ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Estratto dai *Rendiconti della Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali*

Serie VIII, vol. XLVII, fasc. 6 - Dicembre 1969

Zoologia. — *Ultrastruttura dei muscoli longitudinali dell'addome in neanidi di* Ecdyonurus helveticus *Eaton e* Baëtis rhodani *Pictet* (*Ephemeroptera*). Nota (*) di ABELE SAITA, presentata (**) dal Corrisp. S. RANZI.

SUMMARY. — The longitudinal muscles of abdominal gill bearing segments of nymphal *Ecdyonurus helveticus* and *Baëtis rhodani* (Ephemeroptera) have been studied electron microscopically.

Cross micrograph of the A-band shows the same pattern as that of an insect fast-acting muscle: thick filaments are hexagonally packed, each is surrounded by 6 thin filaments which are located between two thick ones, thus with a ratio between thick and thin filaments of 1 : 3. The regular lattice of the Z-line and flattened orientated filaments of the H region are described.

Regular arrangements on these fast-acting muscles are compared with similar types of muscle filament patterns and related to quick gill movements.

Gli studi ultrastrutturali sulla muscolatura striata degli Insetti hanno già messo in evidenza come i sistemi di membrane (reticolo sarcoplasmatico e sistema T) presentino alcune variazioni di sviluppo chiaramente correlabili alle diverse forme di attività muscolare in accordo ai dati di fisiologia (Smith, 1966 a) particolarmente per quanto riguarda l'eccitabilità del muscolo o il controllo chimico del ciclo di contrazione; d'altra parte esistono delle differenze di organizzazione delle miofibrille e dei miofilamenti, in relazione alla specifica attività meccanica dei sistemi contrattili, come il rapporto numerico tra filamenti primari e secondari, la lunghezza dei miofilamenti, la struttura della stria Z e le strutture che collegano la Z ai miofilamenti o i miofilamenti tra loro (ponti trasversi), le diverse possibilità di scorrimento e quindi i limiti di escursione delle bande, ecc., che sono tutt'oggi oggetto di analisi al microscopio elettronico, nel tentativo di stabilire il valore dei caratteri ultrastrutturali, acquisiti dagli Insetti nel corso della filogenesi, da porre in rapporto alla specifica funzione meccanico-contrattile del muscolo (Lanzavecchia, 1965 e 1967).

In particolare non si era rilevato sinora alcuna differenza significativa nella struttura contrattile dei muscoli longitudinali intersegmentali dell'addome degli Insetti, sia allo stadio larvale che negli adulti. In questi muscoli, che hanno condizioni di movimento generalmente di tipo tonico e lento, si è riscontrata sempre una struttura caratterizzata dalla presenza di filamenti secondari numerosi (10-12) disposti a corona attorno ad ogni filamento primario, con un rapporto quindi tra filamenti primari e secondari di 1 : 6; vi è ampia possibilità di variazione dell'ampiezza della banda I e dello scorrimento reciproco

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

(**) Nella seduta del 13 dicembre 1969.

tra i miofilamenti, la stria Z presenta una struttura non risolvibile al microscopio elettronico, e i sarcomeri risultano piuttosto lunghi anche in condizione contratta in quanto i miofilamenti primari misurano circa 3-4 μ (Toselli, 1965; Smith, 1966 b; Lanzavecchia, 1967). Si è voluto perciò studiare la muscolatura longitudinale dell'addome di alcune larve di Efemerotteri forniti di tracheobranchie lamellari, in cui i movimenti dei segmenti addominali hanno un ritmo veloce per determinare le vibrazioni delle lamelle branchiali. Giova ricordare a questo proposito che negli Insetti la muscolatura capace di movimenti ritmici e veloci, come quella di alcuni muscoli del volo o come il muscolo timpanico di *Cicada* (Edwards e coll., 1958), presenta una ultrastruttura tipica: sarcomeri corti, limitato scorrimento dei miofilamenti, struttura della Z ben evidenziabile, distribuzione dei miofilamenti primari secondo uno schema esagonale, posizione dei filamenti secondari tra due primari, rapporto tra i primi e i secondi di 1 : 3, e il filamento primario è quindi circondato da 6 filamenti secondari.

Il lavoro è stato condotto sui principali muscoli longitudinali in quanto gli altri muscoli dell'addome (longitudinali obliqui e laterali, adduttori, dorso-ventrali anteriori e posteriori) sembrano provvedere all'orientamento dei segmenti addominali e delle lamelle branchiali, più che al movimento ritmico di queste, secondo le indicazioni di Eastham (1958).

MATERIALI E METODI.

Si sono utilizzate neanidi di *Ecdyonurus helveticus* Eaton e di *Baëtis rhodani* Pictet, catturate in Lombardia. Le fibre muscolari sono state fissate direttamente nell'addome con glutaraldeide 3%, purificata su colonna di carbone e tamponata a pH 7,2 con osmolarità 490 milliosmoli. Dopo circa due ore, venivano prelevati i muscoli longitudinali (particolarmente i muscoli longitudinali cruciformi) dai segmenti con lamelle branchiali, che venivano ulteriormente fissati in acido osmico 1% a pH 7,2 in tampone fosfati. Durante il processo di disidratazione, il materiale veniva precolorato in toto con acetato di uranile 1% in soluzione alcoolica 90%. Dopo disidratazione in alcool assoluto e ossido di propilene, l'inclusione è stata fatta in una miscela di Epon 812 e araldite. Le sezioni ottenute con l'ultramicrotomo Ultrotome LKB, dopo « colorazione » con citrato di Pb, sono state osservate con un microscopio elettronico Hitachi HS-7.

OSSERVAZIONI.

I muscoli longitudinali cruciformi sono situati nei segmenti addominali forniti di lamelle branchiali (o tracheobranchie) e sono costituiti da quattro fasce muscolari che passano su ciascun lato della linea mediana dell'addome sia ventralmente che dorsalmente, inseriti sui bordi anteriori degli sterniti o rispettivamente sui bordi anteriori dei tergiti. Son detti cruciformi perché ciascuno di essi è costituito da due gruppi di fibre che si incrociano in ogni segmento. Questa situazione è abbastanza simile tanto in *Baëtis rhodani* che in *Ecdyonurus helveticus* e corrisponde alla situazione dei muscoli cruciformi addominali descritti nel *Baëtidae: Chloeon dipterum* L. (Eastham, 1958).

Le fibre, in sezione trasversale a piccolo ingrandimento, hanno profilo ovale o tondeggiante, presentano uno o più nuclei in posizione laterale subsarcolemmatica, appaiono completamente riempite di piccole miofibrille tra le quali si trovano i mitocondri in quantità assai modesta (Tav. I, fig. 1).

Le miofibrille, osservate in sezioni trasversali a maggior ingrandimento a livello della Banda A, presentano profilo per lo più poligonale e mostrano una distribuzione dei miofilamenti analoga alla tipica disposizione dei filamenti della muscolatura del volo. Infatti i miofilamenti primari sono disposti secondo uno schema esagonale e ciascun filamento secondario si trova interposto tra due primari; in tal modo ogni filamento primario è circondato da 6 secondari e il rapporto tra i due tipi di filamenti è di 1 : 3 (Tav. II, fig. 2).

In sezioni leggermente oblique rispetto al piano trasversale della fibra si può osservare la distribuzione dei filamenti nella diverse bande. Alla banda H (Tav. III, fig. 3) si nota l'assenza dei filamenti secondari quando la fibra è decontratta e l'aspetto rettangolare della sezione del miofilamento primario.

La sezione trasversale o leggermente obliqua che attraversa la stria Z permette di rilevare una grande regolarità di struttura. La stria Z appare infatti come una placca forata in cui la distanza tra i fori corrisponde alla distanza che si rileva tra i filamenti primari nella banda A (Tav. III, fig. 4; Tav. IV, fig. 6).

Le sezioni longitudinali mostrano i due tipi di filamenti primari e secondari, più o meno interdigitati tra loro dipendentemente dal grado di contrazione. I filamenti primari risultano lunghi circa 2–2,5 μ in *Ecdyonurus* e circa 2 μ in *Baëtis* (Tav. IV, fig. 7), i secondari misurano circa 1,5 μ in ogni mezzo sarcomero e si estendono dalla stria Z sino ad oltre la M quando il sarcomero è molto contratto (Tav. III, fig. 5).

Sia in sezioni trasversali che longitudinali si notano ai lati delle miofibrille le cisterne del reticolo sarcoplasmatico e gli appaiamenti a diade di questo coi tubuli del sistema T.

L'aspetto ultrastrutturale del muscolo cruciforme longitudinale dell'addome in *Baëtis* (Tav. IV, figg. 6, 7) è del tutto simile quindi a quanto si osserva in *Ecdyonurus*. Le osservazioni relative ai diversi stati di contrazione delle fibre non sono facilmente ed esattamente determinabili per la disposizione cruciforme dei muscoli e quindi per l'estrema variabilità delle condizioni di ciascuna fibra all'interno del muscolo.

Discussione e conclusioni.

Da questa ricerca risulta che l'ultrastruttura di questi muscoli è certamente analoga a quella dei muscoli del volo di insetti a volo veloce, come è già stato descritto dalla microscopia elettronica in Odonati (Smith, 1961 a, 1962; Lanzavecchia, 1967), Emitteri (Saita, 1967), Coleotteri (Smith, 1961 b,

1962; Saita e Camatini, 1967), Ditteri (Auber e Couteaux, 1963; Smith, 1963; Shafiq, 1963), Imenotteri (Smith, 1962) e alcuni Lepidotteri (Reger e Cooper, 1967; Auber, 1967; Camatini e Saita, 1969) ed è probabilmente simile, almeno quanto a disposizione dei miofilamenti, alla struttura del muscolo timpanico di *Cicada* (Edwards e coll., 1958).

La stessa struttura si osserva anche nei muscoli veloci dei Crostacei (Fahrenbach, 1963; Bouligand, 1964; Reger, 1967) e dei Chetognati (Camatini e Lanzavecchia, 1966, Halvarson e Afzelius, 1969).

Sembra quindi che l'analogia ultrastrutturale che si riscontra tra questi muscoli e quelli che si contraggono con un ritmo piuttosto veloce, si debba interpretare come una particolare forma di organizzazione degli elementi contrattili adatta al particolare meccanismo di contrazione.

Non sembra per ora che sia stata studiata la velocità e la frequenza di contrazione dei muscoli addominali delle larve degli Efemerotteri, ma la velocità del loro ritmo di contrazione può esser ritenuto elevato in quanto provvedono ai movimenti ritmici delle tracheobranchie, già studiati sia in *Ecdyonurus* (Eastham, 1937) che nei *Baëtidae* (Wingfield, 1939; Eastham, 1958), e producono una oscillazione delle lamelle tracheobranchiali per mantenere una corrente d'acqua attorno al corpo. È dimostrato che nelle neanidi degli Efemerotteri, eccetto che nella prima età in cui la respirazione avviene attraverso la cute (Grandi, 1960), le tracheobranchie compaiono nei *Baëtidae* come evaginazioni foliacee più o meno ricche di trachee o più o meno estese ma sempre mobili in rapporto alle esigenze respiratorie (Vayssiere, 1882; Cuénot, 1925). Così esiste una relazione definita tra l'area delle lamelle respiratorie e il contenuto in ossigeno dell'acqua in larve di differenti habitat (Dodds e Hisaw, 1924) ma non sembra variare il ritmo di contrazione variando artificialmente la pressione parziale dell'ossigeno, probabilmente in relazione alla struttura ben definita della muscolatura, perché le larve poste in queste condizioni mutano acquistando lamelle più estese (Harnish, 1957), e così le larve private delle tracheobranchie ricorrono immediatamente a una muta per riprodurle (Dewitz, 1890).

Risulta invece più difficile interpretare i dati ottenuti tentando di stabilire delle omologie con la muscolatura dell'addome di altri Insetti o con la muscolatura del volo, per quanto si affermi che questi muscoli corrispondono ai normali muscoli longitudinali che si trovano negli Insetti in generale (Eastham, 1958).

Infatti negli Efemerotteri si assiste a un curioso processo evolutivo. La testa, la struttura degli occhi e quella dei pezzi boccali, il torace e soprattutto le ali si sono molto modificati, e si assiste agli stadi successivi della loro specializzazione presso le forme fossili dai Permoplecotteri, apparsi ed estinti nel Permiano, agli Euplecotteri fossili del Mesozoico, sino alla comparsa nel Terziario dei primi rappresentanti delle forme attuali; nell'addome invece le efemere attuali hanno conservato molte strutture arcaiche, cioè i due primi segmenti addominali, omonomi, portano sovente le scaglie paranotali, i gonopodi, gli organi genitali interni e l'apparato circolatorio hanno conser-

vato caratteri primitivi (Jeannel, 1949). Inoltre bisogna tener presente che le tracheobranchie attuali somigliano notevolmente a quelle delle ninfe di *Phthartus rossicus* Handlish trovate nel Permiano inferiore.

Perciò anche se le tracheobranchie per il loro aspetto foliaceo, la loro posizione talvolta apparentemente dorsale, il loro reticolo di nervatura hanno suggerito un avvicinamento con delle formazioni di tipo alare (Durken, 1907) e una derivazione dai lobi latero-dorsali segmentari dei Paleodittiotteri, la loro omologia rimane controversa (Despax, 1949).

Lavori citati.

Auber Y., « C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris », *264*, 621 (1967).

Auber Y. e Couteax R., « J. Microscopie », *3*, 105 (1963).

Bouligand Y., « Proc. 3rd Europ. Reg. Conf. Electron Microsc., Prague », v. B, p. 71 (1964).

Camatini M. e Lanzavecchia G., « Accad. Naz. Lincei (Rend. Sc. fis. mat. nat.) », *41*, 388 (1966).

Camatini M. e Saita A., « Accad. Naz. Lincei (Rend. Sc. fis. mat. nat.) », *46*, 745 (1969).

Cuenot L., « *L'Adaptation* », Paris 1925.

Despax R., « *Ordre des Ephéméroptères. Larves* » in Grassé P. P., « *Traité de Zoologie* », Tome IX. Masson, Paris, p. 297 (1949).

Dewitz H., « Zool. Anz. », *13*, 525 (1890).

Dodds D. e Hisaw F., « Ecology », *5*, 262 (1924).

Eastham L., « J. exp. Biol. », *14*, 219 (1937).

Eastham L., « Proc. Zool. Soc. London », *131*, 279 (1958).

Edwards G. A., Ruska H. e Harven M. D., « J. biophis. biochem. Cytol. », *4*, 251 (1958).

Fahrenbach W. H., « J. Cell Biol. », *17*, 629 (1963).

Grandi M., « *Fauna d'Italia: Ephemeroidea* », v. III, Ed Calderini Bologna, p. 30 (1960).

Halvarson M. e Afzelius B. A., « J. Ultrastruct. Res. », *26*, 289 (1969).

Harnisch O., « Zool. Anz. », *159*, 12 (1957).

Jeannel R., « *Les Insectes fossiles* » in Grassé P. P., « *Traité de Zoologie* », Tome IX, Masson, Paris, p. 39 (1949).

Lanzavecchia G., « Boll. Zool. », *34*, 57 (1965).

Lanzavecchia G., « Ist. Lomb., Rend. Sci. », *B*, *101*, 233 (1967).

Reger J. F., « J. Ultrastruct. Res. », *20*, 72 (1967).

Reger J. F. e Cooper D. P., « J. Cell Biol. », *33*, 531 (1967).

Saita A., « Atti VI Cong. ital. Microsc. elettronica », p. 35 (1967).

Saita A. e Camatini M., « Ist. Lomb. Rend. Sci. », *B*, *101*, 521 (1967).

Shafiq S. A., « J. Cell Biol. », *17*, 351 (1963).

Smith D. S., « J. biophis. biochem. Cytol. », *11*, 119 (1961 *a*).

Smith D. S., « J. biophis. biochem. Cytol. », *10 supp.*, 123 (1961 *b*).

Smith D. S., « Revue can. Biol. », *21*, 279 (1962).

Smith D. S., « J. Cell Biol. », *19*, 115 (1963).

Smith D. S., « J. Cell Biol. », *27*, 379 (1965).

Smith D. S., « Prog. Biophis. mol. Biol », *16*, 109 (1966 *a*).

Smith D. S., « J. Cell Biol. », *29*, 449 (1966 *b*).

Toselli P. A., « Anat. Record », *151*, 427 (1965).

Vayssiere A., « *Recherches sur l'organisation des larves des Ephémérides* ». Paris 1882.

Wingfield C. A., « J. exp. Biol. », *16*, 363 (1939).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I–IV

TAVOLA I.

Fig. 1. – *Ecdyonurus helveticus*. – Sezione trasversale di un muscolo longitudinale dell'addome a piccolo ingrandimento, per mostrare l'aspetto generale della fibra, la forma delle miofibrille, la posizione dei nuclei (*N*), i mitocondri (*M*) e il reticolo sarcoplasmatico con le diadi (*D*). Alcune miofibrille sono sezionate a livello della Z (*Z*). ×9.000.

TAVOLA II.

Fig. 2. – *Ecdyonurus helveticus*. – Sezione trasversale di alcune miofibrille, che appaiono circondate dal reticolo sarcoplasmatico (*RS*). Dove il reticolo prende rapporto con le membrane del sistema T compaiono le diadi (*D*). A livello della banda A si nota che la distribuzione dei miofilamenti è simile a quella dei muscoli del volo (*A*). ×40.000.

TAVOLA III.

Fig. 3. – *Ecdyonurus helveticus*. – Sez. trasversale; particolare delle bande A (*A*) ed H (*H*) in un muscolo leggermente decontratto. Alla A i filamenti primari sono circondati da 6 filamenti secondari con un rapporto reciproco di 1 : 3; alla H i filamenti primari appaiono rettangolari. ×73.000.

Fig. 4. – *Ecdyonurus helveticus*. – Sez. trasversale della stria Z (*Z*) e della banda I (*I*). La struttura della Z è molto regolare e si presenta come una placca forata in cui la distanza tra i fori corrisponde alla distanza tra i filamenti primari. ×83.000.

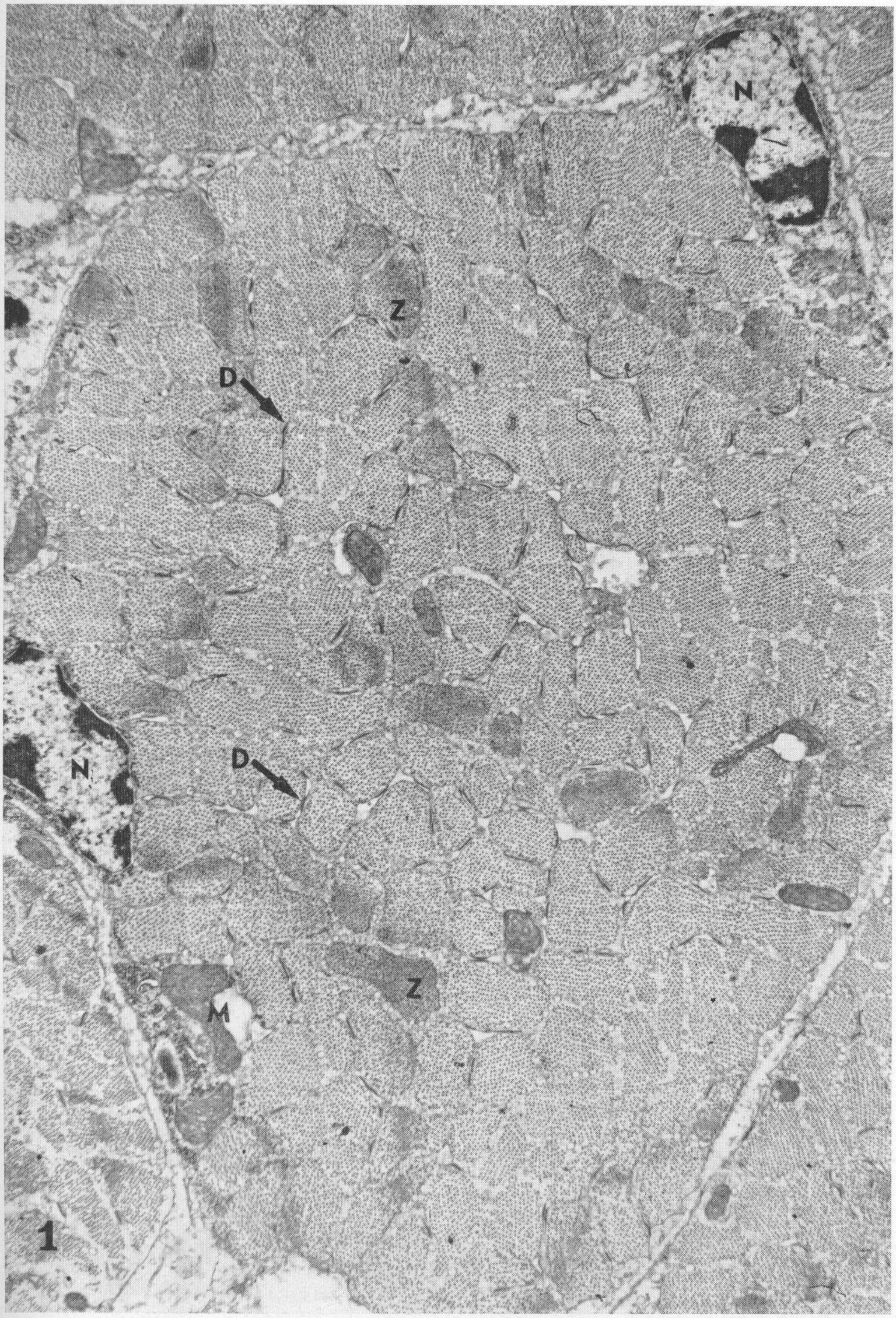
Fig. 5. – *Ecdyonurus helveticus*. – Sez. longitudinale che interessa la stria Z, la banda I e A. La banda I è quasi assente per la contrazione della fibra, e la diade (*D*) si trova a livello dei margini della A. Tra i filamenti primari si osservano i secondari (↗). ×46.500.

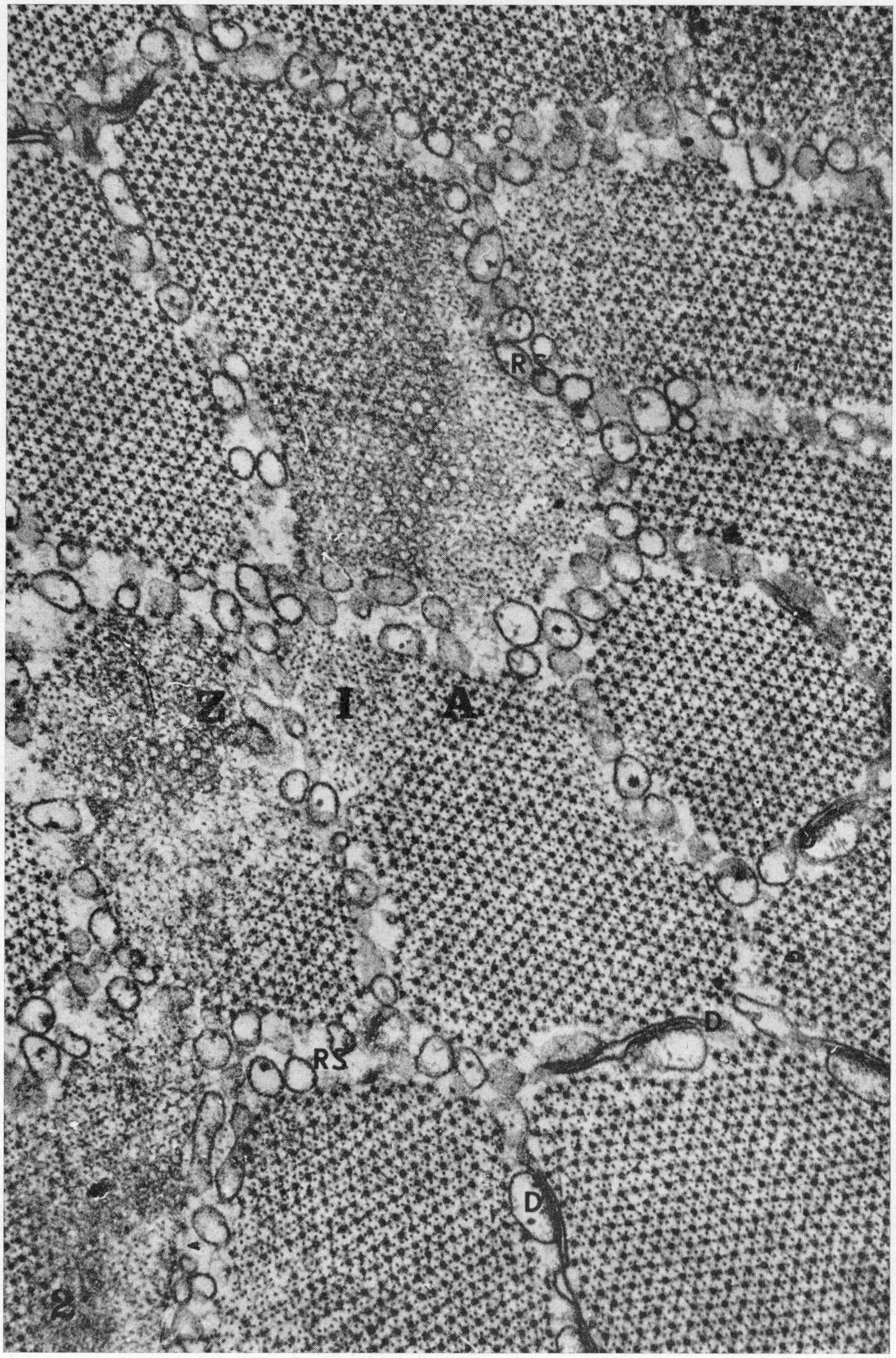
TAVOLA IV.

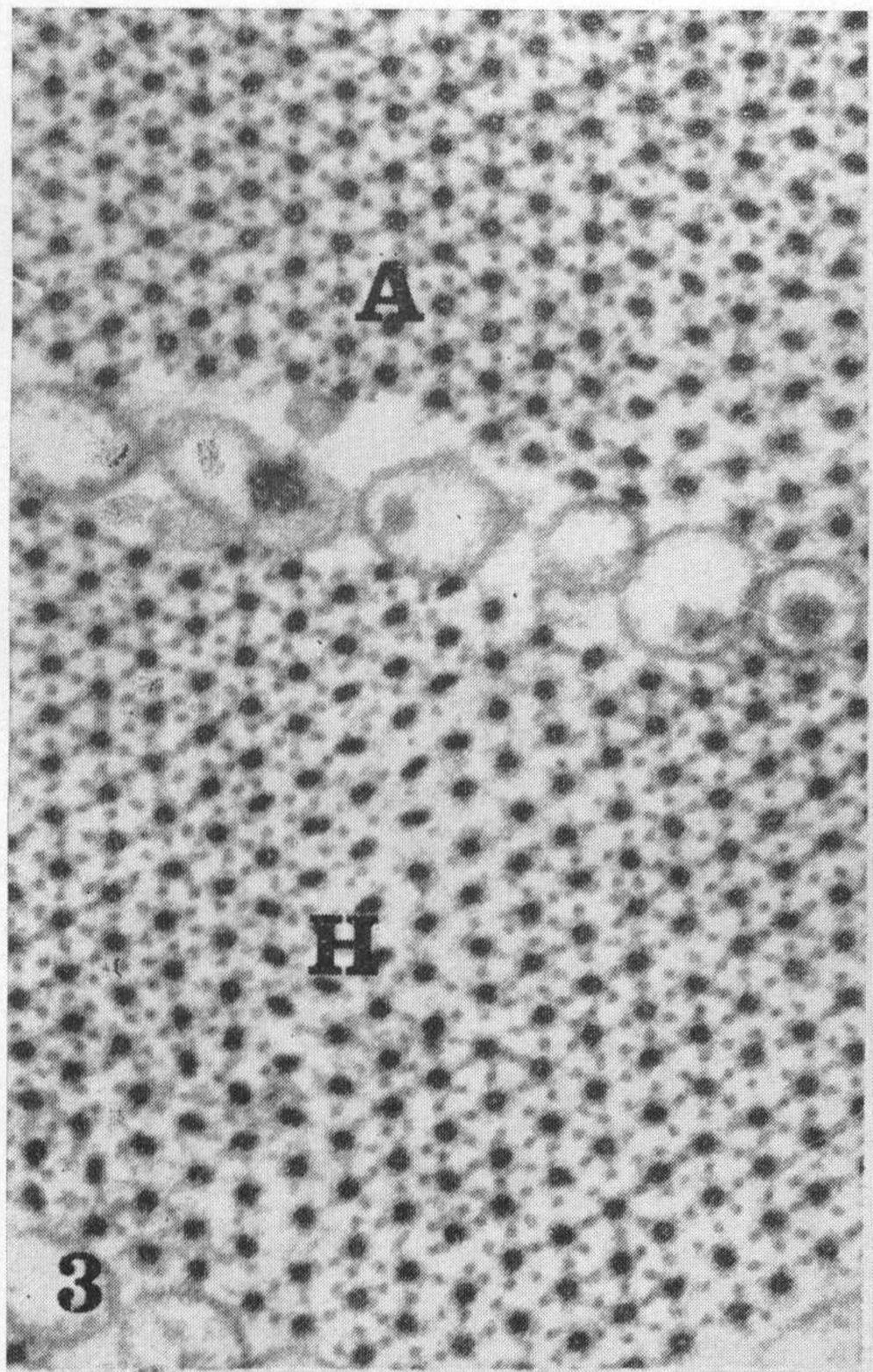
Fig. 6. – *Baëtis rhodani*. – Sezione leggermente obliqua. La disposizione dei miofilamenti nelle diverse bande e l'organizzazione della stria Z appaiono del tutto analoghe a quanto si osserva in *Ecdyonurus* (cfr. figg. 2–4). *M* = mitocondrio. ×63.000.

Fig. 7. – *Baëtis rhodani*. – Sezione longitudinale di un sarcomero. Si nota la situazione delle diverse bande in stato di contrazione. I filamenti secondari sono interposti ai primari e il reticolo sarcoplasmatico (*RS*) è appaiato al sistema T nelle diadi (*D*). ×46.000.

ROMA, 1970 — Dott. G. Bardi, Tipografo dell'Accademia Nazionale dei Lincei

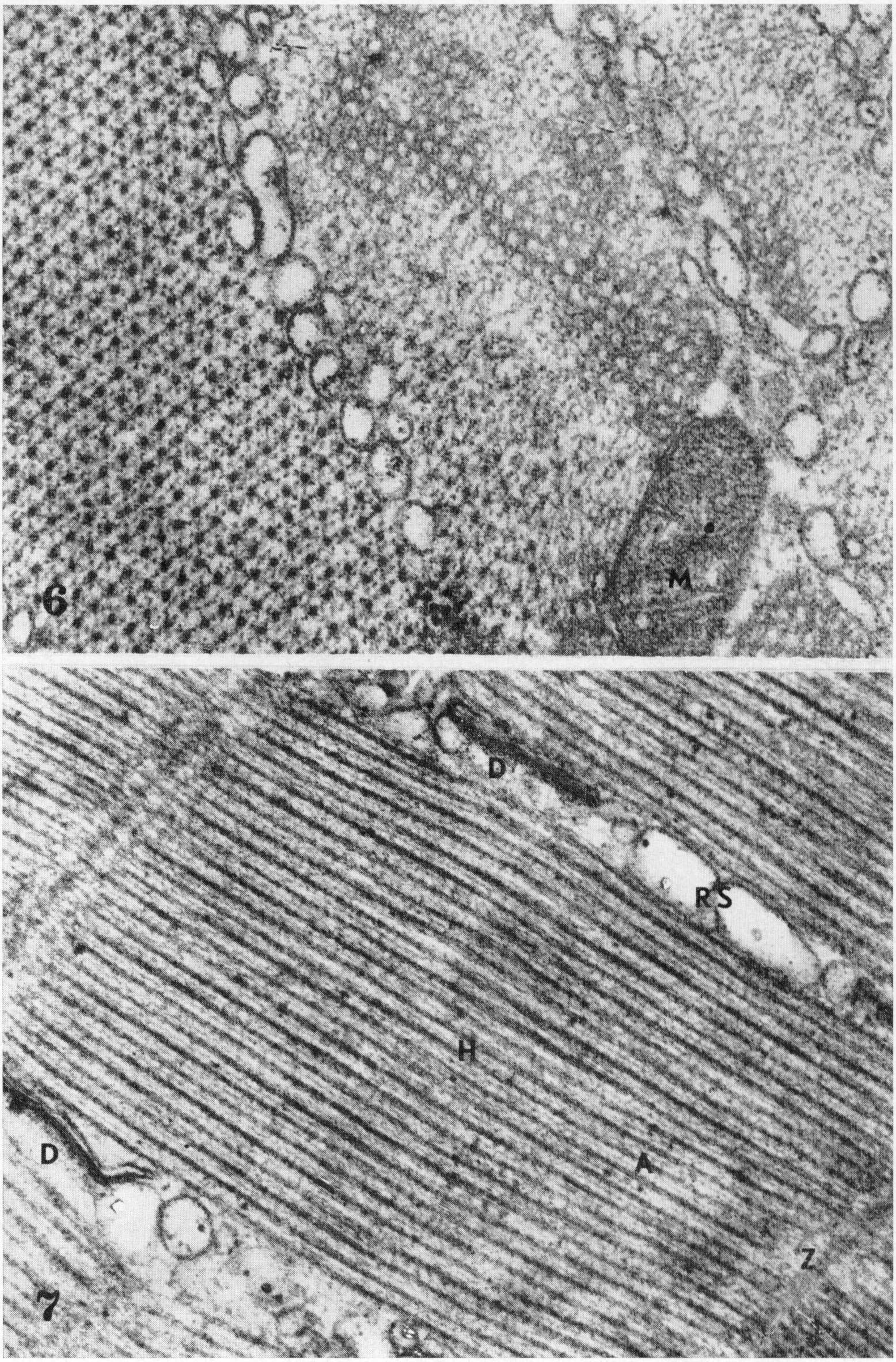

N
Z
D
N
D
Z
M
1


RS
Z
I
A
D
RS
D
A
2


A
H
3

I
Z
4

D
5


M
6
D
RS
H
D
A
Z
7