

GLAUCO REALI

Cattedra di Bachicoltura e Apicoltura
Università statale - Milano

MARINA CAMATINI

Laboratorio di Zoologia
Università statale - Milano

ABELE SAITA

Laboratorio di Zoologia
Università statale - Milano

Osservazioni al microscopio elettronico sui muscoli del volo dei Lepidotteri

I. Nota

I muscoli alari in *Bombyx mori* L.

Per quanto ancora scarsi e frammentari, i dati fino ad oggi acquisiti sugli aspetti morfologici ultrastrutturali della muscolatura degli Insetti ⁽¹⁾ pongono in rilievo la presenza di due distinte categorie di muscoli, caratterizzate da un differente rapporto tra filamenti primari e filamenti secondari rilevabile in sezioni trasversali della fibra muscolare a livello della banda A.

In una recente ed ampia rassegna sull'ultrastruttura dei muscoli nei vari animali — effettuata allo scopo di analizzare convergenze o parallelismi morfologici di significato filogenetico — LANZAVECCHIA (1967) illustra con chiarezza l'elemento differenziale di maggiore spicco tra le due categorie suaccennate, determinato dalla presenza di pochi (6) o di molti (10-12) filamenti secondari disposti a corona

⁽¹⁾ Le principali ricerche di microscopia elettronica sui muscoli del volo degli Insetti sono comprese nell'elenco che segue:

Odonati: SMITH, 1961a, 1962, 1966a; LANZAVECCHIA, 1967.

Ortotteri: VOGELL e coll. 1959; LANZAVECCHIA e VILLA, 1967.

Emitteri: EDWARDS e coll., 1956; 1958; SMITH, 1962, 1965; SAITA, 1967; ASHHURST, 1967.

Coleotteri: SMITH, 1961b, 1962; SAITA e CAMATINI, 1967.

Lepidotteri: REGER e COOPER, 1967; AUBER, 1967; CAMATINI, 1967.

Ditteri: AUBER e COUTEAUX, 1963; SMITH, 1963; SHAFIQ, 1963.

Imenotteri: SMITH, 1962.

attorno ad ogni filamento primario. Rilevato inoltre come i muscoli alari, sia sincroni che asincroni, presentino costantemente una struttura riferibile alla I categoria a differenza di tutti gli altri muscoli, scheletrici e viscerali, che ne presentano una riferibile alla II categoria, l'A. ipotizza che, nel corso della filogenesi, gli Pterigoti abbiano acquisito contemporaneamente ali e relativa muscolatura, quest'ultima caratterizzata da una ultrastruttura tipica da porre in rapporto alla specifica funzione fisiologica ⁽²⁾.

Sulla scorta delle osservazioni effettuate da vari AA. circa le reazioni agli stimoli elettrici indotte nei muscoli alari di Imenotteri, Ditteri, Coleotteri ed Emitteri, PRINGLE (1967) riesamina le conoscenze sulla fisiologia del volo e fornisce un quadro dell'attività contrattile dei muscoli fibrillari degli Insetti, così come è possibile rilevare con le moderne metodiche della biofisica. Dal canto suo SMITH (1966 b), nel campo della microscopia elettronica, riassume le indagini sulla struttura dei due sistemi di membrane sarcoplasmatiche (reticolo e sistema T), indicandone la funzione nell'ambito dell'attività muscolare e ponendone in relazione lo sviluppo — variabile fra le diverse specie entomologiche prese in considerazione — con differenti comportamenti di ordine fisiologico.

Per quanto riguarda i Lepidotteri, le scarse acquisizioni di cui si dispone (REGER e COOPER, 1967; AUBER, 1967; CAMATINI, 1967) non permettono di trarre considerazioni di carattere generale o formulare valide ipotesi circa i rapporti tra ultrastruttura delle miofibrille e funzione muscolare in questo ordine di Insetti. Bisogna, a tal proposito, tener presente che sono proprio i Lepidotteri a presentare la più vasta gamma nell'attività dei muscoli del volo: l'ordine comprende infatti specie in cui la frequenza del battito alare si avvicina alla soglia dei 100 battiti/sec, limite indicato per far considerare « alte » le frequenze (ad es. Sfingidi); specie in cui le frequenze sono « medie », aggirandosi sui 30-50 battiti/sec (come Nottuidi, Bombicidi, ecc.); specie infine che presentano frequenze « basse », dell'ordine di 8-12 battiti/sec (quali Pieridi e Saturnidi) fino a casi limite in cui non esiste attività di volo, per l'assenza di ali (femmine di Geometridi).

⁽²⁾ Giova tuttavia tener presente che anche il muscolo timpanico di *Cicada* (di tipo fibrillare asincrono) presenta una struttura riferibile alla I categoria pur non essendo un muscolo del volo (EDWARDS e coll., 1958).

Onde recare un contributo alle conoscenze sui muscoli alari degli Insetti, da inquadrare nell'ambito delle cognizioni finora acquisite in campo entomologico, abbiamo ritenuto utile intraprendere uno studio comparativo sulla ultrastruttura di detti muscoli, mediante ricerche di microscopia elettronica, in varie specie di Lepidotteri, scelte a rappresentare differenti manifestazioni dell'attività del volo.

In questa prima nota, l'indagine viene compiuta su una specie, il *Bombyx mori* L., la frequenza del cui battito alare è da considerarsi media.

MATERIALE E METODI

Per le ricerche sono stati utilizzati adulti, di ambo i sessi, di *Bombyx mori* L., d'incrocio poliibrido orientale riprodotto in Italia e allevato presso l'Istituto di Entomologia agraria dell'Università di Milano.

Le fibre muscolari, mantenute in situ con particolari accorgimenti atti ad evitare alterazioni allo stato di contrazione, sono state fissate direttamente nella cavità toracica con glutaraldeide 3 %, purificata su colonna di carbone e tamponata a pH 7,2 con osmolarità 490 milliosmoli, seguita, per un'ulteriore fissazione, da acido osmico 1 % a pH 7,2 in tampone fosfati.

Tenendo conto delle indicazioni di WEBER (1933), sono stati presi in esame ed isolati i muscoli longitudinali dorsali, i muscoli dorso-ventrali (indiretti del volo), nonché i muscoli basali (diretti del volo).

Dopo disidratazione, il materiale è stato incluso in vestopal W, secondo i tradizionali metodi di microscopia elettronica. Le sezioni, ottenute con l'ultramicrotomo Ultratome LKB e colorate con acetato di uranile e citrato di piombo (REYNOLDS, 1963), sono state osservate al microscopio elettronico Hitachi HS-7.

OSSERVAZIONI

Le fibre muscolari del volo in *Bombyx mori* sono da considerarsi di tipo sincro, dato che la loro frequenza di contrazione (di circa 40-50 battiti/sec) corrisponde sensibilmente al ritmo di battito misurato in altri Lepidotteri Eteroceri nei quali è stata dimostrata la presenza di una muscolatura sincra (ROEDER, 1951; SOTAVALLA, 1954); si tratta quindi di una frequenza superiore a quella di alcuni Ropaloceri (quali *Pieris* e *Vanessa*) che presentano circa 10 battiti/sec e molto inferiore alla frequenza di contrazione della muscolatura fi-

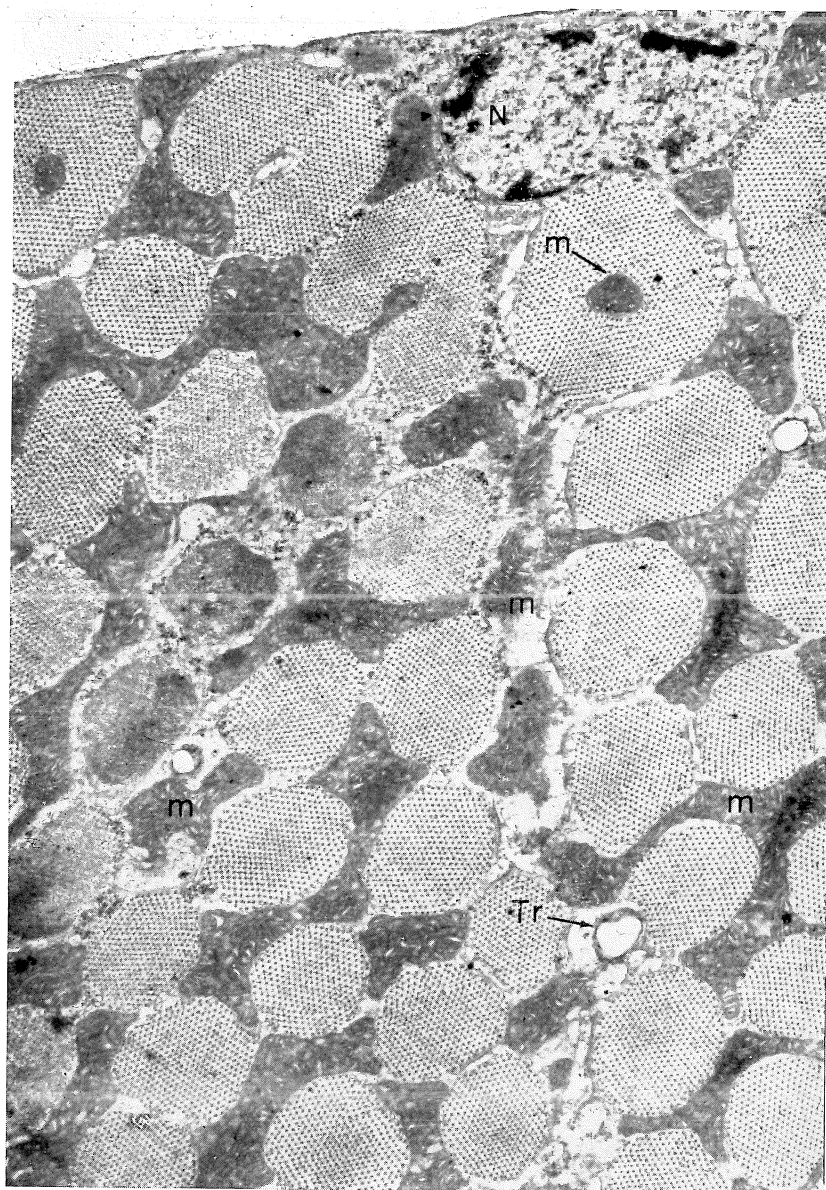


Fig. 1. - Muscolo longitudinale dorsale, sezione trasversale. m = mitocondri (uno di essi è presente al centro di una miofibrilla); N = nucleo; Tr = tracheola ($\times 16.200$).

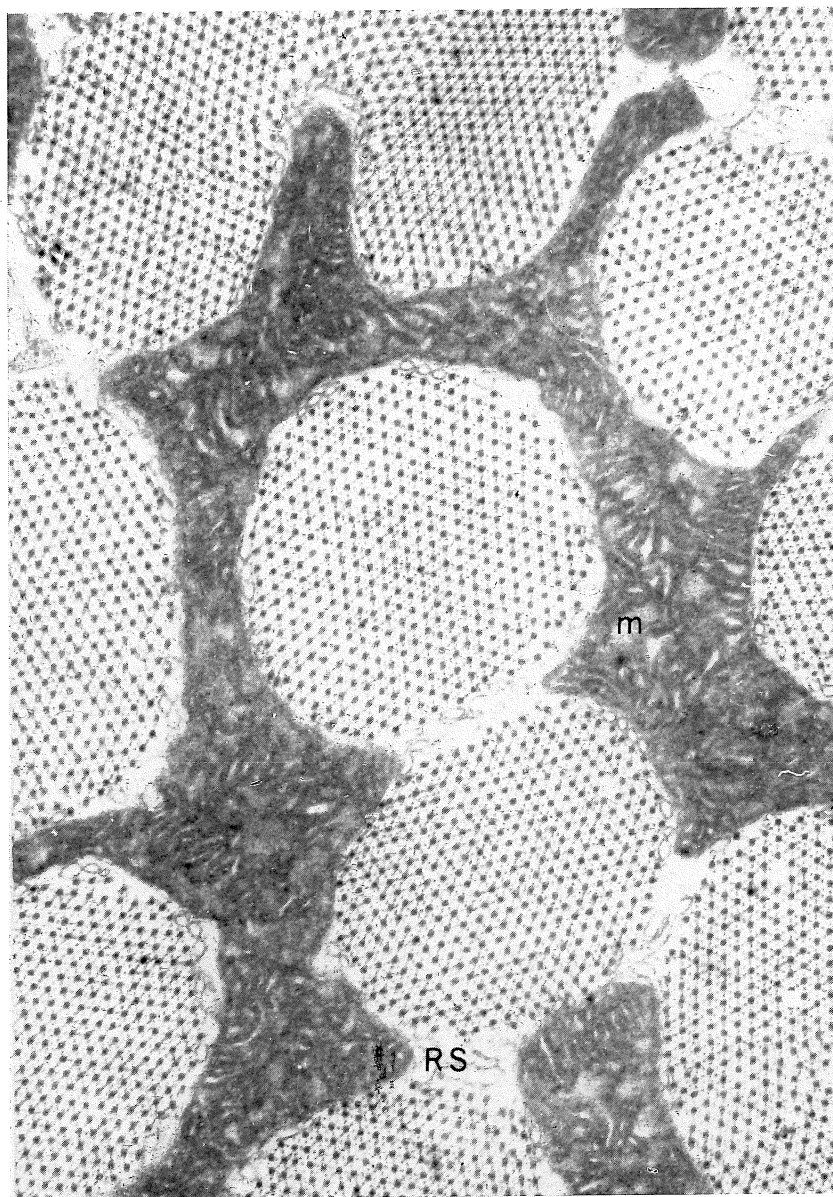


Fig. 2. - Muscolo dorso-ventrale, sezione trasversale a livello della banda A.
m = mitocondrio; RS = reticolo sarcoplasmatico ($\times 37.400$).

brillare asincrona (comune nei Ditteri, Imenotteri, Coleotteri ed Emitteri) la quale determina battiti alari che superano sempre i 100/sec.

In sezione trasversale la fibra si presenta costituita da numerose miofibrille a profilo pressoché circolare (fig. 1). Queste sono circondate da numerosi mitocondri, grandi, particolarmente ricchi in creste, che occupano quasi interamente lo spazio tra le miofibrille sino ad avvolgerle completamente. Alcuni mitocondri raggiungono una estensione tale da avvolgere con le loro espansioni più di una miofibrilla (fig. 2, m), con una disposizione piuttosto comune nella muscolatura del volo; altri invece, di dimensioni assai ridotte, sono inglobati al centro di miofibrille (figg. 1; 3, m; 4, m) e questa particolarità costituisce, per quanto ci consta, il primo e per ora unico reperto in materia, non essendo stata fino ad ora rilevata in altri casi.

Il reticolo sarcoplasmatico è abbastanza sviluppato (fig. 2, RS), contrariamente a quanto si verifica nella muscolatura del volo di tipo fibrillare asincrono. Le cisterne del reticolo (fig. 5, RS) circondano le miofibrille con sviluppo variabile in relazione alle bande del sarcomero con cui sono in contatto. È possibile inoltre osservare, sia a livello della stria Z che della banda H, una continuità del reticolo sarcoplasmatico, evidentemente correlata alla funzione di regolazione dello ione Ca durante le fasi di contrazione e di decontrazione del sarcomero. Le invaginazioni della membrana plasmatica sono sempre chiaramente visibili e penetrano profondamente nell'interno delle fibre a costituire i tubuli del sistema T. Frequenti sono gli appaiamenti a diade tra questo sistema di membrane e quello del reticolo sarcoplasmatico; essi sono localizzati ai margini delle miofibrille e risultano evidenti nelle sezioni trasversali condotte a livello della banda A (fig. 3, D).

Le trachee sono presenti sia lungo i margini esterni delle fibre (fig. 7, Tr) che internamente alle stesse (fig. 5, Tr) e sono localizzate immediatamente sotto la membrana sarcoplasmatica e diffuse negli spazi presenti tra le miofibrille.

Sempre in sezioni trasversali condotte a livello della banda A si può osservare, a forte ingrandimento, la disposizione dei miofilamenti contrattili (fig. 4). Essi sono di due tipi: quelli primari (di miosina) hanno un diametro di circa 240 Å e presentano una regolare disposizione esagonale; quelli secondari (di actina), più sottili, con diametro di circa 50-70 Å, sono disposti al centro dei segmenti di retta che uniscono tra loro due filamenti primari adiacenti. In questo mo-

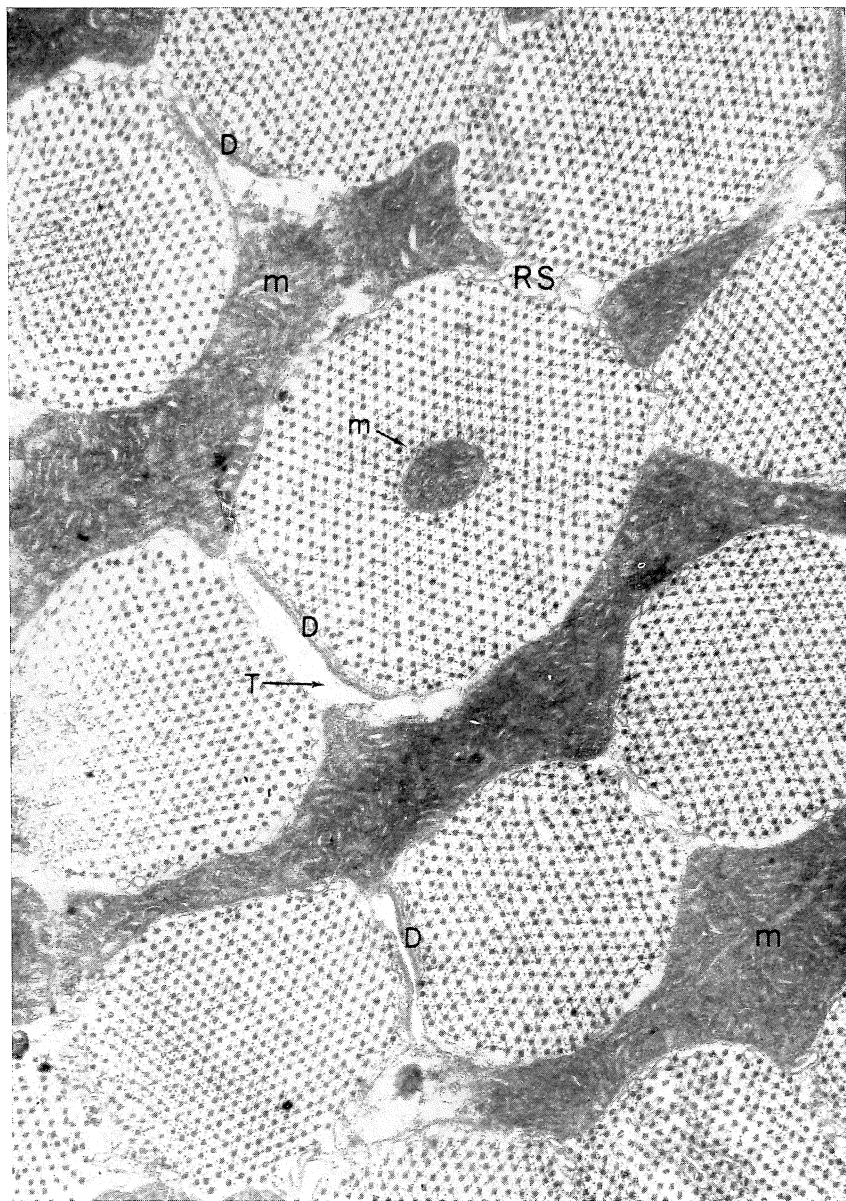


Fig. 3. - Muscolo longitudinale dorsale, sezione trasversale. D = diadi; m = mitocondri; RS = cisterna del reticolo sarcoplasmatico; T = sistema T ($\times 35.300$).

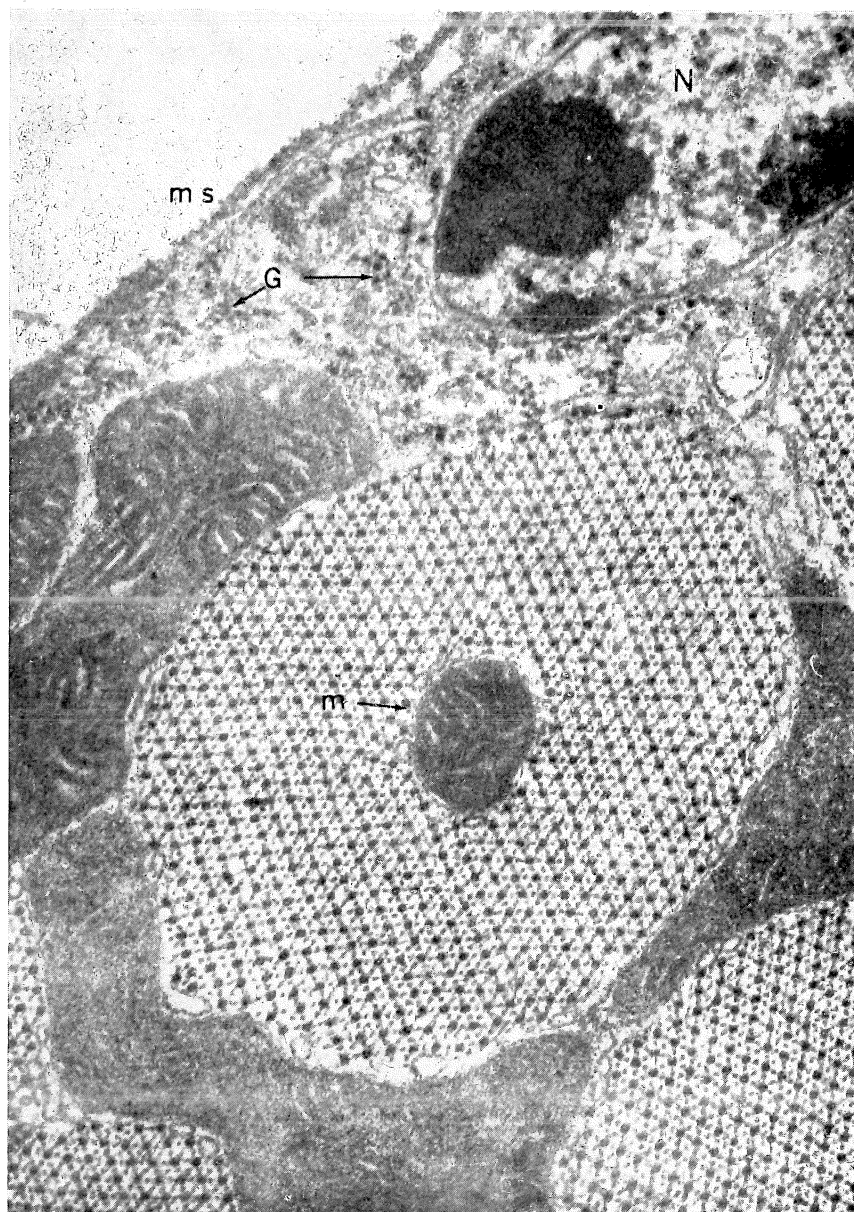


Fig. 4. - Muscolo dorso-ventrale, sezione trasversale. G = granulazioni; m = mitocondrio; ms = membrana sarcoplasmatica; N = nucleo ($\times 48.500$).

do la reciproca disposizione dei miofilamenti è tale che ogni filamento primario è circondato da 6 filamenti secondari, con un rapporto di 1/3 (disposizione tipica dei muscoli della I categoria, LANZAVECCHIA, 1967).

In sezioni lievemente oblique rispetto alla direzione trasversale, si possono rilevare le zone di transizione tra le diverse bande del

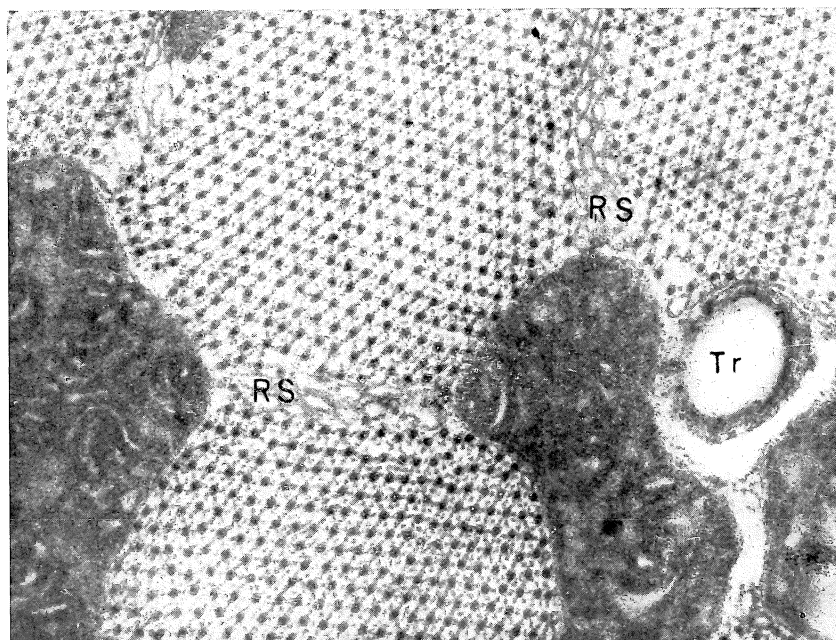


Fig. 5. - Muscolo longitudinale dorsale, sezione trasversale. RS = reticolo sarcoplasmatico; Tr = trachea ($\times 50.000$).

sarcomero (figg. 7, 8). In particolare la stria Z presenta una struttura a « placca perforata » con qualche somiglianza con quella descritta per i muscoli del volo dei Ditteri (AUBER e COUTEAUX, 1963) e osservabile generalmente nelle fibre muscolari del volo di Coleotteri (SAITA e CAMATINI, 1967), Lepidotteri (CAMATINI, 1967) ed Emitteri (SAITA, 1967), in cui il numero dei filamenti secondari attorno ad ogni filamento primario è uguale a 6.

A livello della banda H, dove esistono solo filamenti primari, si nota la presenza di un sistema di membrane del reticolo sarcoplasmatico disposto trasversalmente negli spazi tra i filamenti (fig. 6, RST). Questo « elemento trasverso » è già stato riferito in Lepidot-

teri Eteroceri (REGER e COOPER, 1967; AUBER, 1967; CAMATINI, 1967) mentre non è stato osservato nei Lepidotteri Ropaloceri (AUBER, 1967). Sempre nella banda H i filamenti presentano una sezione quasi rettangolare e il loro appiattimento è orientato verso il senso di penetrazione dei tubuli del reticolo trasverso, che spesso sembrano passare da una miofibrilla all'altra.

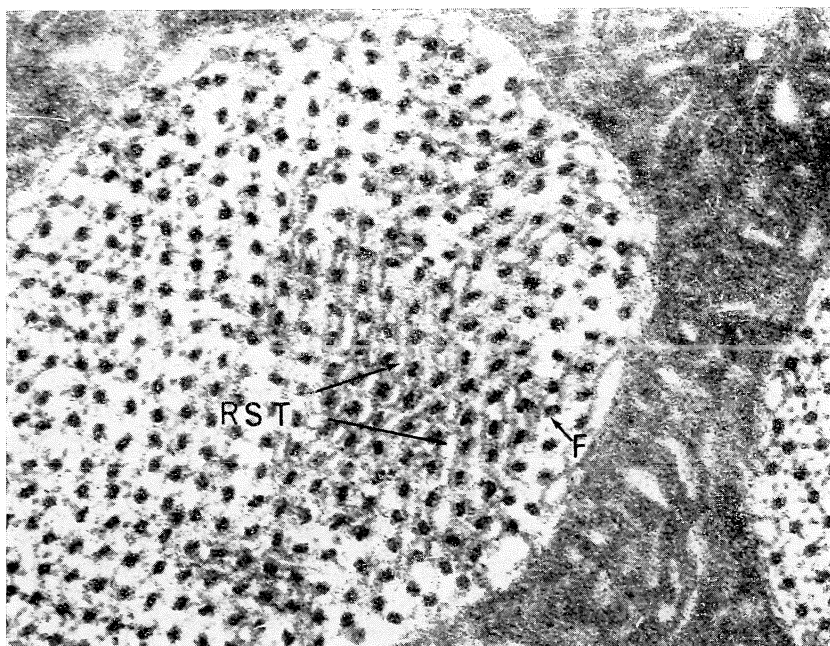


Fig. 6. - Muscolo longitudinale dorsale, sezione trasversale a livello della banda H. F = filamenti primari (a sezione rettangolare); RST = reticolo sarcoplasmatico trasverso ($\times 74.000$).

In sezione longitudinale (figg. 9, 10) si osservano le diverse bande dei sarcomeri e la disposizione delle miofibrille rispetto agli altri elementi cellulari. La lunghezza del sarcomero è di circa $2,5-3 \mu$, misura pressoché intermedia tra le dimensioni del sarcomero della muscolatura del volo fibrillare asincrono ($2-2,5 \mu$) e quella della muscolatura di tipo tonico non del volo (oltre 4μ).

Mentre nella muscolatura tonica la possibilità di escursione in lunghezza è piuttosto ampia nel passaggio da contrazione a decontrazione e conseguentemente la banda I — in stato di decontrazione — risulta piuttosto estesa, nella muscolatura del volo i due tipi

di filamenti sono sempre quasi completamente interdigitati e le variazioni in lunghezza dei sarcomeri non superano in genere il 5 %.

I filamenti primari sono lunghi circa $2,2 \mu$; non è tuttora possibile affermare che siano ancorati alla stria Z per mezzo di un filamento più sottile, il cosiddetto « filamento C » osservato nei Ditteri (AUBER e COUTEAUX, 1963); sulla base delle nostre osservazioni ciò sembrerebbe tuttavia probabile.

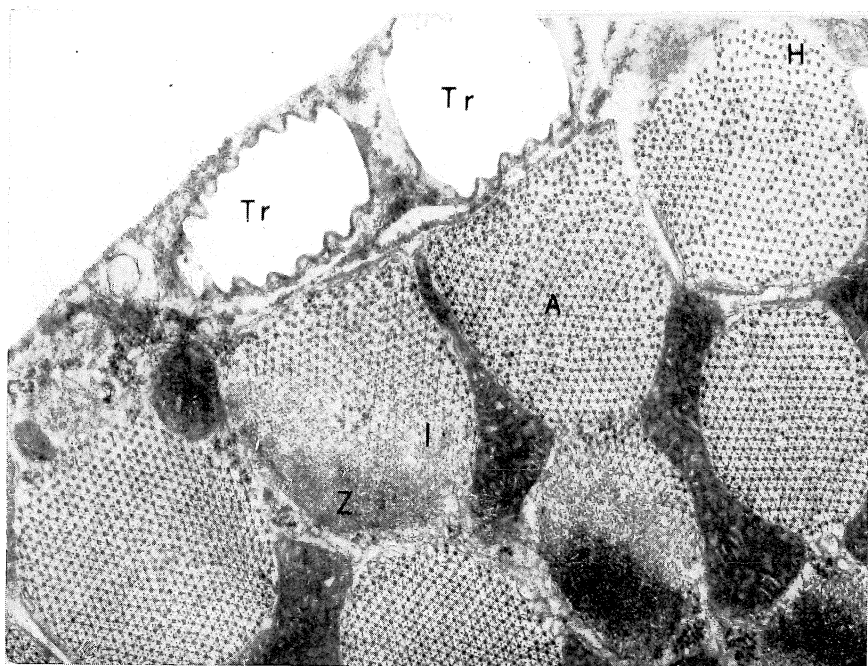


Fig. 7. - Muscolo basale, sezione obliqua. A = banda A; H = banda H; I = banda I; Tr = trachee; Z = stria Z ($\times 26.200$).

In *Bombyx mori* i sarcomeri risultano regolarmente allineati, in modo che le diverse bande si presentano al medesimo livello. Anche in sezione longitudinale è sempre chiaramente visibile il sistema trasverso di reticolo a livello della banda H (fig. 9, RST).

Il reticolo sarcoplasmatico che avvolge le miofibrille assume uno sviluppo maggiore in corrispondenza della stria Z (fig. 10, RS), dove è facile osservare una sua continuità tra miofibrille vicine. Gli appaiamenti fra le cisterne del reticolo sarcoplasmatico ed i tubuli del sistema T (diadi) avvengono regolarmente a livello delle bande A,

nelle zone intermedie tra le strie M e Z (figg. 9, D; 10, D). Lo spazio compreso tra le miofibrille è occupato pressoché interamente dai mitocondri, che sono allineati ed appiattiti tra i sarcomeri e si interrompono a livello delle diadi o delle cisterne del reticolo in corrispondenza delle strie Z (fig. 10, m).

Le piccole tracheole, tra le miofibrille, sono disposte prevalentemente a livello delle bande H e contraggono rapporti sia col reticolo sarcoplasmatico che col sistema T (fig. 10, Tr).

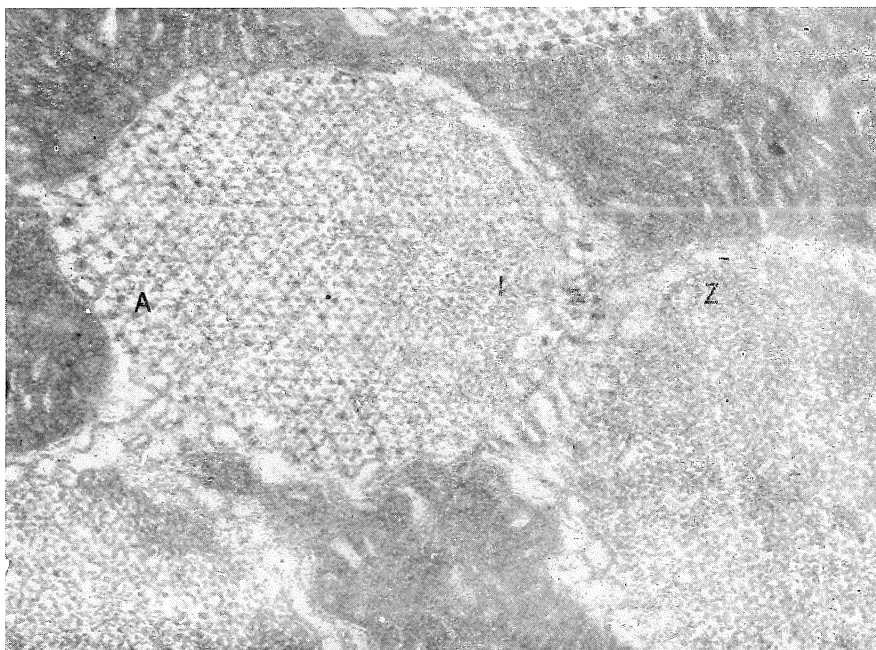


Fig. 8. - Muscolo basale, sezione obliqua. A = banda A; I = banda I; Z = stria Z ($\times 45.000$).

Tanto nelle sezioni trasversali che in quelle longitudinali, i nuclei appaiono in posizione laterale alle fibre, immediatamente sotto la membrana sarcoplasmatica e risultano circondati da materiale citoplasmatico particolarmente ricco di granulazioni di glicogeno e di ribosomi (fig. 4, N, G).

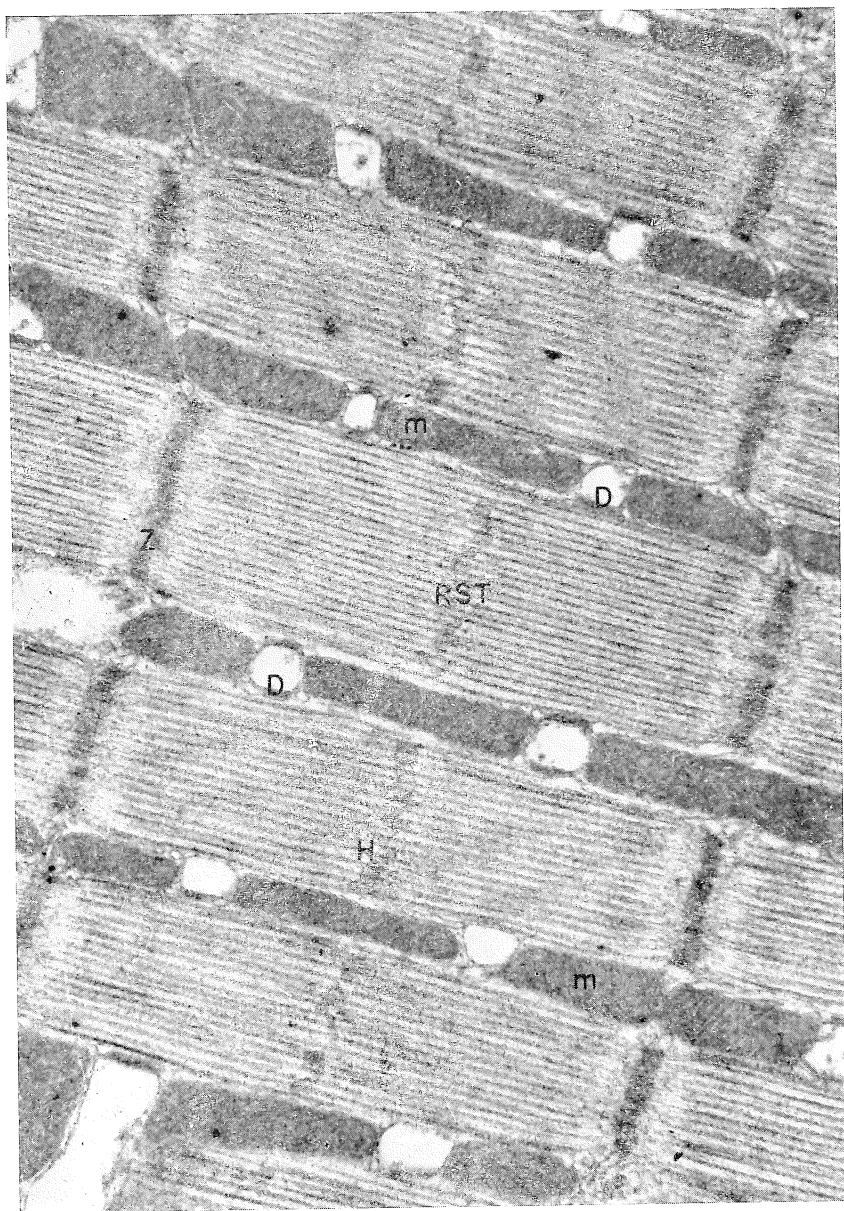


Fig. 9. - Muscolo dorso-ventrale, sezione longitudinale. D = diadi; H = banda H; m = mitocondri; RST = reticolo sarcoplasmatico trasverso; Z = stria Z ($\times 30.000$).



Fig. 10. - Muscolo longitudinale dorsale, sezione longitudinale. D = diadi; m = mitocondrio; RS = reticolo sarcoplasmatico; T = sistema T; Tr = trachea ($\times 35.000$).

DISCUSSIONE

I dati e le osservazioni che derivano dalla presente ricerca, posti a confronto con quelli a tutt'oggi disponibili sulla micromorfologia dei muscoli del volo negli Insetti, consentono non solo di effettuare un esame comparativo sugli aspetti morfologici ultrastrutturali di tali muscoli, ma anche di formulare alcune considerazioni circa eventuali correlazioni fra struttura e significato funzionale degli elementi osservati.

Appare anzitutto in netta evidenza una ricchezza del patrimonio mitocondriale, il cui valore assoluto — per quanto solo approssimativamente valutabile col metodo di analisi usato — può farsi ascendere in *Bombyx mori* al 50 % del volume totale della fibra muscolare, percentuale assai vicina a quella riscontrata in Coleotteri, Ditteri, Emitteri ed Imenotteri e nettamente più alta di quella presente in Ortotteri ed Odonati (ove non supera il 30 %).

I mitocondri sono di dimensioni particolarmente rilevanti e, strettamente impacchettati ad avvolgere le miofibrille, mostrano una disposizione simile a quella già descritta nella muscolatura alare di altre specie appartenenti a vari ordini. Tale disposizione differisce invece da quella osservata in Ditteri, in cui i mitocondri hanno profilo rotondeggiante e sono sparsi nella matrice sarcoplasmatica.

Caratteristica peculiare dei muscoli del volo di *Bombyx mori* e fino ad ora mai posta in evidenza in nessun tipo di muscolatura striata, è la presenza di mitocondri all'interno di alcune miofibrille. Questi mitocondri occupano una posizione centrale rispetto alla miofibrilla che li ingloba ed il loro profilo, in sezione trasversale, appare nettamente circolare.

Non è possibile, allo stato attuale delle nostre conoscenze, fornire una spiegazione della particolarità posta in luce, potendosi per ora soltanto supporre che l'inglobamento dei mitocondri avvenga durante i processi istogenetici del tessuto muscolare. Né sembra, d'altro canto, che le miofibrille debbano richiedere una più ampia superficie di contatto con elementi deputati a garantirne il fabbisogno energetico: la estrema diffusione della massa mitocondriale negli spazi interfibrillari, anche in relazione alla notevole riduzione del diametro delle miofibrille, nonché l'abbondanza di creste nei mitocondri stessi, parrebbero poter costituire una fonte di energia più che sufficiente in una specie in cui l'attività dei muscoli alari permette solo modesti battiti, senza che praticamente vi sia possibilità di volo.

Struttura e disposizione delle membrane, sia del reticolo sarcoplasmatico che del sistema T, risultano più facilmente correlabili con il significato funzionale delle stesse. In *Bombyx mori* le membrane del reticolo sarcoplasmatico avvolgono completamente le miofibrille ed assumono maggior sviluppo in corrispondenza della stria Z. Tenendo presente la loro funzione nella regolazione degli ioni Ca — necessari per la defosforilazione dell'ATP coinvolto nel ciclico succedersi dei legami fra actina e miosina durante l'attività muscolare — tale disposizione è ampiamente giustificata in muscoli a contrazione di tipo sincrono.

Ancora non sufficientemente chiarita rimane la funzione del « reticolo sarcoplasmatico trasverso ». Non sembrerebbe infatti poterla correlare alla sincronicità fra impulso nervoso e contrazione muscolare né alla frequenza del battito alare poiché tale elemento, presente in *Bombyx mori* e in altri Lepidotteri Eteroceri dotati di battito alare a frequenza « media », manca sia nei muscoli fibrillari asincroni che in quelli sincroni a frequenze « basse ». Esso potrebbe invece assicurare una più immediata risposta allo stimolo nervoso, provvedendo al convogliamento dello ione Ca nell'interno stesso della miofibrilla a livello della banda H.

Sia alla sincronicità fra stimolo nervoso e contrazione muscolare che all'immediatezza di risposta, sembra riferibile l'elevato numero di contatti diadici fra i due sistemi di membrane. Le diadi sono qui infatti più numerose che nei muscoli fibrillari, ove la depolarizzazione della membrana agisce su tutta la matrice sarcoplasmatica interna alle fibre muscolari.

La posizione del nucleo alla periferia della fibra è probabilmente dovuta all'ontogenesi della fibra stessa, come ipotizzato da PRINGLE (1965). Analoga posizione è stata osservata nei muscoli del volo di Ortoteri e in *Triphaena* (Lep. Noctuidae), mentre negli Odonati il nucleo occupa una posizione centrale e nei Coleotteri e Ditteri esistono più nuclei nell'interno della fibra.

Lo sviluppo della tracheolazione, particolarmente elevato nei muscoli fibrillari, è strettamente legato alle esigenze del metabolismo respiratorio. In *Bombyx mori* la rete dei capillari tracheali non si arresta ai margini delle fibre muscolari, ma, anche a motivo delle dimensioni piuttosto notevoli del diametro delle stesse fibre, si difonde all'interno del sarcoplasma fino agli spazi interfibrillari, con

l'evidente funzione di recare il necessario apporto di ossigeno ad un più ampio territorio muscolare.

Per quanto riguarda la disposizione dei miofilamenti i presenti reperti concordano con quanto osservato dai vari AA. sui muscoli del volo di numerose altre specie di Insetti.

Non abbiamo infine rilevato alcuna differenza nelle ultrastrutture muscolari dei due sessi di *Bombyx mori*, anche se nel maschio l'attività alare è più vistosa che non nella femmina. Se a ciò si aggiunge la constatazione che gli elementi (sia contrattili che sarcoplasmatici) della muscolatura del volo non manifestano aspetti particolarmente eccezionali, si deve convenire che la profonda opera selettiva alla quale la specie è stata sottoposta ed il regime di allevamento in cattività applicato da secoli hanno solo mortificato o annullato le possibilità di volo ma non inciso altrettanto profondamente sulle strutture contrattili e sugli elementi sarcoplasmatici della relativa muscolatura.

RIASSUNTO

Mediante le tecniche di microscopia elettronica viene studiata la struttura micromorfologica di alcuni muscoli del volo in *Bombyx mori* L.

Gli AA. compiono un esame comparativo degli aspetti morfologici ultrastrutturali di detti muscoli con quelli di muscoli omologhi in altre specie entomologiche e formulano alcune considerazioni circa eventuali correlazioni fra struttura morfologica e significato funzionale degli elementi osservati.

SUMMARY

The structure of some flight muscles in *Bombyx mori* L. has been studied by electron microscopy.

Morphological organisation (membrane systems, mitochondrial content, the arrangement of thick and thin myofilaments etc.) is compared with structural features in homologous insect flight muscles, in order to be related to muscular functional conditions.

BIBLIOGRAFIA

- ASHHURST D. E., 1967 - Z-line of the flight muscle of Belostomatid Water Bugs. *J. molec. Biol.*, 27, 385-389.
- AUBER Y., 1967 - Particularités ultrastructurales des myofibrilles des muscles du vol chez des Lepidoptères. *C. r. hebdomadaire Séances Acad. Sci., Paris*, 264, 621-628.
- AUBER Y., COUTEAUX R., 1963 - Ultrastructure de la strie Z dans les muscles de Diptères. *J. Microscopie*, 3, 105-110.
- CAMATINI M., 1967 - Electron microscope study on the Lepidoptera flight muscles. *Atti VI Congr. ital. Microsc. elettronica* (in corso di stampa).

- CHAUVIN R., 1956 - Physiologie de l'insecte, Paris, 917 pp., 104 figg.
- EDWARDS G. A., RUSKA H., DE SOUZA SANTOS P., VALLEGIO FREIRE A., 1956 - Comparative cytophysiology of striated muscle with special reference to the role of the endoplasmic reticulum. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 2, 143-150.
- EDWARDS G. A., RUSKA H., HARVEN M. D., 1958 - Neuromuscular junctions in flight and tymbal muscles of the *Cicada*. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 4, 251-255.
- GRANDI G., 1966 - Istituzioni di Entomologia generale, Bologna, 655 pp., 424 figg.
- LANZAVECCHIA G., 1967 - Analisi comparata ultrastrutturale dei sistemi contrattili. *Rc. Ist. lomb. Sci. Lett.*, B, 101, 233-328.
- LANZAVECCHIA G., VILLA L., 1967 - Studio morfologico ultrastrutturale del torace di Ortotteri *Acrida* sp. e *Pamphagus* sp.. *Atti Accad. naz. Lincei Rc.*, 42, 711-719.
- PRINGLE Y. W. S., 1965 - Locomotion: flight (in: The Physiology of Insecta, New York e London, vol. 2, cfr. pp. 283-329).
- PRINGLE Y. W. S., 1967 - The contractile mechanism of Insect fibrillar muscle. *Prog. Biophys. mol. Biol.*, 17, 1-60.
- REGER Y. F., COOPER D. P., 1967 - A comparative study on the fine structure of the basalar muscle of the leg of the lepidopteran *Achalarus lycades*. *J. Cell Biol.*, 33, 531-542.
- REYNOLDS E., 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque strain in Electron Microscopy. *J. Cell Biol.*, 17, 208-213.
- ROEDER K. D., 1951 - Movements of the thorax and potential changes in the thoracic muscles of insects during flight. *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole*, 100 (2), 95-106.
- SAITA A., 1967 - Electron microscope observations on *Notonecta* sp. (Hemiptera, Heteroptera) muscle fibers. *Atti VI Congr. ital. Microsc. elettronica* (in corso di stampa).
- SAITA A., CAMATINI M., 1967 - Studio comparativo al microscopio elettronico di diversi tipi di fibre muscolari in *Cetonia aurata*. *Rc. Ist. lomb. Sci. Lett.* B, 101, 521-541.
- SHAFIQ S. A., 1963 - Electron microscopic studies on the indirect flight muscles of *Drosophila melanogaster*. I. Structure of the myofibrils. *J. Cell Biol.*, 17, 351-362.
- SMITH D. S., 1961a - The organisation of the flight muscle in a dragonfly, *Aeshna* sp. (Odonata). *J. biophys. biochem. Cytol.*, 11, 119-146.
- SMITH D. S., 1961b - The structure of insect fibrillar flight muscle. A study made with special reference to the membrane system of the fiber. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 10 suppl., 123-158.
- SMITH D. S., 1962 - Cytological studies on some insect muscles (with special reference to the sarcoplasmic reticulum). *Revue can. Biol.*, 21, 279-302.
- SMITH D. S., 1963 - The structure of flight muscle sarcosomes in the blowfly *Calliphora erythrocephala* (Diptera). *J. Cell Biol.*, 19, 115-138.
- SMITH D. S., 1965 - The organisation of flight muscle in a aphid, *Megoura viciae* (Homoptera). *J. Cell Biol.*, 27, 379-393.
- SMITH D. S., 1966a - The organisation of flight muscle fiber in the Odonata. *J. Cell Biol.*, 28, 109-126.
- SMITH D. S., 1966b - The organisation and function of the sarcoplasmic reticulum and T-system of muscle cells. *Prog. Biophys. mol. Biol.*, 16, 109-142.
- SOTAVALTA O., 1954 - The effect of wing inertia on the wing-stroke frequency of Moths Dragonflies and Cockroach. *Suom. hyönt. Aikak.*, 20 (3), 93-101.
- VOGELL W., BRSHAI F. R., BÜCHER T., KLINGENBERG M., PETTE D., ZEBE E., 1959 - Über strukturelle und enzymatische Muster in Muskeln von *Locusta migratoria*. *Biochem. Z.*, 332, 81-117.
- WEBER H., 1933 - Lehrbuch der Entomologie, Jena, 726 pp., 555 figg..

