo di innervazione multiterminale, e pertanto molto ben distribuita lungo l'intera fibra, l'impulso nervoso può raggiungere contemporaneamente tutta la superficie della fibra, evocando uno sviluppo sincrono ed efficace della tensione muscolare (Katz, 1971). Secondo Katz, per queste ultime proprietà, le fibre muscolari degli Artropodi possiedono in larga misura la capacità integrativa che caratterizza il neurone centrale (capacità che le fibre dei muscoli scheletrici dei Vertebrati non hanno).

In *Himantarium* le giunzioni neuromuscolari osservate al microscopio ottico si presentano come placche granulati giacenti sulla superficie della fibra muscolare, la quale forma al di sotto una specie di gronda. La loro morfologia ultrastrutturale è simile a quella osservata da Edwards e coll. (1958 a, b) negli Insetti. Le diverse strutture che si riconoscono sono date principalmente dagli assoni, il cui numero è variabile, con l'annessa cellula della guaina, detta lemnoblasto, che presenta un piccolo nucleo talvolta reperibile nella sezione in posizione eccentrica (Tav. V, fig. 8). Inoltre è sempre possibile distinguere una tracheola, con il relativo connettivo circostante, che accompagna il nervo fino alla sua terminazione. La tracheola è in generale situata più perifericamente rispetto alle altre strutture.

Nel punto della giunzione l'assone sembra emergere dalla proprio guaina tubulare andando a giacere direttamente a contatto con il sarcolemma sottostante. Per questa ragione nelle sezioni la cellula della guaina viene a trovarsi al di sopra dell'assone. La giustapposizione tra la membrana dell'assone e il sarcolemma, che vengono a trovarsi separati da uno spazio di circa 200 Å, è una delle principali analogie con le terminazioni degli Insetti, dove per l'appunto si verifica questo stretto contatto (120 Å) (Edwards e coll., 1958 a).

L'assone, in particolare, presenta all'interno numerose vescicole sinaptiche di circa 300 Å di diametro, numerosi e piccoli mitocondri e neurotubuli sparsi (Tav. IV, fig. 7; Tav. V, fig. 9). Anche la fibra muscolare, a sua volta, può mostrare dei mitocondri, di dimensioni superiori a quelli dell'assone; vi si osserva, inoltre, un reticolo abbondante e una certa quantità di granuli aposinaptici densi, la cui quantità, però, varia notevolmente. Per queste caratteristiche la regione in cui la fibra riceve la terminazione nervosa risulta abbastanza differenziata morfologicamente rispetto al resto del sarcoplasma.

Conclusioni. – I risultati ottenuti dall'osservazione della muscolatura somatica di *Himantarium gabrielis* confermano quanto già osservato negli altri Chilopodi. Questi muscoli possono, schematicamente, essere inquadrati in una delle due grandi categorie viste negli Insetti, cioè tra i muscoli di tipo tonico, caratterizzati da un rapporto piuttosto alto (circa 6) tra miofilamenti secondari e primari. Sotto questo aspetto, infatti, e per altri particolari ultrastrutturali, tra i quali la notevole lunghezza e il diametro piuttosto spesso del miofilamento primario, i muscoli di *Himantarium* ricordano i muscoli ad alto rapporto di filamenti degli Insetti, mentre nessuna analogia è possibile con quelli di tipo fasico.

L'equipaggiamento contrattile di questi muscoli, pur essendo caratterizzato da un certo qual disordine nella distribuzione reciproca dei miofilamenti, sembra permettere la realizzazione di contrazioni dove ad una modesta velocità fa riscontro la possibilità di resistere a notevoli tensioni. Le differenze notate fra i diversi fasci muscolari osservati nei muscoli dorsali e laterali sono minime e riguardano esclusivamente dei particolari ultrastrutturali, come una diversa localizzazione e frequenza dei mitocondri nei muscoli laterali, forse destinati a sostenere un'attività più intensa.

Il reticolo sarcoplasmatico e il sistema T, abbondanti in tutti i muscoli esaminati, formano un attivo sistema di controllo per la contrazione, di cui la prova tangibile sono le numerose e complesse diadi.

Lo studio in particolare di alcune giunzioni neuromuscolari ha permesso, inoltre, di stabilire come questi muscoli siano ben organizzati anche a livello di terminazioni nervose. Infatti si verifica in questi animali la innervazione poli-neuronale e multiterminale. La frequenza delle giunzioni con le loro caratteristiche ultrastrutturali rappresenta un'ulteriore conferma di come il sistema di regolazione della contrazione si realizzi in questi muscoli con notevole efficacia.

LAVORI CITATI

- CAMATINI M. e SAITA A. (1967) – « Accad. Naz. Lincei », Rend. Sc. fis. mat. nat. », 42, 704.
 CAMATINI M. e SAITA A. (1968) – « Accad. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. nat. », 44, 443.
 CAMATINI M. e SAITA A. (1969) – « Accad. Naz. Lincei, Rend. Sc. fis. mat. nat. », 46, 73.
 CANDIA CARNEVALI D. e VALVASSORI R. (1973) – « J. Submicr. Cytol. », 5, 227.
 DEMANGE J.M. (1967) – « Mem. Mus. hist. nat. », sez. A, Zool., 44, 1.
 EDWARDS G. A., RUSKA H. e DE HARVEN E. (1958 a) – « J. Biophys. biochem. Cytol. », 4, 107.
 EDWARDS G. A. RUSKA H. e DE HARVEN E. (1958 b) – « J. Biophys. biochem. Cytol. », 4, 251.
 HOYLE G. (1955 b) – « Proc. Roy. Soc. London, Ser. B. », 143, 343.
 HOYLE G. (1965) – « The physiology of Insecta », II, 407.
 KATZ B. (1971) – *Nervi, muscoli e sinapsi*, Zanichelli, Bologna.
 LANZAVECCHIA G. (1967) – « Istituto Lombardo, Rend. Sc. », B 101, 233.
 McNEILL P., BURROWS H. e HOYLE G. (1972) – « J. Exp. Zool. », 179, 395.
 PASQUALI-RONCHETTI I. (1968) – « J. Cell. Biol. », 40, 269.
 PASQUALI-RONCHETTI I. (1970) – « Tissue and Cell », 2 (2), 339.
 SAITA A. (1969) – « Bull. Mus. Hist. Nat. », 2 serie, 41, suppl. n. 2, 134.
 SMITH D. S. (1961) – « J. Cell. Biol. », 10 e suppl., 123.
 SMITH D. S. (1966) – « J. Cell. Biol. », 29, 449.
 USHERWOOD P.N.R., COCHRAN D. G. e REESE D. (1968) – « Nature », 218, 589.
 USHERWOOD P. N. R. (1969) – « Advances in Insect Physiology », 6, 205.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-V

TAVOLA I

- Fig. 1. - Sez. trasversale di una fibra muscolare di *Himantarium gabrielis* a piccolo ingrandimento. La sezione è ottenuta a livello della banda I, dove sono prevalentemente localizzati i mitocondri. Si noti anche l'aspetto tubulare della fibra con il nucleo (*N*) in posizione centrale. $\times 7.000$.
- Fig. 2. - Sez. trasversale di una fibra muscolare intersegmentale dorsale. Le miofibrille appaiono in parte sezionate a livello della banda A (*A*) e in parte a livello della banda I (*I*) dove sono i mitocondri (*m*). $\times 24.000$.

TAVOLA II

- Fig. 3. - Sez. longitudinale di una fibra muscolare intersegmentale dorsale a piccolo ingrandimento. Si possono notare le diverse bande (*A-I*) e le strie Z (*Z*) allineate e la posizione dei mitocondri. $\times 4.600$.
- Fig. 4. - Sez. longitudinale di una fibra stirata. Le diadi sono localizzate a livello della zona di transizione tra le bande A e I. Si può osservare l'allineamento dei mitocondri e la lunghezza dei filamenti primari. $\times 13.600$.

TAVOLA III

- Fig. 5. - Sez. trasversale a più alto ingrandimento a livello delle bande A e I (*A-I*). Si può osservare la distribuzione reciproca dei filamenti primari e secondari, l'appaiamento del reticolo col sistema T a livello delle diadi (*D*), e la particolare configurazione delle creste mitocondriali ($\nearrow \nearrow$) $\times 65.000$.

TAVOLA IV

- Fig. 6. - Sez. trasversale di fibra muscolare laterale. In queste fibre si può osservare il profilo nastriforme delle miofibrille e la presenza insolita di mitocondri a livello della banda A. $\times 22.000$.
- Fig. 7. - Sez. trasversale che interessa una giunzione neuromuscolare poliassonica. Ciascun assone (*ax*) contiene vescicole sinaptiche, neurotubuli e mitocondri. La guaina polimembranosa del lemnoblasto si riduce nella zona di contatto fra assoni e fibra muscolare (\nearrow). $\times 40.000$.

TAVOLA V

- Fig. 8. - Sez. che mostra il lemnoblasto (*L*) col suo nucleo (*N*) disposto a ricoprire l'assone (*ax*) con alcuni avvolgimenti a guaina. L'assone decorre in prossimità della fibra muscolare a livello della banda I (*I*) senza però prendere contatto sinaptico. $\times 36.000$.
- Fig. 9. - Sez. longitudinale di una giunzione neuromuscolare. Si noti che solo a livello della sinapsi (\nearrow) gli assoni emergono dalle guaine del lemnoblasto e prendono stretto contatto con la fibra muscolare. $\times 36.000$.









