

# microscopie

Anno XIV - n.2 (28) Settembre 2017



**Nuovo logo SISM**

**Il Presidente Mattarella all'ISS**

**Attività SISM 2017**



**Società Italiana  
Scienze Microscopiche**

[www.sism.it](http://www.sism.it)



**Presidente**

ELISABETTA FALCIERI  
Dipartimento di Scienze Biomolecolari,  
Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"  
Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' Le Suore 2,  
61029 Urbino (PU)  
Tel/Fax +39.0722.304284  
E-mail: elisabetta.falcieri@uniurb.it

**Vicepresidenti**

ROBERTO BALBONI  
Istituto per la Microelettronica e i Microsistemi,  
CNR Bologna  
via P. Gobetti 101, 40129 Bologna  
Tel. +39.051.6399186 - Fax: +39.051.6399216  
E-mail: balboni@bo.imm.cnr.it

STEFANIA MESCHINI

Istituto Superiore di Sanità  
viale Regina Elena 299, 00161 Roma  
Tel. +39.06.49902783 - Fax: +39.06.4938 7140  
E-mail: stefania.meschini@iss.it

**Direttore responsabile del bollettino**

MANUELA MALATESTA  
Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina  
e Movimento, Sezione di Anatomia e Istologia  
Università degli Studi di Verona  
strada Le Grazie 8, 37134 Verona  
Tel. +39.045.8027569/8425115  
E-mail: manuela.malatesta@univr.it

**Consiglieri**

CRISTIANO ALBONETTI  
Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati (ISMN),  
CNR Bologna  
via P. Gobetti 101, 40129 Bologna  
Tel. +39.051.6398531/6398523/6398526  
Fax: +39.051.6398540  
E-mail: c.albonetti@bo.ismn.cnr.it

REGINA CIANCIO

IOM-CNR TASC  
Area Science Park Basovizza  
S.S. 14 Km 163.5, 34012 Trieste  
Tel. +39.040.3756467 - Fax: +39.040.226767  
E-mail: ciancio@iom.cnr.it

MASSIMO TONELLI

CIGS, Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti  
Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia  
via Campi 213/a, 41125 Modena  
Tel. +39.059.2055737 - Fax: +39.059.2055600  
E-mail: massimo.tonelli@unimore.it

Organo Ufficiale della Società Italiana Scienze  
Microscopiche  
<http://www.sism.it>

**Direttore Responsabile**

Manuela Malatesta

**Comitato di Redazione**

Consiglio Direttivo della Società Italiana Scienze Microscopiche

**Editore**

PAGEPress s.r.l.  
Via A. Cavagna Sangiuliani 5  
27100 Pavia, Italy  
Tel. +39.0382.464340 - Fax: +39.0382.34872.  
[info@pagepress.org](mailto:info@pagepress.org) - [www.pagepress.org](http://www.pagepress.org)

**Stampa**

Press Up s.r.l.  
via La Spezia, 118/C 00055 - Ladispoli (RM)  
Tel. e Fax: +39.076152735.

Aut. Trib. n. 688 S.P. del 26 marzo 2008

In copertina: *Nuovo logo della SISM*

# ndice

## Editoriale del Presidente

3

## Attività SISM

Verbale del CD di gennaio 2017

4

Verbale del CD di maggio 2017

6

Attività promosse dalla SISM nel 2017

10

Presentazione sito web e logo

18

## Notizie

Il Presidente Mattarella in visita all'ISS

19

Eventi nazionali

22

Eventi internazionali

23

## Contributi scientifici

Ultrastructural immunodetection of the regulatory factors PAX7 and MyoD in myonuclei  
of sedentary and trained old mice

*M. Costanzo, B. Cisterna*

25

Scanning electron microscopy in the taxonomical study of free-living marine nematodes

*L. Cesaroni, L. Guidi, M. Balsamo, F. Semprucci*

31

## ISCRIZIONE

Possono iscriversi alla Società i ricercatori e gli operatori professionali comunque attivi nel campo delle diverse microscopie. Per l'iscrizione alla Società è necessario compilare la richiesta di associazione ed inviarla al Presidente. La scheda di associazione può essere compilata direttamente sul sito web della società all'indirizzo [www.sism.it](http://www.sism.it) oppure può essere reperita in questo periodico ed inviata via fax. Le richieste verranno valutate dal Consiglio Direttivo nella prima riunione utile e l'approvazione dei nuovi Soci sarà comunicata personalmente agli interessati. Dopo tale comunicazione il nuovo Socio può procedere al pagamento della quota sociale secondo le modalità riportate sotto.

## QUOTA SOCIALE

La quota sociale è di euro 35 per i Soci ordinari e di euro 25 per i non strutturati. I Soci non strutturati, unitamente alla quota sociale, dovranno far pervenire al Presidente della Società una dichiarazione attestante il proprio status.

Modalità di pagamento:

a) mediante carta di credito dal sito [www.sism.it](http://www.sism.it)

b) mediante invio di un assegno bancario non trasferibile intestato a S.I.S.M.

l'assegno deve essere spedito alla Prof.ssa Elisabetta Falcieri, Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA), Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' Le Suore 2, 61029 Urbino (PU)

c) mediante bonifico bancario intestato a S.I.S.M.

codice IBAN IT4300200802455000103039142

Presso Unicredit, Agenzia 3305 "Bologna Dante"

Causale: "NOME del SOCIO"

## SEDE SOCIALE

*Prof.ssa Elisabetta Falcieri*

Dipartimento di Scienze Biomolecolari, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' Le Suore 2, località Crocicchia, 61029 Urbino

Tel/Fax +39.0722.304284

E-mail: [elisabetta.falcieri@uniurb.it](mailto:elisabetta.falcieri@uniurb.it)

P.IVA 05089821002 C.F. 80181630155

Si ricorda che le richieste di associazione verranno valutate dal Consiglio Direttivo e l'approvazione dei nuovi Soci verrà comunicata personalmente agli interessati.

Il pagamento della quota di associazione deve essere effettuato solo dopo il ricevimento della comunicazione dell'approvazione, da parte del Direttivo, della richiesta di associazione.

Il sottoscritto richiede l'ammissione alla SISM in qualità di:

- Socio ordinario (35 euro)  
 Socio non strutturato (25 euro)

Titolo, Nome e Cognome

Data di nascita

Titolo di studio e qualifica

Tipo di istituzione

- Università  CNR  Industria  Commerciale  Altro ente pubblico di ricerca

Istituto/Ente/Ditta

Dipartimento

Indirizzo

Città

CAP

Telefono

Fax

E-mail

Indirizzo cui inviare la corrispondenza, se diverso dal precedente

Settore di attività

- Biomedico  Scienza dei materiali  Commerciale  Altro (specificare) \_\_\_\_\_

Come deliberato nell'Assemblea Generale del 24/09/2001 ogni Socio SISM è anche Socio EMS.

Questi stessi dati saranno pertanto automaticamente inviati anche all'EMS, di cui la SISM fa parte. I dati dei Soci sono utilizzati dalla Segreteria EMS per distribuire il Notiziario in forma elettronica, per annunciare informazioni importanti come Congressi, Corsi, Scuole e per pubblicare l'Annuario dei Soci EMS.

Se si desidera che i propri dati personali non compaiano nell'annuario EMS, selezionare l'apposita opzione.

- Chiedo che il mio indirizzo privato non compaia nell'annuario EMS  
 Chiedo che il mio numero di telefono/fax non compaia nell'annuario EMS

Data \_\_\_\_\_

Firma \_\_\_\_\_

Inviare via fax a:

Prof.ssa Elisabetta Falcieri

Dipartimento di Scienze Biomolecolari, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' Le Suore 2, 61029 Urbino (PU)

Tel. +39.0722.304284 Fax: +39.0722.304244

# Editoriale

Cari Amici e Colleghi,

Nel corso del 2017 la SISM ha organizzato una serie di attività, alcune come successive edizioni di eventi precedenti e altre di assoluta novità.

Presso il Campus Scientifico di Urbino è stato organizzato il 6-7 febbraio il Workshop su “La Microscopia Elettronica applicata allo studio dei Beni Culturali”, con la consueta impostazione basata sulle presentazioni, in Aula Magna, da parte di relatori provenienti da varie Università e Centri di Bari, Bologna, Ferrara, Genova, Padova, Trento, Urbino e Venezia, e su esercitazioni tecnico-pratiche, organizzate nei laboratori del Campus. Nel secondo giorno, oltre alle relazioni, ha avuto luogo una sessione dedicata alle Aziende del settore.

Anche quest'anno, dal 13 al 15 settembre, presso il Centro Interfacoltà Grandi Strumenti di Modena è stato proposto il Corso Base integrato di Microscopia Confocale e Microscopia Elettronica TEM/SEM, organizzato dal nostro consigliere Massimo Tonelli. Il corso ha raggiunto il numero previsto di iscritti e si è svolto con successo.

Come sapete, dal 24 al 29 settembre, a Rovigno, si è svolto il Multinational Congress on Microscopy, importante evento con cadenza biennale in cui la nostra Società è coinvolta da sempre. Nell'organizzazione hanno avuto parte attiva, come *chairperson* e organizzatori di sessioni, Roberto Balboni, Stefania Meschini, Manuela Malatesta, Cristiano Albonetti, Regina Ciancio e la sottoscritta. Durante il congresso si è svolta la riunione del Board delle Società del Multinational, la riunione del nostro Consiglio Direttivo e la nostra Assemblea dei Soci, nel corso della quale è stato dato avvio alle procedure per l'elezione del Presidente e dei Consiglieri per il prossimo biennio, 2018-2019.

Novità di questi ultimi mesi è anche il rinnovo, a cura di Roberto Balboni, del nostro sito web, grazie al quale, per la prima volta, potranno essere effettuate on-line le votazioni delle cariche sociali.

Il MCM 2017 è stato preceduto da un *Meeting* satellite su “Combining electrons with X-rays for *in-operando* experiments (COEX)”, organizzato da Regina Ciancio presso l'ICTP di Trieste. I relatori e gli iscritti al *workshop* sono stati, in parte, coinvolti anche nel congresso di Rovigno, dando così un valore aggiunto al MCM e alla SISM.

Per favorire anche quest'anno la partecipazione al Congresso dei nostri giovani non strutturati, la SISM ha bandito 10 premi di partecipazione dell'importo di 750 Euro ciascuno, che sono stati consegnati alla fine dell'Assemblea dei Soci. Per il Settore Biomedico sono risultati vincitori i dottori M. Battistelli (Urbino), M. Costanzo (Verona), S. Salucci (Urbino), V. Guglielmi (Verona) e S. Bernardi (L' Aquila) e, per il Settore Scienza dei Materiali, i dottori S. Dal Zilio (Trieste), M. Donarelli (Brescia), F. Venturi (Modena), A. Serafini (Milano) e N. Bursi Gandolfi (Modena).

Inoltre, anche quest' anno, sono stati banditi 4 Premi SISM di 500 Euro per Tesi di Dottorato, finalizzati alla partecipazione ad un evento scientifico di ambito microscopico. Sono risultate vincitrici le dottoresse F. Cinti (Roma, Policlinico Gemelli) e S. Miglietta (Roma, La Sapienza) per il Settore Biomedico, e R. Mazzaro (Bologna) e A. Impagnatiello (Marsiglia) per il Settore Scienza dei Materiali. Infine, sono in preparazione il *Workshop* “Correlative Microscopy in Life and in Materials Sciences”, che si svolgerà a Roma il 6-7 novembre, presso l'Istituto Superiore di Sanità, a cura di Stefania Meschini, il Corso su “Microscopia Elettronica e Microscopia Confocale in ambito botanico”, organizzato presso il CIGS di Modena, il 4-5 dicembre, da Massimo Tonelli, e la Scuola teorico-pratica “Scanning Electron Microscopy in Materials Science”, organizzata da Roberto Balboni presso il CNR IMM di Bologna, dal 12 al 15 dicembre 2017.

Un caloroso grazie, ancora una volta, a tutti coloro che sostengono la SISM nelle sue attività di formazione, nella certezza che questo impegno porterà sempre un importante contributo per il progresso della microscopia.

## Consiglio direttivo della SISM

**Verbale della riunione del 16 gennaio 2017**

Il giorno 16 gennaio 2017 alle ore 10.30, presso il Dipartimento di Scienze Anatomiche Umane, in Via Irnerio, 48 a Bologna, si è svolta, in aula E, una riunione del Consiglio Direttivo SISM, per discutere il seguente OdG:

1. Approvazione del verbale della riunione precedente
2. Aggiornamento gestione amministrativa della Società
3. Sito web SISM
4. Candidatura di Bologna per l'organizzazione del MCM2019
5. Attività SISM 2017
6. Bandi Premi SISM MCM 2017, Rovigno
7. Bandi Premi SISM tesi di dottorato 2017
8. Approvazione ammissione nuovi Soci
9. Varie ed eventuali

Sono presenti: *Cristiano Albonetti, Regina Ciancio, Elisabetta Falcieri, Stefania Meschini e Massimo Tonelli.*

Assenti giustificati: *Roberto Balboni, Manuela Malatesta*

Presiede *Elisabetta Falcieri*; svolge le funzioni di segretario verbalizzante *Sara Salucci*.

1. Il verbale della riunione del Consiglio Direttivo del 24 ottobre 2016 viene approvato all'unanimità.
2. Il Presidente riferisce sulla situazione amministrativa della SISM, che conta in data odierna un attivo di 23.000 Euro, frutto degli eventi organizzati, degli sponsor ufficiali della società (FEI, Jeol, Gambetti) nonché del contributo di aziende che hanno sponsorizzato singoli eventi.
3. Il sito web della società è ad oggi ancora da definire. C. Albonetti propone un tecnico informatico del CNR che però non darebbe la disponibilità fuori orario di lavoro e quindi il CD non è concorde. R. Ciancio potrebbe chiedere ad un dipendente del Sincrotrone ma poi risulterebbe difficile interfacciarsi con R. Balboni che è il referente del sito. C. Albonetti supportato dal CD, decide di accordarsi con R. Balboni per sistemare la questione sito web, impegnandosi a comunicare prima possibile la soluzione migliore per risolvere il problema.
4. C. Albonetti illustra al CD l'organizzazione dell'MCM19 a Bologna. Gli spazi del CNR sono in grado contenere all'incirca 400 partecipanti. Sono invece da riorganizzare gli spazi espositivi dedicati alle ditte. Verso la fine di febbraio e i primi di marzo, risolti i problemi logistici e organizzativi, C. Albonetti comunicherà se sarà possibile organizzare l'MCM19 a Bologna.
5. Il Presidente riferisce le attività organizzate dalla SISM nel 2017.
  - Workshop: "La microscopia elettronica applicata allo studio dei Beni Culturali", Università degli Studi di Urbino (Urbino, 6-7 febbraio 2017)
  - Corso base integrato di microscopia confocale e microscopia elettronica a trasmissione, Modena, C.I.G.S. (Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia) Settembre 2017
  - Microscopia applicata alla botanica organizzata dal Dr. M. Tonelli, presso l'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia. M. Tonelli riferisce che il workshop sarà i primi di dicembre e sarà orga-

- nizzato con il supporto dei botanici di Modena. Riferisce, inoltre, che potrà essere corredato anche da una parte pratica e sarà riservato ad un numero limitato di persone, circa 20.
- “Microscopia correlativa”, evento organizzato dalla Dr.ssa S. Meschini presso l’Istituto Superiore di Sanità (Roma, 6-7 novembre 2017). S. Meschini, che con l’aiuto del prof. G. Arancia sta organizzando tale evento, fornisce informazioni dettagliate sul programma che è stato stilato in italiano. Poiché tra gli esperti invitati, alcuni dei quali delle ditte Tescan e Termofisher, ne compaiono alcuni non italiani, il CD suggerisce di stilare il programma in lingua inglese. Inoltre, S. Meschini dettaglia sulle comunicazioni brevi dei partecipanti che dovranno essere di circa 10 minuti con la possibilità di pubblicare gli abstract o su Microscopie o su European Journal of Histochemistry, nonché sugli Annali d’Istituto. Il CD suggerisce di optare per la rivista European Journal of Histochemistry, dopo parere positivo dell’Editor.
  - Scuola SEM (Bologna, 20-23 novembre). La Dr.ssa R. Ciancio riferisce sull’evento teorico-pratico che affronterà i principi base della microscopia a scansione, inclusi la STEM e il FIB.
  - C. Albonetti riferisce che nel 2018 farà una scuola dedicata alla microscopia a sonda applicata alla biofisica.
6. Il CD approva il bando sui contributi di partecipazione SISM per Rovigno, che saranno 10 dell’importo di 750 Euro ciascuno. Nell’occasione il Presidente riferisce sulla situazione chair e invited, tra quest’ultimi compaiono gli italiani Quaglino, Montone, Mengucci e Grillo.
  7. Il CD, visto il successo dell’edizione 2016, approva il bando “premi SISM borse di dottorato” con 4 premi di 500 Euro ciascuno (2 relativamente al settore Scienze dei Materiali e 2 a quello di Scienze della Vita) alle migliori tesi dottorato (2014, 2015, 2016) per favorire la partecipazione di giovani ricercatori a scuole, congressi e stage.
  8. Nuovi Soci: Bartolini Luca, Biasucci Mariano, Boarino Luca, Brucale Marco, Cavalcoli Daniela, Fazi Laura, Fedeli Paolo, Goletti Claudio, Leo Gabriella, Moro Daniele, Musetti Rita, Natali Marco, Soldà Alice, Rossi Marco, Salerno Marco, Picone Andrea
  9. E. Falcieri commenta il successo del CD SISM, tutti componenti sono nel board dell’organizzazione del MCM di Rovigno. R. Ciancio propone, vista la vicinanza di Rovigno con Trieste, di organizzare, con il supporto del Sincrotrone, un meeting satellite dedicato a “In operando microscopy”. Il CD approva all’unanimità.

Alle ore 13:30, null’altro essendovi da deliberare, il Presidente dichiara chiusa la seduta.

Alle 14:30 il CD incontra le ditte per presentare le attività SISM 2017. Sono presenti Clementi per la 2M strumenti, Vailati per la Bruker, Lamedica per Zeiss e Nardini per Nikon.

*Cristiano Albonetti  
Regina Ciancio  
Elisabetta Falcieri  
Stefania Meschini  
Massimo Tonelli*

## Consiglio direttivo della SISM

## Verbale della riunione del 29 maggio 2017

Il giorno 29 maggio 2017 alle ore 10.30, presso l'Istituto CNR-IMM, via P. Gobetti 101, a Bologna, si è svolta, in aula 338, una riunione del Consiglio Direttivo SISM, per discutere il seguente OdG:

1. Approvazione del verbale della riunione precedente
2. Aggiornamento Sito web
3. MCM2017 Rovinji, meeting satellite Trieste
4. Candidature Presidente e Componenti CD biennio 2017-2019
5. Aggiornamento candidatura MCM2019 Bologna
6. Graduatorie premi tesi di Dottorato 2017
7. Graduatorie premi di partecipazione MCM2017 Rovinji
8. Altre attività SISM 2017
9. Microscopie
10. Approvazione ammissione nuovi Soci
11. Situazione finanziaria Società e segreteria SISM
12. Varie ed eventuali.

Sono presenti: *Cristiano Albonetti, Roberto Balboni, Regina Ciancio, Elisabetta Falcieri, Manuela Malatesta, Stefania Meschini e Massimo Tonelli.*

Presiede *Elisabetta Falcieri*; svolge le funzioni di segretario verbalizzante *Sara Salucci*.

1. Il verbale della riunione del Consiglio Direttivo del 16 gennaio 2017 viene approvato all'unanimità.
2. Alle ore 11 entrano in aula Alex Rivoli e Luca Raggi, ovvero coloro che stanno costruendo il nuovo sito web della società. Viene presentata l'impostazione grafica del sito e le bozze del logo SISM in una versione più moderna. R. Ciancio suggerisce di sostituire la sezione "download" con "Press release", nella quale inserire rivista, newsletter, brochure. Suggestisce, inoltre, di inserire una mappa d'Italia con indicati i laboratori di microscopia. Il Presidente dice di prestare attenzione perché questo aspetto potrebbe essere un punto di criticità. M. Malatesta nella sezione "eventi" consiglia di inserire solo quelli prettamente organizzati dalla SISM, mentre nella sezione "news" inserirebbe tutti gli altri. Inoltre, propone, per ogni singolo evento di inserire il link che rimanda alla pagina web dello specifico congresso/workshop. R. Balboni consiglia di inserire anche una breve descrizione dell'evento, mentre il programma potrebbe essere inserito nella voce "read more". Il nuovo sito consente, inoltre, all'organizzatore dell'evento di gestirsi autonomamente con la possibilità di inserire pdf delle locandine, di controllare i partecipanti, ecc. Il CD all'unanimità decide che la lingua del sito sarà l'inglese. Verrà anche valutata la modalità di pagamento delle quote e delle iscrizioni ai corsi/scuole attraverso Paypal. Inoltre, il CD accetta di diffondere gli eventi SISM sui social network quali facebook e twitter. Tra circa un mese sarà pronta la demo del sito per essere visionata e approvata definitivamente.
3. Relativamente al meeting satellite del MCM2017, R. Ciancio riferisce che l'organizzazione è a buon punto. Tutti gli speaker hanno accettato l'invito, sono rimasti al momento 2 posti liberi per le corporate presentation (poche aziende hanno risposto). Grazie all'aiuto dell'Ing. Clementi, il meeting ha ricevuto il contributo di 1000 Euro dall'azienda DANCE. Una parte degli sponsor deriva da un progetto coordinato da R. Ciancio (importo compreso tra i 1000-2000 Euro). L'annuncio del meeting



verrà inviato ai soci SISM, all'EMS e alla Società Croata di Microscopia. La location dove si svolgerà è Grignano e il meeting comincerà alle ore 14 del 23 settembre con la presentazione di benvenuto da parte di A. Gaiovic (organizzatrice del MCM di Rovigno), di E. Falcieri, quale presidente SISM, e con l'intervento di R. Ciancio che presenterà i contenuti scientifici del convegno. R. Ciancio propone il rimborso viaggio e la notte in albergo per alcuni speaker, fissando un tetto (travel expenses) di 400 Euro. R. Ciancio riferisce che le spese totali dovrebbero aggirarsi intorno ai 6000 Euro, e che il rimborso relatori dovrebbe essere sui 2000 Euro, tenendo conto del fatto che al massimo sono 4 gli invitati da rimborsare. Bisogna, inoltre, considerare le entrate che derivano dagli sponsor e dalle quote iscritti, quindi si potrebbe rimborsare ai relatori anche il viaggio. Il CD concorda all'unanimità.

4. Tutti i componenti del CD intendono candidarsi nuovamente per il biennio 2017-2019. Occorrerà quindi preparare una riunione del CD durante il congresso di Rovigno ed indire l'assemblea dei Soci. Si vedrà se durante l'Assemblea si faranno avanti nuove candidature. Per poter presentare la propria candidature e per votare occorre essere socio SISM in regola almeno 24 ore prima dell'assemblea, come da statuto.
5. Alle ore 14.30 interviene al CD il Dr. V. Morandi che, insieme a C. Albonetti, è impegnato nell'organizzazione della candidatura dell'MCM19 a Bologna, con il supporto dall'agenzia Noema. V. Morandi riferisce che la scelta di Bologna quale sede del prossimo MCM è una scelta legata al fatto che la città è storicamente la madre della microscopia italiana. Presenta notevoli vantaggi: è facile da raggiungere e i prezzi della sede sono contenuti. Bisognerà, però, coordinare bene i trasporti. Unica criticità di Bologna è il prezzo degli alberghi che non sempre è contenuto. Il CNR-IMM sarà la sede in cui si svolgerà l'evento: è presente un'aula da 350 persone che sarà dedicata alle sessioni plenarie, e due aule che contengono 80 posti ciascuna. Non mancano aule o spazi che saranno dedicati ai vari workshop o board. Gli spazi espositivi saranno completati da gazebo esterni il cui affitto si aggira intorno ai 10000 Euro. La data dell'evento sarà intorno alla prima/seconda settimana di settembre 2019. Le quote di iscrizione saranno di circa il 5-10% più alte rispetto a quelle del MCM di Urbino del 2011. Il Presidente propone di identificare qualcuno che supporti l'area biomedica. Il CD approva e suggerisce di capire se ci saranno altre candidature. Nel caso, si riserva, assieme a R. Balboni, di sentire le opinioni dei Presidenti delle Società del Multinational.
6. Il presidente comunica al CD i vincitori dei "premi SISM tesi di dottorato":

#### SCIENZE BIOMEDICHE

- 1) Cinti Francesca, con punti 9
- 2) Miglietta Selenia, con punti 8

#### SCIENZE DEI MATERIALI

- 1) Mazzaro Raffaello, con punti 8
- 2) Impagnatiello Andrea, con punti 7

7. Il presidente comunica al CD i vincitori dei contributi di partecipazione per Rovigno:

#### SCIENZE BIOMEDICHE

- 1) Battistelli Michela, con punti 12 (socio SISM)
- 2) Costanzo Manuela, con punti 12 (socio SISM)
- 3) Salucci Sara, con punti 11 (socio SISM)
- 4) Guglielmi Valeria, con punti 10
- 5) Bernardi Sara, con punti 9 (socio SISM)

#### SCIENZA DEI MATERIALI

- 1) Dal Zilio Simone, con punti 10 (socio SISM)
- 2) Donarelli Maurizio, con punti 10 (socio SISM)
- 3) Venturi Federico, con punti 10 (socio SISM)
- 4) Serafini Andrea, con punti 9 (socio SISM)
- 5) Bursi Gandolfi Nicola, con punti 9 (socio SISM)

8. Il Presidente riferisce sulle attività organizzate dalla SISM nel 2017.
- “Corso base integrato di microscopia confocale e microscopia elettronica a trasmissione”, Modena, C.I.G.S. (Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia) Settembre 2017. M. Tonelli riferisce che l'evento sarà dal 13 al 15 di settembre e il programma sarà in linea con l'edizione passata. Si tratta di un evento che suscita buona risposta oltre ad un buon bilancio.
  - “Microscopia applicata alla botanica” organizzata dal Dr. M. Tonelli, presso l'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia. M. Tonelli riferisce che il workshop è fissato per il 4-5 dicembre 2017. Inizierà il pomeriggio del 4 dicembre e sarà corredato di esercitazione pratica. Le quote di iscrizione saranno simili a quelle del corso di microscopia confocale. Si tratta di un evento organizzato con la collaborazione e il supporto dei botanici dell'Università di Modena. Al momento sono 8 i relatori. Dal punto di vista economico si prospetta una spesa di 1200 Euro considerando i coffee break e il rimborso viaggio degli speaker. Lo sponsor al momento è la FEI che contribuirà offrendo i coffee break oppure il pranzo.
  - “Correlative microscopy in life and materials sciences”, evento organizzato dalla Dr.ssa S. Meschini presso l'Istituto Superiore di Sanità, (Roma, 6-7 novembre 2017). S. Meschini, riferisce che l'organizzazione sta procedendo bene, il programma è stato inviato ai soci SISM e diffuso anche in ambienti universitari. Molte ditte hanno risposto, con un contributo totale di 3000 Euro.
  - Scuola SEM (Bologna, 20-23 novembre). R. Balboni riferisce sull'evento teorico-pratico che affronterà i principi base della microscopia a scansione. Potrebbe anche essere prevista una demo al focus ion beam in clean room. Da delineare il programma.
  - C. Albonetti riferisce che nel 2018 organizzerà una scuola dedicata alla microscopia a sonda applicata alla biofisica, evento in collaborazione con il Prof. F. Valle dell'Università di Genova .
9. M. Malatesta riferisce sulla situazione della rivista *Microscopie*, che è un po' in difficoltà ricevendo pochi articoli scientifici. Nonostante questo, i dati statistici di visualizzazione appaiono buoni (2000 visualizzazione nel mese di maggio). I vincitori dei contributi SISM dovrebbero inviare un articolo, che molto spesso non è mai arrivato. E. Falcieri e C. Albonetti suggeriscono di inviare una lettera ai vincitori in cui si comunica la deadline per la sottomissione dell'articolo a *Microscopie*, fissata entro la fine di febbraio 2018. R. Ciancio non è d'accordo di fissare una data perché qualcuno potrebbe non avere dati sufficienti per quella deadline. Propone di scrivere una lettera con le istruzioni per gli autori da inviare ai vincitori per sollecitarli alla scrittura di un articolo. M. Malatesta comunque ribadisce che bisogna contribuire alla rivista con senso di responsabilità. Propone anche di approfittarne per dare più voce ai giovani, di fare qualcosa di informativo/formativo. Si potrebbe trovare una formula con articolo scientifico più semplice e con varie forme. M. Tonelli suggerisce, per esempio, che si potrebbero pubblicare anche articoli relativi ai limiti di alcune tecniche microscopiche, sull'utilizzo della microscopia in determinati settori esempio nella mineralogia ecc. M. Malatesta riferisce, inoltre, che se vogliamo inserire delle newsletter, la rivista si impoverirebbe nella sua prima parte: ovviamente la newsletter è un'ottima forma di comunicazione, ma occorrerebbe poi pensare a come “rimpolpare” la parte scientifica. Inoltre, la newsletter andrebbe organizzata ogni 2-3 mesi con una pagina di informazione ed occorrerebbe identificare una persona che la segua con precisione e cura. Il CD decide di riflettere sulle varie modalità di gestione della rivista.
10. Nuovi Soci: Artoni Erica, Bernardi Sara, Bertoni Giovanni, Burini Debora, Bursi Gandolfi Nicola, Cottel David, Cornaghi Laura Brigida, D'Aniello Ciro, Del Prete Salvatore, Fedrizzi Michele, Impagnatiello Andrea, Rosati Luigi, Vurro Federica.
11. Il Presidente riferisce sulla situazione amministrativa della SISM che conta in data odierna un attivo di 27.579 Euro, che sono frutto degli eventi organizzati e degli sponsor ufficiali della società (FEI, Jeol, Gambetti). Il Presidente propone, considerato il continuo e intenso lavoro a cui fa fronte, di alzare il compenso della Dr.ssa Salucci a 7000 Euro. Il CD concorda all'unanimità.

12. M. Malatesta riferisce che il prossimo novembre all'Università di Verona inizierà una Scuola di Scienze Microscopiche ("Winter School in Microscopical Sciences"), di cui lei è il responsabile nell'ambito del dottorato di ricerca. La scuola si svolgerà con lezioni pratiche e teoriche: chiederà quindi il patrocinio alla SISM e il supporto di qualcuno del direttivo.

Alle ore 18:00, null'altro essendovi da deliberare, il Presidente dichiara chiusa la seduta.

*Cristiano Albonetti  
Roberto Balboni  
Regina Ciancio  
Elisabetta Falcieri  
Manuela Malatesta  
Stefania Meschini  
Massimo Tonelli*

## Elenco delle attività promosse dalla SISM nel 2017

**“Correlative microscopy in life and material sciences”, workshop organizzato dalla Dott.ssa S. Meschini presso l’Istituto Superiore di Sanità, Roma  
6-7 novembre 2017**

La conferenza offre un aggiornamento su strumentazioni innovative che, correlando le caratteristiche della microscopia ottica ed elettronica, permettono di massimizzare le potenzialità delle analisi morfologiche ed ultrastrutturali. Saranno illustrati protocolli per la preparazione dei campioni e metodi di ottimizzazione del trattamento delle immagini, e saranno analizzati criticamente i risultati sperimentali ottenuti con diversi materiali.

Per informazioni: Dott.ssa Stefania Meschini ([stefania.meschini@iss.it](mailto:stefania.meschini@iss.it))

**“Microscopia elettronica e confocale in ambito botanico”, corso teorico-pratico organizzato dal Dott. M. Tonelli, presso l’Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena  
4-5 dicembre 2017**

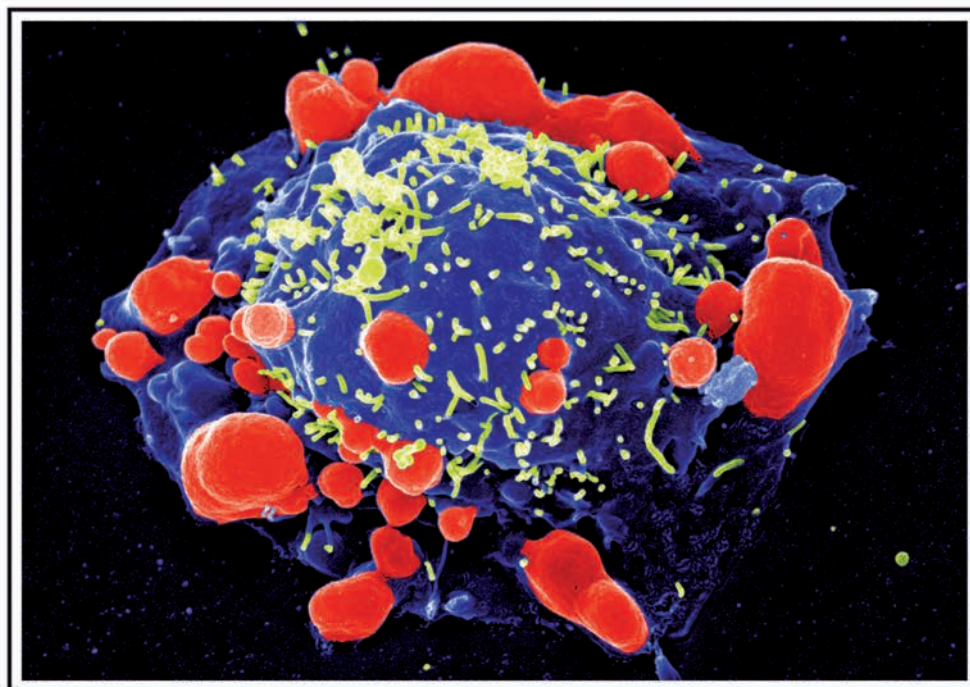
Il corso, organizzato con il patrocinio del Dipartimento Scienze della Vita dell’Università di Modena e Reggio Emilia, e in collaborazione con la Società Italiana di Istochimica e la Società Botanica Italiana, intende fornire informazioni teoriche e pratiche su varie tecniche di microscopia a fluorescenza e di microscopia elettronica a trasmissione e scansione per lo studio dei vegetali e delle loro relazioni con l’ambiente.

Per informazioni: Dott. Massimo Tonelli ([massimo.tonelli@unimore.it](mailto:massimo.tonelli@unimore.it))

**“Scanning electron microscopy in materials science”, scuola teorico-pratica organizzata dal Dott. R. Balboni, Dott. V. Morandi e Dott.ssa R. Ciancio presso il CNR IMM, Bologna  
12-15 dicembre 2017**

La scuola, organizzata dalla SISM e dall’Istituto CNR-IMM di Bologna, intende fornire i concetti e i principi fisici di base per l’utilizzo delle tecniche di microscopia elettronica a scansione e di microanalisi nell’ambito della scienza dei materiali. La scuola è rivolta a ricercatori, tecnici e studenti che intendano acquisire le competenze necessarie per il corretto utilizzo della microscopia elettronica a scansione (SEM), delle tecniche analitiche ad essa correlate e dei fasci ionici focalizzati (FIB) per lo studio e la caratterizzazione dei materiali. La scuola prevede sia lezioni teoriche che sessioni pratiche che prevedono di operare alle facilities strumentali di IMM Bologna che comprendono un SEM-FEG ed un SEM ambientale. E' inoltre prevista una sessione dimostrativa di utilizzo di strumentazione FIB/EBL, installata in ambiente controllato (Clean Room).

Per informazioni: Dott. Roberto Balboni ([balboni@bo.imm.cnr.it](mailto:balboni@bo.imm.cnr.it))



## **CORRELATIVE MICROSCOPY IN LIFE AND MATERIALS SCIENCES**

**6-7 November 2017**

Aula Bovet

organized by

Istituto Superiore di Sanità - ISS  
and Italian Society for Microscopical Sciences - SISM

## Programme

### *Monday, November 6<sup>th</sup>*

08.30 Registration

09.00 Opening Ceremony

*Prof. Walter Ricciardi*, ISS President

*Dr. Patrizia Popoli*, Director of National Center for Drug Research and Evaluation

*Prof. Elisabetta Falcieri*, SISM President

*Dr. Stefania Meschini*, ISS Scientific Coordinator of the event

#### I SESSION

09.30 **Correlative microscopy: principles and application potential**

Chairs: *Marco Vittori, Elisabetta Falcieri*

09.30 **Keynote Lecture**

Correlative light and electron microscopy in biology

*Bruno M. Humbel*

10.00 Applications for 3D characterization in the life sciences. Illumination correlative research using light, X-ray, and electron microscopy

*Lars-Oliver Kautschor*

10.20 Correlative imaging workflows across scales: a powerful approach for cell and tissue studies

*Emine Korkmaz*

10.40 Coffee break

11.10 Investigating cancer cell behaviour using correlative imaging by holographic microscopy and FIB-SEM tomography

*Vratislav Kostal*

11.30 An analytical journey from 4D live cell imaging to scanning electron microscopy.

Fast, reliable and trust worthy

*Matteo Mariani*

11.50 New solutions for correlative microscopy

*Andy Yarwood*

12.10 Preparation workflows for correlation microscopy

*Frederic Leroux*

12.30 Discussion

13.00 Lunch

#### II SESSION

14.15 **Correlative microscopy applications in materials sciences**

Chairs: *Amelia Montone, Roberto Balboni*

14.15 **Keynote Lecture**

Correlative Microscopy as a powerful tool for coupling structural compositional and functional properties

*Edoardo Bemporad*

- 14.45 A case study of correlative approach to 3D microscopy: the silicon nanowires  
*Luca Boarino*
- 15.05 Curvature driven nanoparticles decoration of graphene membranes  
*Luca Ortolani*
- 15.25 Evaluation of antimycotic activity of zinc oxide nanoparticles by correlative microscopy  
*Daniela Uccelletti*
- 15.45 Selected Talks
- 16.05 Discussion

## ***Tuesday, November 7<sup>th</sup>***

### **I SESSION**

- 09.00 **Correlative microscopy applications in life sciences**  
Chairs: *Agnese Molinari, Marco Crescenzi*
- 09.00 **Keynote Lecture**  
Correlative microscopy in biomedicine: from the slow beginning decades ago to the rapidly expanding leading edge of today  
*Alberto Luini*
- 09.30 Correlative electron microscopy in modern bio-medical research  
*Roman Polishchuk*
- 10.00 Compatibility of correlative light and electron microscopy with three-dimensional and quantitative analysis in biology  
*Alexandre A. Mironov*
- 10.30 Correlative X-ray micro tomography and TEM microscopy on biological samples for the study of complex pathologies  
*Mauro Gemmi*
- 10.50 Discussion
- 11.10 Coffee break

### **II SESSION**

- 11.30 **Correlative microscopy applications in life sciences**  
Chairs: *Annarica Calcabrini, Annarita Stringaro*
- 11.30 **Keynote Lecture**  
The extraordinary microscope: multimodal and correlative approaches in nanomedicine  
*Alberto Diaspro*
- 12.00 3D HDO-CLEM: cellular compartment analysis by correlative light-electron microscopy on cryosections  
*Katia Cortese*
- 12.20 New tools and protocols for correlative microscopy application to biomedical research  
*Maura Francolini*
- 12.40 Visualizing fluorochrome-labelled nanoparticles and fluorescent free molecules at transmission electron microscopy by diaminobenzidine photo-oxidatidation  
*Manuela Malatesta*
- 13.00 Discussion and Closing Remarks
- 13.30 Lunch

## Aim and objectives

The conference aims to update participants on innovative microscopic equipment which, by correlating the various features of optical and electron microscopy, can maximize the potential applications of morphological and ultrastructural methods. The conference will address the limits of sample preparation, the optimization of image processing, and the critical analysis of experimental results with different materials.

## SPEAKERS AND CHAIRPERSONS

**Roberto Balboni** National Research Council - IMM, Bologna, Italy  
**Edoardo Bemporad** University "Rome III", Rome, Italy  
**Luca Boarino** National Institute of Metrological Research, Turin, Italy  
**Annamaria Calcabrini** Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy  
**Katia Cortese** University of Genoa, Italy  
**Marco Crescenzi** Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy  
**Alberto Diaspro** Italian Institute of Technology, Genoa, Italy  
**Elisabetta Falcieri** University of Urbino, Italy  
**Maura Francolini** University of Milan, Italy  
**Mauvo Gemmi** Italian Institute of Technology, Pisa, Italy  
**Bruno M. Humbel** University of Lausanne, Switzerland  
**Lars-Oliver Kautschor** Zeiss, Oberkochen, Germany  
**Emine Korkmaz** Fei-Thermo Fisher, Eindhoven, The Netherlands  
**Vratislav Kostal** Tescan, Brno, Czech Republic  
**Frederic Leroux** Leica Microsystems, Germany  
**Alberto Luini** National Research Council, Naples, Italy  
**Manuela Malatesta** University of Verona, Italy  
**Matteo Mariani** Media System Lab, Monza, Italy  
**Alexandre A. Mironov** Institute of Molecular Oncology, Milan, Italy  
**Agnese Molinari** Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy  
**Amelia Montone** Research Center ENEA, Rome, Italy  
**Luca Ortolani** National Research Council - IMM, Bologna, Italy  
**Roman Polischuk** Telethon Institute of Genetics and Medicine, Naples, Italy  
**Andy Yarwood** Jeol, London, United Kingdom  
**Annamaria Stringaro** Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy  
**Daniela Uccelletti** University "La Sapienza", Rome, Italy  
**Marco Vittori Antisari** NanoItaly Association, Rome, Italy

## SCIENTIFIC COORDINATOR

**Stefania Meschini**  
 +39 06 49902783 - stefania.meschini@iss.it  
 National Center for Drug Research and Evaluation  
 Istituto Superiore di Sanità



## SCIENTIFIC SECRETARIAT

**Maria Condello**  
 +39 06 49903610 - maria.condello@iss.it  
 National Center for Drug Research and Evaluation  
 Istituto Superiore di Sanità

**Evelin Pellegrini**  
 +39 06 49902783 - evelin.pellegrini@guest.iss.it  
 National Center for Drug Research and Evaluation  
 Istituto Superiore di Sanità

**Sara Salucci**  
 + 39 0722 304248 - sara.salucci@uniurb.it  
 Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

## ORGANIZING SECRETARIAT

**Paola Ruggeri**  
 + 39 06 49904250 - paola.ruggeri@iss.it  
 National Center for Drug Research and Evaluation  
 Istituto Superiore di Sanità

**Laura Toccaceli**  
 +39 06 49903406 - laura.toccaceli@iss.it  
 National Center for Drug Research and Evaluation  
 Istituto Superiore di Sanità

**Giuseppe Formisano**  
 +39 06 49902783 - giuseppe.formisano@iss.it  
 National Center for Drug Research and Evaluation  
 Istituto Superiore di Sanità

## GENERAL INFORMATION

**Venue:**  
 Istituto Superiore di Sanità, Aula Bovet, Viale Regina Elena  
 299 - 00161 Rome, Italy

**Target audience:**  
 biologists, medical doctors, physicists, engineers, researchers  
 and technicians.

Maximun number of participants: 90

ECM credits: NO

Stampato in proprio: Attività Editoriali CCS -ISS, Novembre 2017





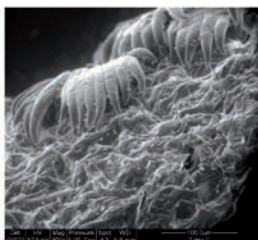
Società Italiana di  
Scienze  
Microscopiche

Con il Patrocinio del Dipartimento Scienze della Vita  
dell'Università di Modena e Reggio Emilia



UNIMORE  
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI  
MODENA E REGGIO EMILIA

## I° Corso Microscopia elettronica e confocale in ambito botanico presso Area scientifica di Via Campi, Modena 4-5 Dicembre 2017



### Lunedì 4 Dicembre

14.00 Benvenuto e saluto del Presidente della SISM

14.30 **Dr. Massimo Tonelli** (Università di Modena e Reggio Emilia) – “Microscopia elettronica a scansione-una breve introduzione”.

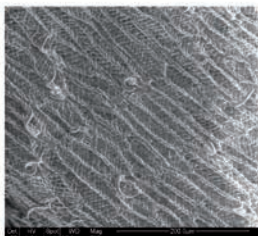
15.15 **Prof.ssa Elisabetta Sgarbi** (Università di Modena e Reggio Emilia) – “Il contributo della microscopia elettronica a scansione nello studio dei rapporti pianta-ambiente”.

16.00 **Dr.ssa Tiziana Romagnoli** (Università Politecnica delle Marche) – “La microscopia elettronica a scansione applicata allo studio delle microalghe”.

16.45 **Coffee break**

17.00 **Prof.ssa Rita Musetti** (Università di Udine) – “Microscopia e immunomicroscopia elettronica nello studio delle interazioni pianta/patogeno”.

17.45 **Dr.ssa Claudia Giuliani** (Università di Milano) – “Microscopia nello studio di piante officinali”.



### Martedì 5 Dicembre

9.00 **Prof.ssa Marta Marmiroli** (Università di Parma) – “Low vacuum SEM+EDX su campioni “freschi” di piante”.

9.45 **Dr.ssa Alessandra Trinchera** (CREA-Roma) – “Valutazione della risposta delle piante ad approcci agronomici eco-sostenibili attraverso studi ultra-strutturali in microscopia elettronica”.

10.30 **Coffee break**

10.45 **Dr. Antonio Minnocci** (ISV, Scuola Superiore Sant'Anna Pisa) – “Crio-microscopia elettronica a scansione e microanalisi a raggi X di campioni vegetali mantenuti idratati-congelati durante l'analisi strutturale e analitica”.

11.30 **Prof. Andrea Genre** (Università di Torino) – “La microscopia confocale in ambito vegetale: basi teoriche e applicazioni nello studio delle interazioni piante-microrganismi”.

12.30 **Pausa pranzo**

[14.30-17.30] **Esercitazioni pratiche** presso il CIGS (Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti) dell'Università di Modena e Reggio Emilia.



**Quota d'iscrizione ridotta:** studenti, dottorandi, soci S.I.S.M. 150 €

**Quota d'iscrizione ridotta:** soci S.I.I. e/o S.B.I. 200 €

**Quota d'iscrizione intera:** 250 €

La quota comprende la partecipazione al corso, coffee break, pranzo 5 Dicembre, materiale didattico.

**Termine iscrizioni:** 30/11/2017 **Numero massimo iscritti:** 12

**Modalità di pagamento:**

- Pagamento on-line con carta di credito sul sito [www.sism.it](http://www.sism.it)
- Bonifico bancario: S.I.S.M. IBAN IT 43 Q 02008 02455 000103039142  
Banca UniCredit – Ag. Dante, via Dante 1E, Bologna  
Causale: Scuola SEM e botanica Modena, nome e cognome del partecipante e società di appartenenza in caso di quota ridotta.

**Comitato organizzatore:**

**Dr. Massimo Tonelli**

[massimo.tonelli@unimore.it](mailto:massimo.tonelli@unimore.it)  
059-2055737

**Prof. Elisabetta Sgarbi**

[elisabetta.sgarbi@unimore.it](mailto:elisabetta.sgarbi@unimore.it)  
059-2058702 // 0522-522052

**Attestato di partecipazione:**

rilasciato al termine del corso



In collaborazione con  
**Società italiana  
di istochimica**

**Società  
Botanica  
Italiana**





# SCANNING ELECTRON MICROSCOPY IN MATERIALS SCIENCE

12-15 December 2017

CNR IMM Bologna  
Via Gobetti 101, 40129 - Bologna, Italy

## DIRECTOR

Vittorio MORANDI

## TEACHERS

Aldo Armigliato, Roberto Balboni, Franco Corticelli, Ivan Elmi,  
Vittorio Morandi, Luca Ortolani - *CNR IMM Bologna*

Marco Vittori Antisari- *Nanoitaly*  
Giancarlo Gazzadi- *Uni. Modena and Reggio E.*  
Giovanna Mura - *Uni. Cagliari*  
Regina Ciancio- *CNR IOM Trieste*  
Gianni Barucca- *Uni. Poli. Marche*



<http://semschool.bo.imm.cnr.it>

### REGISTRATION

Registration to the school is obtained by signing up before November 3<sup>rd</sup>, 2017, directly on the SISM website <http://www.sism.it>

|             |      |
|-------------|------|
| SISM Member | 300€ |
| Non Member  | 400€ |

The fee includes participation to the courses, education materials, coffee breaks and lunches to the local CNR canteen. Students and young researchers with a temporary position can claim an additional 30% discount on the fees (VAT excluded).

*For any payment an invoice will be issued. Please note that, for employees of Italian public institutions, the fee is exempt from VAT (Article 10 of DPR 633/72).*

Registration fees may be paid through:

#### Credit card

SISM website: <http://www.sism.it>

#### Bank transfer

S.I.S.M  
 IBAN: IT 43 Q 02008 02455 000103039142  
 BIC-SWIFT: UNCRITM1PM5 or UNCRITMM  
 Address: Unicredit - Ag. Dante, Bologna  
 Reference: "Name of the participant + BOSEM2017"

### VENUE

The school will take place at the *Institute for Microelectronics and Microsystems*, Bologna Section, located in the Bologna Research Area, in Italy.

### ACCOMODATION

For information on accommodation and how to reach CNR-IMM Bologna, please refer to <http://www.bo.cnr.it> or contact:

*Mrs. Giorgia Giovannini*  
 CNR - IMM Sezione di Bologna  
 Tel: +39 051 6399143  
 E-mail: [giovannini@bo.imm.cnr.it](mailto:giovannini@bo.imm.cnr.it)

### PROGRAM OF THE WEEK

#### Tuesday 12<sup>th</sup>

10:00 REGISTRATION

11:30 SEM the Instrument and Working Principles  
*R. Ciancio*

12:30 Electron-Matter Interaction and Generated Signals  
*R. Balboni*

13:30

14:30 Electron Sources, Optics, Lenses and Aberrations  
*G. Barucca*

15:30 Detectors and Image Formation  
*V. Morandi*

16:30 COFFEE BREAK

17:00 SPONSORS PRESENTATIONS

18:00

#### Wednesday 13<sup>th</sup>

09:00 EDX Microanalysis  
*A. Armigliato*

10:00 SEM Performances Optimization  
*M. Vittori Antisari*

11:00 COFFEE BREAK

11:30 Low-Energy STEM Image Formation and Detection  
*V. Morandi*

12:30 Introduction to Focused Ion Beam  
*G. Gazzadi*

13:30 LUNCH

14:30 Tomography in the SEM  
*M. Ferroni*

15:30 SEM Applications in Device Diagnostics  
*G. Mura*

16:30 COFFEE BREAK

17:00 SPONSORS PRESENTATIONS

18:00

#### Thursday 14<sup>th</sup>

10:00 PRACTICAL SESSIONS  
*SEM, ESEM, FIB*

11:30 COFFEE BREAK

12:00 PRACTICAL SESSIONS  
*SEM, ESEM, FIB*

13:30 LUNCH

14:30 PRACTICAL SESSIONS  
*SEM, ESEM, FIB*

16:00 COFFEE BREAK

16:30 PRACTICAL SESSIONS  
*SEM, ESEM, FIB*

18:00

#### Friday 15<sup>th</sup>

09:30 PRACTICAL SESSIONS  
*SEM, ESEM, FIB*

11:00 COFFEE BREAK

11:30 PRACTICAL SESSIONS  
*SEM, ESEM, FIB*

13:00 ROUND TABLE DISCUSSION

13:30 LUNCH



## La SISM si rinnova con un moderno sito web ed un restyling del logo

Mantenere una Società scientifica al passo con i tempi implica anche sapersi continuamente rinnovare, nelle proprie finalità, nei contenuti e nel modo di presentarsi alla comunità scientifica.

La nostra Società l'ha fatto, negli anni '90, quando ha modificato il suo nome originario, Società Italiana di Microscopia Elettronica - SIME, in Società Italiana Scienze Microscopiche - SISM, per poter includere tutti i campi della microscopia, istituendo poi un sito web per migliorare visibilità e gestione delle attività, e trasformando la propria pubblicazione, *Microscopie*, da bollettino informativo dei Soci a rivista scientifica fruibile internazionalmente in regime di open access.

Ora, il Consiglio Direttivo ha ritenuto che fosse arrivato il momento di proporre ai Soci, in Assemblea, di sostituire il vecchio sito con uno più adeguato alle esigenze della SISM, che coniugasse la semplicità d'uso con la flessibilità necessaria per rispondere alle molteplici attività societarie, senza trascurare una gradevole veste grafica. Oggi un sito web rappresenta, infatti, non solo il biglietto da visita di una Società, ma anche lo strumento per gestire le attività, fornire informazioni e mantenere i contatti con i Soci. Contemporaneamente, è stato effettuato un restyling del logo societario che, pur mantenendo i segni e i colori della versione originale, è stato reso più adatto al gusto e alle esigenze grafiche moderne.

Nel corso dell'Assemblea ordinaria, tenutasi lo scorso 27 settembre a Rovigno, nella sede del MCM2017, il nuovo sito e il nuovo logo sono stati, quindi, presentati e sottoposti all'approvazione dei Soci. I pareri sono stati unanimemente positivi e sono stati anche raccolti utili suggerimenti per migliorare la funzionalità del sito, che ben presto diventerà operativo.

Saranno tempestivamente inviate tutte le informazioni per l'accesso e i Soci potranno utilizzarlo anche per le prossime elezioni per il rinnovo delle cariche sociali 2018-2019 che, per la prima volta, si svolgeranno per via telematica.

*Il Consiglio Direttivo*

## Il Primo Microscopio Elettronico “Italiano” ammirato dal Presidente della Repubblica in occasione dell’inaugurazione del nuovo Museo di Sanità Pubblica dell’Istituto Superiore di Sanità

Il 21 aprile scorso il Presidente della Repubblica Sergio Mattarella ha inaugurato il nuovo Museo di Sanità Pubblica in occasione delle celebrazioni dell’ottantatreesimo anno di vita dell’Istituto Superiore di Sanità (ISS), organo tecnico-scientifico del Servizio Sanitario Nazionale e principale istituto di ricerca italiano nel settore biomedico e della salute pubblica.

Alla manifestazione hanno partecipato numerose autorità tra le quali il Ministro della Salute Beatrice Lorenzin ed il Ministro dei Beni culturali Dario Franceschini. Il Museo dell’ISS è stato fortemente voluto dal suo Presidente Walter Ricciardi “per farne un polo di diffusione della cultura scientifica perché la sua crescita è strettamente connessa alla tutela della salute pubblica” e lo si è potuto realizzare anche grazie all’impegno e all’entusiasmo di molti dipendenti dell’Istituto coordinati dalla Dr.ssa Paola De Castro, responsabile del Settore Attività Editoriali.

Il Museo ha sede a Roma, presso l’Istituto Superiore di Sanità in Viale Regina Elena 299. L’allestimento è altamente interattivo e coinvolgente sfruttando le più moderne tecnologie digitali per favorire un rapido e gradevole apprendimento da parte dei visitatori. Il Museo sarà aperto a tutti i cittadini ed, in particolare, a studenti ed insegnanti (i responsabili delle scuole potranno organizzare visite guidate, previa prenotazione effettuata scrivendo a: [museo@iss.it](mailto:museo@iss.it)).

Il percorso museale, volutamente altalenante tra antico e moderno con lo scopo di valorizzare il patrimonio storico dell’Istituto e, nello stesso tempo, descrivere le più avanzate tecnologie biomediche, è articolato in quattro sezioni. Nella prima sezione, *Genesis dell’ISS e storia dell’edificio*, sono esposte numerose immagini storiche ed emozionanti che illustrano le fasi della costruzione dell’edificio, la sua inaugurazione avvenuta nel 1934 alla presenza delle maggiori autorità dell’epoca, le attività svolte nell’ambito della lotta alla malaria che fu l’obiettivo originario della fondazione del nuovo Ente di ricerca e per il quale la Fondazione Rockefeller elargì un cospicuo finanziamento. Le interessanti fotografie esposte raccontano anche i successivi traguardi raggiunti dall’ISS, tra i quali la realizzazione di una vera e propria fabbrica per la produzione di penicillina all’interno dell’Istituto. La seconda sezione, *Gli strumenti, i laboratori, le persone*, è una ricca esposizione di strumenti scientifici che fanno parte della collezione dell’Istituto. Tali strumenti, usati nei primi decenni di vita dell’Istituto, hanno fornito un notevole contributo all’ottenimento di importanti successi scientifici. Molti di essi si sono potuti conservare grazie alla passione di ricercatori e tecnici che si sono dedicati al loro recupero e restauro. La foto mostra le autorità presenti all’inaugurazione, all’interno dell’area dedicata a questa sezione.



Al centro della foto si può osservare il Presidente della Repubblica con, alla sua sinistra, il Presidente dell'ISS Walter Ricciardi, il Ministro della Salute Beatrice Lorenzin e la Dr.ssa Paola De Castro. Sullo sfondo, nella parte sinistra della foto, è ben visibile uno strumento che è particolarmente "caro" ai microscopisti italiani e del quale parleremo più avanti: il primo microscopio elettronico italiano.

La terza sezione, *Biblioteca e Fondo Rari*, è dedicata ai libri antichi che costituiscono il Fondo dei Libri Rari della Biblioteca dell'ISS. Si tratta di una magnifica raccolta di libri scientifici pubblicati tra il 1504 e il 1830. In questa sezione, mediante una particolare tecnologia, è possibile osservare la proiezione di numerose pagine scelte per il loro notevole interesse nonché ammirare una serie di 17 disegni anatomici realizzati da Antonio Canova, facente parte di una collezione che l'ISS acquistò nel 1943.

L'ultima sezione, *Il presente e il futuro dell'ISS*, è stata concepita come un'area multimediale che attraverso la proiezione di video, illustra le principali attività scientifiche svolte dall'Istituto e finalizzate alla promozione e tutela della salute pubblica: dalla lotta all'AIDS alla ricerca contro il cancro, dalle ricerche sulle cellule staminali alla sicurezza alimentare e ambientale.

Durante la visita il Presidente della Repubblica si è soffermato ad ammirare uno "strano" strumento che ha dato i natali alla microscopia elettronica in Italia e che ha una storia molto particolare che vorremmo qui ricordare, soprattutto a beneficio dei ricercatori più giovani che si stanno orientando verso l'indagine ultrastrutturale.



La microscopia elettronica italiana è nata proprio presso l'Istituto Superiore di Sanità quando, durante la seconda guerra mondiale, il Prof. Giulio Cesare Trabacchi, capo del Laboratorio di Fisica, decise di acquistare il primo modello di microscopio elettronico commerciale, prodotto dalla ditta tedesca Siemens. Lo strumento fu installato nel novembre del 1942 ed in breve tempo fu in grado di produrre numerose micrografie elettroniche di campioni biologici, grazie all'entusiasmo ed alle competenze tecnico-scientifiche del Prof. Trabacchi e della sua giovane assistente Daria Bocciarelli. Purtroppo questo microscopio elettronico ebbe una vita molto breve; infatti, meno di un anno dopo, durante l'occupazione tedesca, il Comando Militare Germanico ordinò la requisizione dello strumento, considerandolo di alto valore strategico e temendo che potesse cadere nelle mani degli Alleati. Trabacchi e Bocciarelli, disperati per questa decisione, riuscirono a ritardare di alcuni giorni il ritiro del microscopio e utilizzarono questo tempo, lavorando giorno e notte, per copiare gli schemi elettrici e meccanici. Il microscopio fu quindi smontato e portato via dai militari tedeschi nell'ottobre del 1943. Subito dopo, Trabacchi e Bocciarelli decisero di imbarcarsi in una audace avventura: ricostruire nel proprio laboratorio un microscopio elettronico simile a quello prodotto dalla Siemens. Nonostante le difficoltà dovute al periodo bellico e grazie alla loro caparbia ed esperienza, l'impresa ebbe successo e nel 1946 il nuovo microscopio elettronico divenne operativo dando l'avvio alla ricerca ultrastrutturale nel nostro Paese.

Numerosi sono gli aneddoti legati alla costruzione di questo strumento che ci sono stati tramandati. Ad esempio, la Prof.ssa Bocciarelli ci raccontava che, essendo molto difficile reperire metalli particolari, la cassetta fotografica fu realizzata utilizzando il basamento di bronzo del busto di Mussolini situato nell'ingresso principale dell'Istituto e che, essendo proibito l'uso di materiali che potevano essere necessari per uso bellico, alcuni componenti furono introdotti segretamente e nottetempo all'interno del laboratorio percorrendo i cunicoli delle antiche catacombe romane presenti nel sottosuolo dell'Istituto.

I test di risoluzione eseguiti su questo strumento, il primo e l'unico interamente "made in Italy", dimostrarono che esso aveva caratteristiche migliori di quello originale. Il microscopio funzionò per quasi venti anni e, grazie ad esso, i ricercatori dell'Istituto poterono effettuare importanti ricerche autonome o in collaborazione con numerosi gruppi esterni, soprattutto, ma non solo, in campo microbiologico.

La comunità scientifica nazionale riconobbe l'importante ruolo che Trabacchi e Bocciarelli ebbero nello sviluppo di questo settore e le loro capacità scientifiche, tanto che furono entrambi eletti alla presidenza (Trabacchi 1956-1957, Bocciarelli 1958-1959) della neonata Società Italiana di Microscopia Elettronica, costituitasi nel 1956 e che tenne il primo congresso nazionale nel 1957, proprio presso l'Istituto Superiore di Sanità, "culla" della microscopia elettronica italiana.

Intorno al 1965 il microscopio, diventato ormai obsoleto e non più rispondente alle esigenze tecnico-scientifiche del momento, fu rimosso per lasciare il posto a modelli più avanzati prodotti da ditte specializzate del settore. Per oltre 30 anni si persero le tracce di questo storico strumento fin quando alcuni dipendenti del Laboratorio di Ultrastrutture lo ritrovarono, casualmente, in un magazzino di vecchi oggetti dismessi, sotto una catasta di scatoloni e ricoperto da uno strato di ruggine e polvere. Purtroppo fu rinvenuta solo la cosiddetta colonna, cioè la parte ottico-meccanica, mentre i circuiti elettronici sono andati persi. Il microscopio fu quindi recuperato, smontato, accuratamente restaurato ed è stato esposto per circa 20 anni all'interno di una teca situata all'ingresso del laboratorio in cui era "nato". Infine, nello scorso mese di aprile, lo strumento è stato trasferito nel nuovo Museo dell'ISS dove ha trovato la sua più idonea collocazione e la meritata valorizzazione.

Vedere il Primo Cittadino Italiano che osserva ed ammira il primo microscopio elettronico italiano è motivo di grande soddisfazione ed orgoglio per tutti i ricercatori ed i tecnici che operano tuttora presso l'ISS e che hanno ereditato il patrimonio culturale e la passione per le scienze microscopiche lasciati da Trabacchi e Bocciarelli.

*Giuseppe Arancia*

Past-President e Socio Onorario della SISM,  
ex Direttore del Laboratorio di Ultrastrutture dell'ISS

## Eventi nazionali

**XXXV Conferenza Nazionale di Citometria - Scuola Nazionale di Citometria  
Gruppo Italiano di Citometria - GIC**

Paestum (SA), 3-6 ottobre 2017

<http://gic.casaccia.enea.it/giconf/GIConf-2017/Annuncio%20Conferenza%20GIC%20Paestum%202017.pdf>

**Tutorial di Istopatologia al microscopio multiteste**

La Spezia, 13-17 novembre 2017

<http://www.siapec.it/index.php?Mod=Congresso&Congresso=1159>

**21° Congresso Nazionale “La Microscopia come plus valenza nel follow-up in  
odontoiatria protesica clinica e di laboratorio”**

Napoli, 26-27 gennaio 2018

<http://aiom-micro.it/wp-content/uploads/2017/09/brochure-AIOM-NAPOLI-2018.pdf>

**Cibi e bevande al microscopio: tecniche di imaging per l'analisi degli alimenti**

Istituto Lombardo Accademia di Scienze e Lettere

Milano, 20 settembre 2018

Per informazioni: [carloea.pellicciari@gmail.com](mailto:carloea.pellicciari@gmail.com)



## Eventi internazionali

### **International Symposium "In situ microscopy with electrons, X-rays and scanning probes"**

9 October 2017

University of Erlangen – Nürnberg – Germany

### **Autumn school on electron microscopy in materials science 2017**

9 to 12 October 2017

Harnack House – Berlin – Germany

### **Meeting on Focused Ion Beams in Berlin - FIBiB 2017**

6 and 7 November 2017

Berlin – Germany

### **Cryo Microscopy Group 2017 Meeting**

15 November 2017

The Department of Materials and Metallurgy - University of Birmingham – Birmingham – United Kingdom

### **EMBL Course: High-Accuracy Correlated Light and Electron Microscopy: Applications at Room Temperature and in cryo**

10 to 15 December 2017

Heidelberg - Germany

### **Basic course resin embedding and ultrathin sectioning**

15 to 17 January 2018

Cell Microscopy Core, Section Cell Biology, University Medical Center Utrecht – Utrecht – Netherlands

### **Keystone Symposia - Cryo-EM from Cells to Molecules: Multi-Scale Visualization of Biological Systems**

4 to 8 February 2018

Tahoe City – California - USA

### **Focus on Microscopy 2018**

25 to 28 March 2018

Singapore

### **Analytica 2018**

10 to 13 April 2018

Munich - Germany

**41<sup>st</sup> European Congress on Cytology**

10 to 13 June 2018

Madrid – Spain

**EMBO Practical Course - Advanced electron microscopy for cell biology**

12 to 22 June 2018

Würzburg -Germany

**ICMMT 2018: 20<sup>th</sup> International Conference on Microscience Microscopy and Technology**

14 and 15 June 2018

Vienna - Austria

**United Kingdom - Israel Workshop on Nano - Scale Crystallography for Bio and Materials Research**

18 and 19 June 2018

Tel Aviv University – Israel

**Second European FIB Workshop**

19 and 20 June 2018

Grenoble – France

**The 52<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Israel Society for Microscopy (ISM2018)**

20 June 2018

Tel Aviv – Israel

**Microscopy & Microanalysis 2018**

5 to 9 August 2018

Baltimore – MD - USA

**XRM2018 — 14<sup>th</sup> International Conference on X-ray Microscopy**

19 to 24 August 2018

Saskatoon – Saskatchewan - Canada

**19<sup>th</sup> International Microscopy Congress (IMC19)**

9 to 14 September 2018

Sydney - Australia

# Ultrastructural immunodetection of the regulatory factors PAX7 and MyoD in myonuclei of sedentary and trained old mice

Manuela Costanzo, Barbara Cisterna

Corresponding author: Barbara Cisterna

Department of Neurosciences, Biomedicine and Movement Sciences, Section of Anatomy and Histology, University of Verona  
Strada Le Grazie 8, I-37134 Verona, Italy

Tel. +39.045.8027272

E-mail: barbara.cisterna@univr.it

## Summary

The plasticity of skeletal muscle and its capability of regeneration drastically decrease during ageing, resulting in a loss of motor units, called sarcopenia. Sarcopenia may depend on a reduced efficiency of muscle tissue regeneration likely due to a decrease in the amount of satellite cells (SC) and a decline in SC myogenic potential.

Previous studies showed that ageing is characterized by a reduction in two important myogenic regulatory factors, PAX7 and MyoD, which are specific markers of SC functional state.

Since some studies suggest that an adapted aerobic physical exercise may be an efficient non-pharmacological approach to mitigate the effect of aging on skeletal muscle, we focused our attention on the possible effects that training may induce on the ultrastructural distribution and relative amount of PAX7 and MyoD in myonuclei of old mice. Since MyoD and PAX7 are expressed in both SCs and myonuclei, ultrastructural immunocytochemistry is a suitable and unique approach for detecting, locating and quantifying these protein factors in the myonuclei of sarcopenic mice before and after mild physical exercise, thus providing basic information to understand their functional modulation in relation to ageing and training.

Our results suggest that, in response to the mild physical exercise, the increase of MyoD in myonuclei is involved in their re-activation; such activation is not mediated by PAX7, which did not increase and seemed to find in the nucleolus its storage site in aged myonuclei.

**Key words:** ageing, sarcopenia, physical exercise, myonucleus, PAX7, MyoD, ultrastructural immunocytochemistry

## Introduction

Skeletal muscle, its regeneration in response to specific conditions and the factors involved in such a tissue activation continue to be an intriguing matter of research.

Following damage, muscle tissue can rapidly repair through the activation of satellite cells (SCs), which are a pool of mitotically quiescent cells (Mouro, 1961) located between the basal lamina and the sarcolemma of myofibers (Anderson and Wozniak, 2004). Upon injury, SCs are capable of initially proliferating to then differentiate into myocytes and fuse either together or with pre-existing myofibers in order to regenerate muscle tissue. The progress of the SC activation is finely regulated by the expression of specific factors, among which the paired box protein 7 (PAX7) and the myogenic differentiation factor D (MyoD). PAX7 is a transcription factor expressed in quiescent as well as activated

SCs: it plays a key role in the proliferation phase, while being downregulated when the satellite cells (actually myoblasts, at this step) become committed to muscle differentiation (Kuang and Rudnicki, 2008; Sambasivan and Tajbakhsh, 2007; Tedesco *et al.*, 2010). At this time, the upregulation of MyoD as a potent myogenic master transcription factor takes place and promotes the differentiation of myoblasts into muscle fibers.

Therefore, PAX7 and MyoD are commonly recognized as molecular markers characterizing different phases of SC activation.

The typical plasticity of skeletal muscle and its capability of regeneration drastically decrease during ageing: this results in a loss of motor units, called sarcopenia. Sarcopenia is indeed characterized by low muscle mass and a functional tissue failure. Taking into account that the average human life expectancy has risen, this physiological condition is affecting an increasing portion of population with important healthcare and socio-economic implica-

tions (Cruz-Jentoft *et al.*, 2010). In fact, sarcopenia leads to physical frailty and contributes to a progressive disability and mortality (Burton and Sumukadas, 2010).

Although the mechanisms leading to sarcopenia have not yet been clarified, the accepted hypothesis is that sarcopenia may depend on a decrease in the efficiency of muscle tissue regeneration (Sayer *et al.*, 2013). Actually, under sarcopenic condition the muscle is characterized by a decrease in the amount of SCs (Renault *et al.*, 2002; Garcia-Prat *et al.*, 2013; Alway *et al.*, 2014) and a reduced SC myogenic potential (Zwetsloot *et al.*, 2013).

Some studies suggest that an adapted aerobic physical exercise may be an efficient non-pharmacological approach to mitigate the effect of ageing on skeletal muscle (Malatesta *et al.*, 2011, Cisterna *et al.*, 2016), at least partially counteracting the age related SC decline. Previous findings indicate that a mild physical exercise can stimulate a reactivation of nuclear activity in SCs, as shown by an increased transcription in SCs as well as in myofibers of trained old mice (Malatesta *et al.*, 2011).

Based on this evidence, we focused our attention on the possible effects that physical exercise may induce on the ultrastructural distribution and relative amount of PAX7 and MyoD in the myonuclei. We evaluated their localization on the ribonucleoprotein (RNP)-containing nuclear structures, e.g. perichromatin fibrils (PFs) and interchromatin granules (IGs), and on the nucleolus. The ultrastructural distribution of a molecule can provide basic information on its functional role: thus our investigation may shed light on the expression of these two essential transcription factors in the nuclei of differentiated myofibers, in response to mild physical exercise.

## Materials and Methods

### Animals and physical training

Four adult (12 months) and eight old (28 months) male mice from the INRCA breed (Ancona, Italy) were used in this study. The INRCA breed is a 40-year established Balb-c mice strain which has been widely used for studies on physiological ageing: these mice have a long life (mean life span 25 months; maximal life span 34 months) (Mocchegiani *et al.*, 2007), and a relatively low incidence of pathologies, in particular tumors (Staats, 1980; Bronson and Lipman, 1993). All animals were bred under controlled environmental conditions with 12 h light/dark cycle, and fed *ad libitum* with a standard commercial chow.

Four old mice were trained by treadmill running (45 min at 9 m/min belt speed, five days a week) for one month (old running group: OR); four old mice (old sedentary group: OS) and four adult animals (adult sedentary group: AS) had only spontaneous free-moving activity in the cage. Ultrastructural analysis is a quite demanding method; therefore the number of investigated animals per group was kept to the minimum required for statistical analysis.

In order to avoid possible interference of acute with chronic effects of physical exercise, the animals were killed three days after the last treadmill session.

### Tissue processing

The mice were deeply anaesthetized with pentobarbital (50 mg/Kg i.p.) and then perfused *via* the ascending aorta with a brief prewash with 0.09% NaCl solution followed by a fixative solution containing 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4 at 4°C.

For immunocytochemistry, quadriceps femoris muscles were quickly removed and placed for 2 h at 4°C in the same fixation solution. The samples were washed in phosphate buffered saline (PBS), immersed in 0.5 M NH<sub>4</sub>Cl in PBS for 45 min at 4°C to block free aldehydes, dehydrated with ethanol, and embedded in LR White resin. Ultrathin sections were collected on Formvar-carbon coated nickel grids and used for the immunocytochemical analyses.

### Immunocytochemical analyses

To investigate the fine distribution of PAX7 and MyoD in myonuclei, ultrathin sections of muscle samples were treated with a rabbit polyclonal antibody directed against PAX7 (Abcam, Cambridge, MA, USA) or a mouse monoclonal antibody against MyoD (Abcam). Briefly, the sections were floated for 3 min on normal goat serum diluted 1:100 in PBS and then incubated for 17 h at 4°C with the primary antibodies diluted in PBS containing 0.1% bovine serum albumin (Fluka, St. Louis, MO) and 0.05% Tween 20 (both antibodies were diluted 1:20). After rinsing, sections were floated on normal goat serum, and then reacted for 30 min at room temperature with the secondary goat anti-mouse 6-nm or goat anti-rabbit 12-nm gold-conjugated antibodies (Jackson Immuno Research Laboratories, West Grove, PA) diluted 1:10 in PBS. The sections were rinsed with PBS and water, and air-dried. As controls, some grids were incubated without the primary antibody and then processed as described above.

The sections were weakly stained with 2.5% aqueous solution of uranyl acetate for 2 min and observed in a Philips Morgagni transmission electron micro-

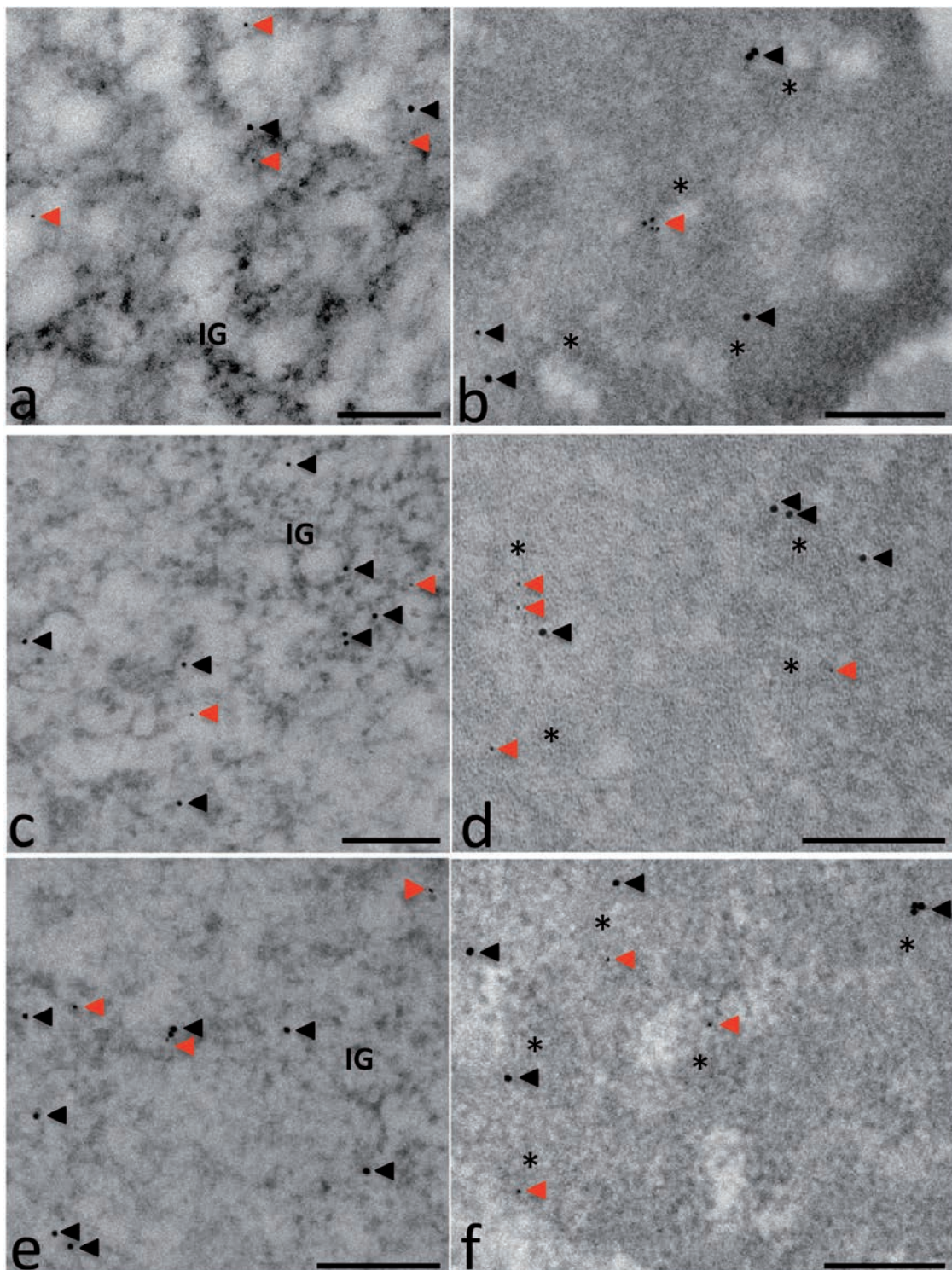


Figure 1. Transmission electron micrographs of myonuclei from AS (a, d), OS (b, e) and OR (c, f) samples; immunolabelling with anti-PAX7 (large gold grains, black arrowhead) and MyoD (small gold grains, red arrowhead) antibodies. The immunolabelling is present in the nucleoplasm (a-c) on perichromatin fibrils and interchromatin granules (IG) and occurs in the nucleolus (d-f) on DFC (asterisk). Bars: 250 nm.

scope (FEI Company Italia Srl, Milan, Italy) operating at 80kV and equipped with an Olympus Megaview II camera for digital image acquisition.

Quantitative assessment of the immunolabelling was carried out by estimating the gold grain density over selected cellular compartments on sections treated in the same run. The surface area of nucleoplasm, IG clusters and nucleolus was measured on 20 selected electron micrographs ( $\times 28,000$ ) from each animal by using ImageJ. Background evaluation was carried out on resin (in the areas devoid of tissue) of immunolabelled samples. Gold grains present over each selected compartment were counted and the labelling density was expressed as number of gold grains/ $\mu\text{m}^2$ .

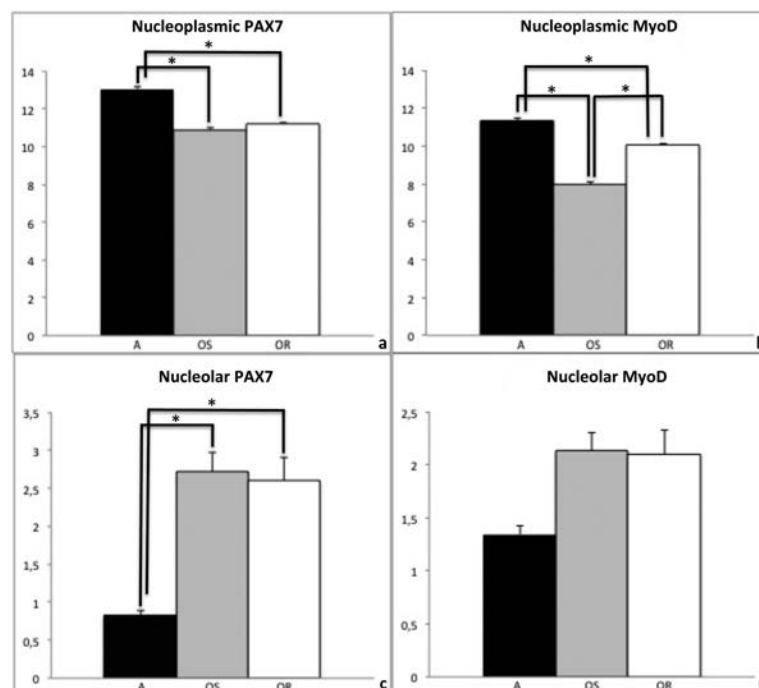
### Statistics

Results for each measured parameter evaluated were pooled according to the experimental groups and the means  $\pm$  standard error of the mean (SE) values were calculated. Statistical analysis of the results was performed by the Kruskal Wallis test; moreover, in order to determine which pairs of samples tended to differ, the Mann Whitney test was used (significance was set at  $P \leq 0.05$ ).

### Results

The ultrastructural organization of the myonuclei was similar in AS, OS and OR mice. Subsarcolemmal myonuclei were typically elongated with one or more roundish nucleoli. A few heterochromatin clumps were associated with the nuclear envelope and the nucleolus; the RNP-containing components, which are active in the synthesis and maturation of mRNA, occupied the nucleoplasmic area. In detail, PFs spread from the borders of condensed chromatin and IGs are recognized as clusters of small granules connected by thin fibrils (Thiry, 1995). The distribution of PAX7 and MyoD was similar in all animals: both transcription factors occurred in the nucleoplasm on PFs and IGs (Figure 1a-c). In the nucleolus, they were detected in one of the nucleolar components i.e., the dense fibrillar component (DFC), whereas the fibrillar centers (FCs) and the granular component (GC) were devoid of signal (Figure 1d-f).

The semiquantitative analysis showed a significant decrease ( $p=0.005$ ) of PAX7 immunolabelling in the nucleoplasmic area of OS in comparison with the AS samples. Such a reduction was as well observed in OR mice (Figure 2a).



**Figure 2.** Quantitative evaluation of anti-PAX7 and MyoD labelling density on nucleoplasmic (a-b) and nucleolar area in AS, OS and OR mice (mean  $\pm$  SE). Mann Whitney test reveals significant differences and the columns identified by asterisks are significantly different from each other.

Similarly, as shown in Figure 2b, the nucleoplasmic immunolabeling for MyoD was significantly lower in OS than in AS ( $p < 0.001$ ) and OR ( $p = 0.011$ ) mice. This demonstrates that the labelling density for MyoD was partially recovered in OR mice ( $p = 0.032$ ), although it did not reach the AS values.

The immunolabelling on IGs did not significantly differ among the three samples for either PAX7 (mean values  $\pm$  SE: AS  $1.91 \pm 1.2$ ; OS  $2.98 \pm 0.77$ ; OR  $2.77 \pm 0.74$ ) or MyoD (mean values  $\pm$  SE: AS  $1.79 \pm 0.96$ ; OS  $1.56 \pm 0.25$ ; OR  $3.28 \pm 0.87$ ).

The nucleolar labelling for PAX7 was significantly higher ( $p = 0.026$ ) in both OS and OR than in AS mice (Figure 2c), whereas no statistical difference was found for the MyoD immunolabelling, although it showed a trend similar to PAX7 (Figure 2d).

## Discussion

PAX7 and MyoD are two important myogenic regulatory factors, which play an essential role in skeletal muscle plasticity, in addition to being recognized as specific markers of the SC functional state (Tedesco *et al.*, 2010; Berkes and Tapscott, 2005).

It is worth noting that a reduction in PAX7 and MyoD takes place during ageing, consistently with the muscle loss (Always *et al.*, 2001; Drummond *et al.*, 2011). Moreover, increasing evidence suggests that muscle atrophy in sarcopenia may be due to a decline in potential of SCs to activate, proliferate and differentiate into motor units (Garcia-Prat *et al.*, 2013; Always *et al.*, 2014). Taking into account that the SC myogenic potential depends on the modulated expression of PAX7 and MyoD, it is worth recalling that a mild physical exercise has been demonstrated to increase the amount of these two transcription factors in SC-derived myoblasts from old mice (Cisterna *et al.*, 2016).

Our results suggest that the mild physical exercise may even have effects on MyoD expression in myofibres. In fact, the nucleoplasmic immunolabeling for MyoD was lower in OS than in AS samples, but significantly increased in OR mice. Therefore, although MyoD did not reach the levels of the AS samples our findings indicate a reactivation of myonuclear activity, as suggested by a rise in transcriptional factors. Interestingly, Malatesta and co-workers have already documented that the exercise can stimulate the synthesis, maturation and export of RNAs to the cytoplasm in aged myonuclei (Malatesta *et al.*, 2011). Accordingly, we observed that in the nucleoplasm MyoD localizes on PFs, which represent the morphological expression of mRNA transcription and processing (Fakan *et al.*, 1984). Some MyoD was also found in

the nucleolus, where it showed a trend to increase in OS and OR mice, although the difference with the AS group did not reach statistical significance.

MyoD has been already found to be expressed in myonuclei, although its role remains unclear (reviewed in Legerlotz and Smith, 2008), and an increase in its content has been shown after denervation (Chen *et al.*, 2002; Hyatt *et al.*, 2006), suggesting a possible nuclear reactivation essential for the myonuclei to react to such a critical condition.

PAX7 nucleoplasmic immunolabelling significantly decreased in OS, consistently with a reduced nuclear activity, but remained low in OR, suggesting that physical exercise does not affect this transcription factor. In both samples PAX7 has been observed to accumulate in the nucleolus, which could represent a storage site for this factor, as well as for MyoD. In fact, in addition to its typical role in rRNA synthesis and ribosomal subunit assembly, the nucleolus is thought to be involved in non-ribosomal functions (reviewed in Cisterna and Biggiogera, 2010). In the nucleolus, both PAX7 and MyoD preferentially localize in the DFC, which is recognised to be the active component in rRNA transcription and processing (Hernandez-Verdun, 2006; Raska *et al.*, 2004; Olson *et al.*, 2002): this is plausible, since the conformation of the DFC should guarantee a permanence and/or transit of molecules without risk of being trapped.

We did not observe any accumulation of either PAX7 or MyoD in IGs, which normally serve as storage/assembly/modification compartments for factors engaged in the transcriptional and processing mechanisms (Misteli and Spector, 1997). The immunolabelling for both factors was quite scarce on IGs, suggesting that these RNP-containing structures may possibly be sites for the functional modification of PAX7 and MyoD, but not their accumulation sites.

In conclusion, our results suggest that MyoD is involved in the reactivation of myonuclei as a consequence of the stimulated response of skeletal muscle to the mild physical exercise; such activation is not mediated by PAX7, which did not increase after physical exercise and seemed to find in the nucleolus its storage site in aged myonuclei.

As already recalled, MyoD and PAX7 are expressed in both SCs and myonuclei: this makes it impossible to discriminate their presence and expression levels in either cell type by biochemical techniques. Ultrastructural immunocytochemistry proved to be a suitable and unique approach for detecting, locating and quantifying MyoD and PAX7 in the myonuclei of sarcopenic mice before and after mild physical exercise, thus providing basic information to understand their functional modulation in relation to ageing and training.

## References

- Alway SE, Lowe DA, Chen KD. The effects of age and hindlimb suspension on the levels of expression of the myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in rat fast and slow skeletal muscles. *Exp Physiol* 2001; 86:509–517.
- Alway SE, Myers MJ, Mohamed JS. Regulation of satellite cell function in sarcopenia. *Front Aging Neurosci* 2014; 6:246.
- Anderson JE, Wozniak AC. SC activation on fibers: modeling events in vivo – an invited review. *Can J Physiol Pharmacol* 2004; 82:300–310.
- Berkes CA, Tapscott SJ. MyoD and the transcriptional control of myogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 2005; 16:585–595.
- Bronson RT, Lipman RD. FRAR course on laboratory approaches to aging. The role of pathology in rodent experimental gerontology. *Aging (Milano)*. 1993; 5:253-257.
- Burton LA, Sumukadas D. Optimal management of sarcopenia. *Clin Interv Aging* 2010; 5:217–228.
- Chen CM, Stott NS, Smith HK. Effects of botulinum toxin A injection and exercise on the growth of juvenile rat gastrocnemius muscle. *J Appl Physiol* 2002; 93:1437–1447.
- Cisterna B, Biggiogera M. Ribosome biogenesis: from structure to dynamics. *Int Rev Cell Mol Biol* 2010; 284:67-111.
- Cisterna B, Giagnacovo M, Costanzo M, Fattoretti P, Zancanaro C, Pellicciari C, et al. Adapted physical exercise enhances activation and differentiation potential of satellite cells in the skeletal muscle of old mice. *J Anat* 2016; 228:771-783.
- Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: report of the European Working Group on sarcopenia in older people. *Age Ageing* 2010; 39: 412–423.
- Drummond MJ, McCarthy JJ, Sinha M, Spratt HM, Volpi E, Esser KA, Rasmussen BB. Aging and microRNA expression in human skeletal muscle: a microarray and bioinformatics analysis. *Physiol Genomics* 2011; 43:595–603.
- Fakan S, Leser G, Martin TE. Ultrastructural distribution of nuclear ribonucleoproteins as visualized by immunocytochemistry on thin sections. *J Cell Biol* 1984; 98:358-363.
- Garcia-Prat L, Sousa-Victor P, Munoz-Canoves P. Functional dysregulation of stem cells during aging: a focus on skeletal muscle stem cells. *FEBS J* 2013; 280:4051–4062.
- Hernandez-Verdun D. Nucleolus: from structure to dynamics. *Histochem Cell Biol* 2006; 125:127-137.
- Hyatt JP, Roy RR, Baldwin KM, Wernig A, Edgerton VR. Activity-unrelated neural control of myogenic factors in a slow muscle. *Muscle Nerve* 2006; 33:49–60.
- Kuang S, Rudnicki MA. The emerging biology of satellite cells and their therapeutic potential. *Trends Mol Med* 2008; 14:82-91
- Legerlotz K, Smith HK. Role of MyoD in denervated, disused, and exercised muscle. *Muscle Nerve* 2008; 38:1087-1100.
- Malatesta M, Fattoretti P, Giagnacovo M, Pellicciari C, Zancanaro C. Physical training modulates structural and functional features of cell nuclei in type II myofibers of old mice. *Rejuvenation Res* 2011; 14:543-552.
- Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 1961;9:493–495.
- Misteli T, Spector DL. Protein phosphorylation and the nuclear organization of pre-mRNA splicing. *Trends Cell Biol* 1997; 7:135–138.
- Mocchegiani E, Giacconi R, Cipriano C, Costarelli L, Muti E, Tesi S, et al. Zinc, metallothioneins, and longevity. Effect of zinc supplementation: zincage study. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1119:129-146.
- Olson MO, Hingorani K, Szebeni A. Conventional and non-conventional roles of the nucleolus. *Int Rev Cytol* 2002; 219:199–266.
- Raska I, Koberna K, Malinsky J, Fidlerova H, Masata M. The nucleolus and transcription of ribosomal genes. *Biol Cell* 2004; 96:579–594.
- Renault V, Thornell LE, Eriksson PO, Butler-Browne G, Mouly V. Regenerative potential of human skeletal muscle during aging. *Aging Cell* 2002; 1:132–139.
- Sambasivan R, Tajbakhsh S. Skeletal muscle stem cell birth and properties. *Semin Cell Dev Biol* 2007; 18:870-882.
- Sayer AA, Robinson SM, Patel HP, Shaylakade T, Cooper C, Grounds MD. New horizons in the pathogenesis, diagnosis and management of sarcopenia. *Age Ageing* 2013; 42:145–150.
- Staats J. Standardized nomenclature for inbred strains of mice: seventh listing for the International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice. *Cancer Res* 1980; 40:2083-2128.
- Tedesco FS, Dellavalle A, Diaz-Manera J, Messina G, Cossu G. Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells. *J Clin Invest* 2010; 120:11-19.
- Thiry M. The interchromatin granules. *Histol Histopathol* 1995; 10:1035-1045.
- Zwetsloot KA, Childs TE, Gilpin LT, Booth FW. Non-passaged muscle precursor cells from 32-month old rat skeletal muscle have delayed proliferation and differentiation. *Cell Prolif* 2013; 46:45–57.



# Scanning electron microscopy in the taxonomical study of free-living marine nematodes

Lucia Cesaroni, Loretta Guidi, Maria Balsamo, Federica Semprucci

Department of Biomolecular Sciences (DiSB), University of Urbino, loc. Crocicchia, 61029 Urbino, Italy

Corresponding author: Federica Semprucci

Dipartimento di Scienze Biomolecolari (DiSB), University of Urbino, loc. Crocicchia, 61029 Urbino, Italy

Tel. +39 0722304248

E-mail: federica.semprucci@uniurb.it

## Summary

Free-living marine nematodes are microinvertebrates composing one of the most diversified groups of the marine biota, with more than 7000 species. This means that only the 20% of the species is currently known. Several morphological features can help their taxonomical identification such as cephalic, cervical and body setae, amphids, cuticle, spicules and tail that may also have a functional role. Given the small size of these organisms, they differ in minute characters that can be detected more effectively by scanning electron microscopy (SEM). This study presents an overview of the use of SEM on some nematode species collected in the Maldivian archipelago, and highlights the importance of this technique in the taxonomical study of nematodes as well as its potentialities in the functional investigation of some of their structures.

**Key words:** nematodes, taxonomic identification, morphological characters, adaptations, scanning electron microscopy.

## Introduction

Nematodes are cylindrical elongated worms with free-living, symbiotic or parasite life style. In particular, free-living species have a body length of about 1-2 mm and are one of the most abundant component of the meiofaunal assemblage: to date about 7000 species have been described, but this number has been estimated as only a small part of the real diversity of the phylum (Appeltans *et al.*, 2012).

Nematodes show different body shapes, from the most common cylindrical form to a short or thick body (*i.e.* order Desmoscolecida) or to a “S” and “ε”-shaped body (*i.e.* families Draconematidae and Epsilonematidae). Other nematodes are completely covered with bacterial ectosymbionts arranged in multiple layers (*i.e.* sub-family Stilbonematinae) or may present close relations with ectocommensals such as Suctorina (Semprucci and Balsamo, 2012; Ansari *et al.*, 2017).

These organisms have a pseudocoelomic body cavity filled with a high-pressure fluid where the reproductive system lies (Platt and Warwick, 1983). Their body wall is formed by an external thick cuticular layer made of collagen. The cuticle usually bears sensory structures (sensillae) distributed along the

body, but mainly present on the head region. Arrangement, shape, position and size of sensillae and lateral organs (amphids) are species-specific and consequently are diagnostic characters for the taxonomical identification. Among them, the amphid is the largest and most complex sensorial organ of the nematode cephalic region (Decraemer *et al.*, 2014).

Nematodes contribute to the benthic energy flows in different ways (Giere, 2009) and have a central role in the trophic chains of marine habitats (Danovaro *et al.*, 2008; Semprucci and Balsamo, 2012; Semprucci *et al.*, 2015). They have numerous trophic styles that may also be recognized by the different morphology of the buccal cavity (Wieser, 1953).

Habitats show a nematode fauna of different composition in species that are characterized by specific morphological and physiological adaptations. It is well known that both the general shape of nematode bodies and the structure of their organs may be correlated to environmental factors prevailing in the habitat for which they are adapted (Wieser, 1959).

Due to the small body size, light microscopy has some limits in effectively discerning minute morphological details. Several publications focused on the taxonomy and systematics of nematodes have applied ultrastructural techniques, but the latter are

still underemployed. This paper is a review on the great variety of morphological features of nematodes that can be analyzed by scanning electron microscopy (SEM), like cephalic, cervical and body setae, amphids, cuticle, spicules and tail, and highlights the importance of this technique in the taxonomical study of nematode species.

## Materials and Methods

Specimens were obtained from sediments collected from the Central part of the Maldivian Archipelago, mainly from Ari, South Malé, and Felidhoo atolls (Indian Ocean). Sediment samples were taken by a Scuba diver using a plexiglass corer (Ø2 cm). They were treated with a 7% MgCl<sub>2</sub> aqueous solution for narcotizing fauna, and then fixed with a neutralized formaldehyde solution (4% final concentration). Meiofauna were separated from sediment after decantation through a 42 µm mesh sieve and centrifugation in Ludox HS 30 (Pfannkuche and Thiel, 1988). All meiofaunal animals were counted and sorted by taxon level (mainly *phylum* and order) under a stereo-microscope (Leica G26). Some nematode specimens especially interesting from a morphological point of view were selected for an ultrastructural analysis by SEM. To apply this technique, the selected organisms were first rinsed in cacodylate buffer to remove formalin medium and possible foreign material and subsequently they were dehydrated in a graded ethanol series, 5 minutes for each solution. Lastly the specimens were transferred in hexamethyldisilazane (HMDS) and allowed to dry, according to Hochberg and Litvaitis (2000). Dry specimens were mounted on aluminum stubs, and sputter-coated with gold-palladium for 5 minutes. Observations were carried out under a SEM Philips 515, at the University of Urbino, and under a SEM Q200FEG, at the Agency of the Regional Environmental Protection of Pesaro.

## Results and Discussion

### Cephalic, cervical and body setae

Sensillae (also called setae) have generally a tactile function. For instance, long setae probably lead the worm in the interstitial habitat, especially in exposed sediments, or may be used as adhesive organs as in some representatives of the family Epsilonematidae (Wieser, 1959; Gad, 2002).

The description of the number, arrangement and length of the labial and cephalic setae in nematodes

is a major character reported in all taxonomical descriptions of the species and is used also as an element of phylogenetic discussion (*e.g.* Jensen, 1979; Lorenzen, 1994; Leduc, 2013; Semprucci, 2015); however, this character is valid only in adults because setae may be subject to changes from juvenile to adults stage.

In the head region, the most common pattern of setae is represented by 3 circles around the mouth as reported in Figure 1A, where hair-like setae are showed and arranged following the scheme 6+6+4. The distinctive feature of this specimen (genus *Desmodorella*, family Desmodoridae) is the presence of rows of short setae along the whole body. Although there is no evidence that this specific feature of *Desmodorella* is a possible adaptation to the habitat conditions, the representatives of this genus are dominant in medium-coarse sands likely thanks to the body stoutness provided by the combination of a thick cuticle and the presence of these short setae along the whole body (Semprucci *et al.*, 2010). Another possible arrangement of the cephalic setae is in two circles with the scheme 6+10. This pattern is visible in Figure 1B that shows a specimen of the genus *Bathylaimus* (family Tripyloididae) with the mouth surrounded by 3 high, rounded lips deeply incised. The 6 labial setae are very short, while 6 longer and 4 shorter jointed setae lie at the same level. Jointed setae are rare, but they are a characteristic feature of the family Tripyloididae.

Also the presence of setae in the oesophageal region (cervical setae) and their position and length are of taxonomical importance. They are generally mechanoreceptors, possibly with also a chemoreceptive function (Decraemer *et al.*, 2014).

Figure 1C shows a nematode of the genus *Pseudosteineria* (family Xyalidae) with very long subcephalic setae that are subdivided in 8 groups at the same level of the amphids. As argued previously, so developed structures could be have an important function as an adaptation to the interstitial habitat.

The somatic setae on the general surface of the body may be arranged randomly or in a definite pattern. Figure 1D shows a particular example of stout somatic setae of a specimen of the genus *Tricoma* (family Desmoscolecidae). An important role of these somatic setae in the locomotion of Desmoscolecidae within the substratum has been documented by different authors (see Decraemer and Rho, 2014 for details).

Finally, setae may be present or absent in the tail region, and their length and number have a relevance in the specific identification. A well-developed caudal seta in a specimen of the genus *Pseudosteineria* is visible in Figure 1E.

## Amphids

Amphids are bilateral and generally symmetrical structures situated on the head region and are the main sensory organs of the nematodes. They are generally recognized as chemoreceptors, but detailed ultrastructural analyses revealed a more complex role of these organs (Decraemer *et al.*, 2014). Their shape, size and position in relation to the cephalic end are relevant information in the process of identification of nematodes and form a standard part of all the taxonomical descriptions of the species.

The amphids consist of an internal cavity, called *fovea*, filled with a gelatinous substance (*corpus gelatum*), opening at the cuticle surface. Several sensory filaments are inserted into the *corpus gelatum* and are generally more numerous in the class Adenophorea than in Secernentia. Lorenzen (1994) subdivided amphids in two major groups: spiral e non-spiral. In the first, the *fovea* can turn ventrally or

dorsally so that amphids appear loop-shaped, with only one turn, or multi-spiral (with numerous turns). The same group includes also amphids with other shapes such as circular and transverse. The non-spiral amphids are pocket-like structures. Figure 2 shows all examples of the first group of amphids.

In particular, the first two pictures show circular amphids of different size, in the genus *Pseudosteineria* (family Xyalidae) (Figure 2A) and in the genus *Monoposthia* (family Monoposthiidae), respectively (Figure 2B). A rounded amphid with a vesicular (blister-like) *corpus gelatum* that covers the whole head region was documented in the genus *Desmoscolex* (Figure 2C): this is the typical amphid of the family Desmoscolecidae. In Figure 2D a multi-spiral amphid of the genus *Dorylaimopsis* (family Comesomatidae) is visible. In the multi-spiral amphids, the number of turns may be very important from a taxonomical point of view. Figure 2E shows

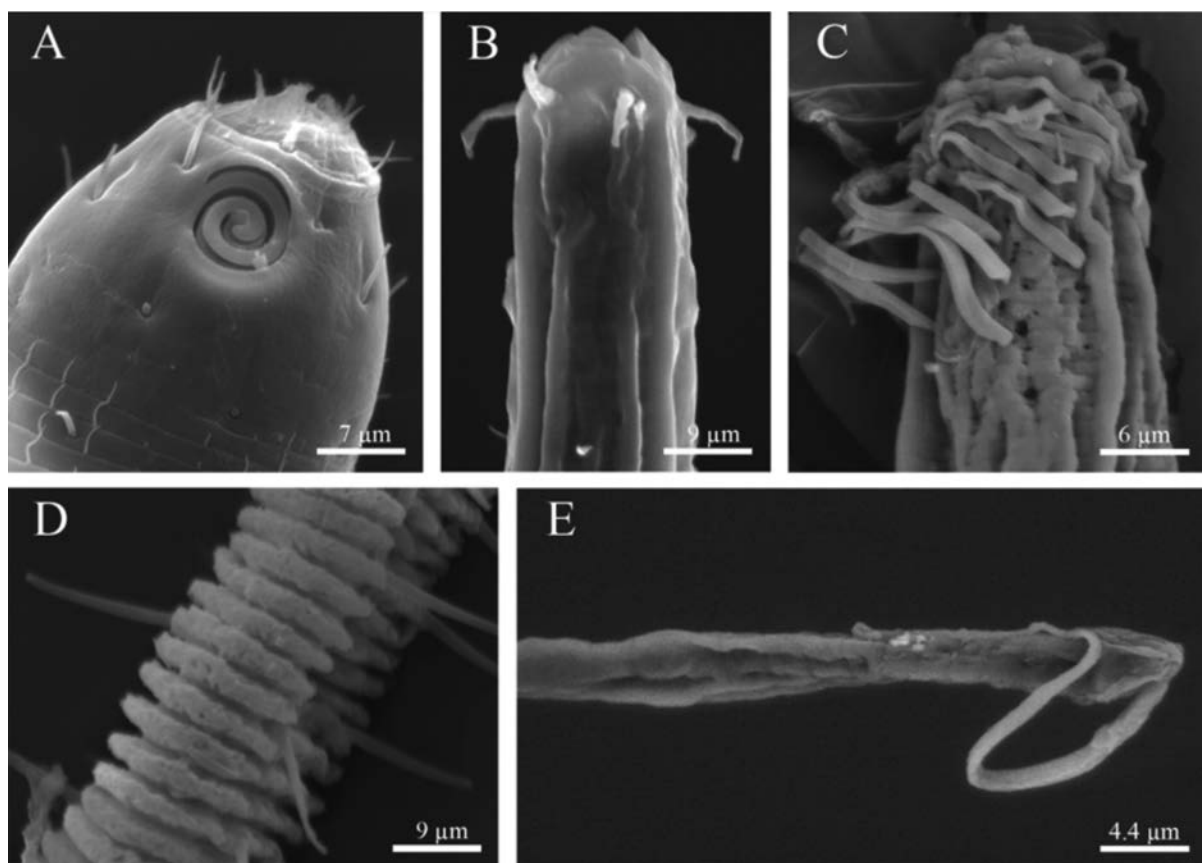


Figure 1. A) Hair-like setae of the genus *Desmodorella* (fam. Desmodoridae); B) Jointed setae, genus *Bathylaimus* (fam. Tripyloididae); C) Subcephalic setae, genus *Pseudosteineria* (fam. Xyalidae); D) Somatic setae, genus *Tricoma* (fam. Desmoscolecidae); E) Caudal seta, genus *Pseudosteineria* (fam. Xyalidae).

an elongated loop-like amphid typical of the genus *Ceramonema* and the relative family Ceramonematidae.

Available information about a possible differential function of the amphids in different types of habitats is scarce. However, it seems that amphids may perform a different role in soil and in open fresh waters.

In the first case, the microhabitat is richer in substances and chemical information travels a short distance, while open freshwaters are usually less rich in dissolved matter, and chemical information needs to travel long distances (Zullini A., personal communication). Accordingly, soil nematode species seem to have small and even punctiform amphids, while the

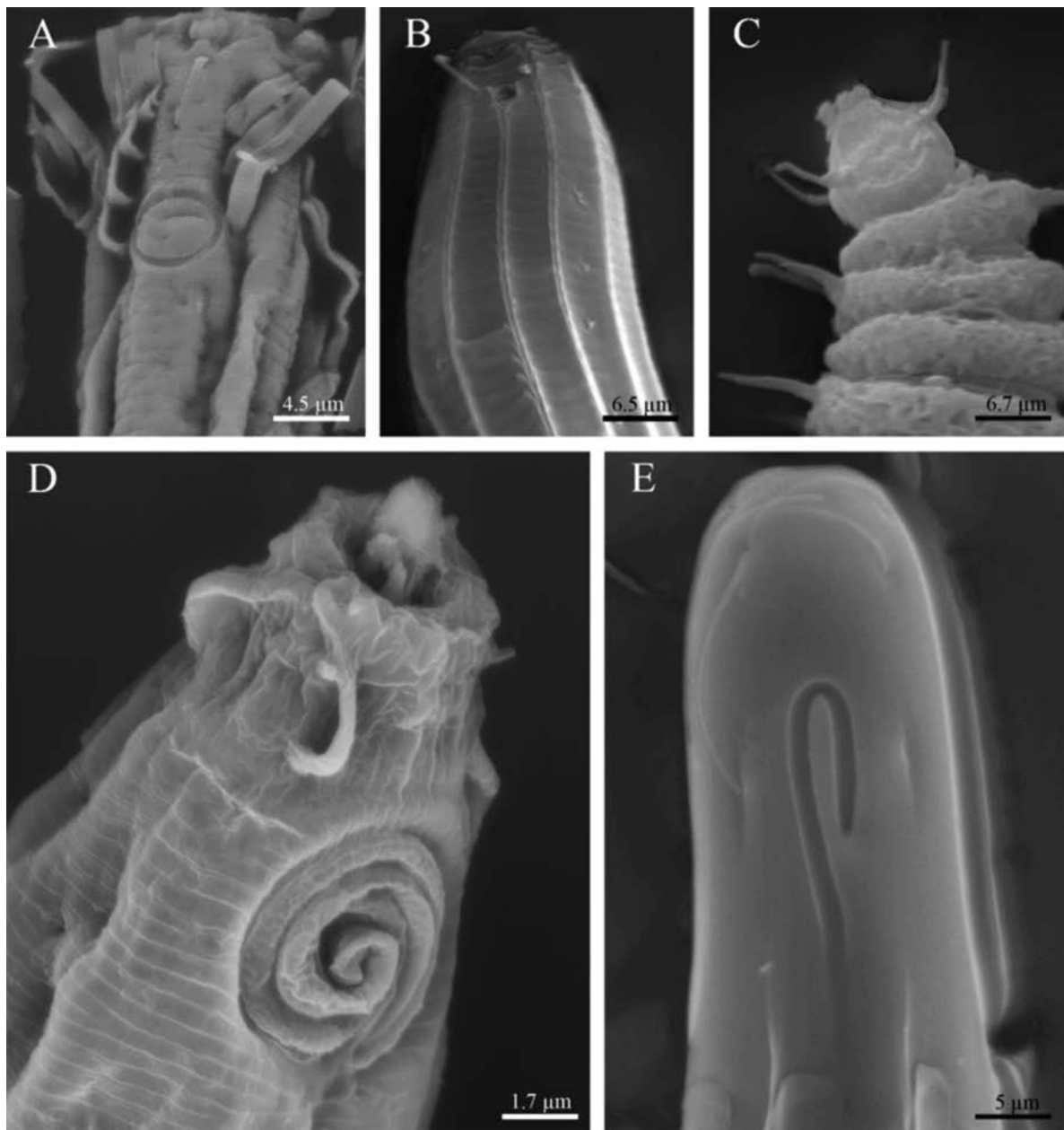


Figure 2. A) Circular amphid, genus *Pseudosteineria* (fam. Xyalidae); B) Small circular amphid, genus *Monoposthia* (fam. Monoposthiidae); C) Rounded amphid with a vesicular (blister-like) *corpus gelatum*, genus *Desmoscolex* (fam. Desmoscolecidae); D) Multi-spiral amphid, genus *Dorylaimopsis* (fam. Comesomatidae); E) Elongated loop-like amphid, genus *Ceramonema* (fam. Ceramonematidae).

amphids of freshwater nematodes appear larger. Marine species show a greater variety of morphologies of the amphids than in the terrestrial or freshwater habitats that likely reflects the comparatively higher heterogeneity of habitats in marine ecosystems. However, a possible relation between the amphid morphologies and the habitat features has not yet been explored in marine ecosystems.

### Cuticle

Nematode cuticle represents a barrier between the animal and the environment, confers the body shape,

and supports locomotion in synergy with body muscles and pseudocoel.

Nematodes show different types of cuticles: smooth, dotted, transversely annulated, covered with rows of spines or desmens (thick transversal rings consisting of sedimentary particles and concretions). Figure 3 shows some examples of these patterns: a smooth cuticle of the genus *Halalaimus* (family Oxystominidae, Figure 3A), and two different types of annulations with lateral bands (Figure 3B,C). Figure 3B shows a band in the lateral field along the whole body length (genus *Leptolaimus*,

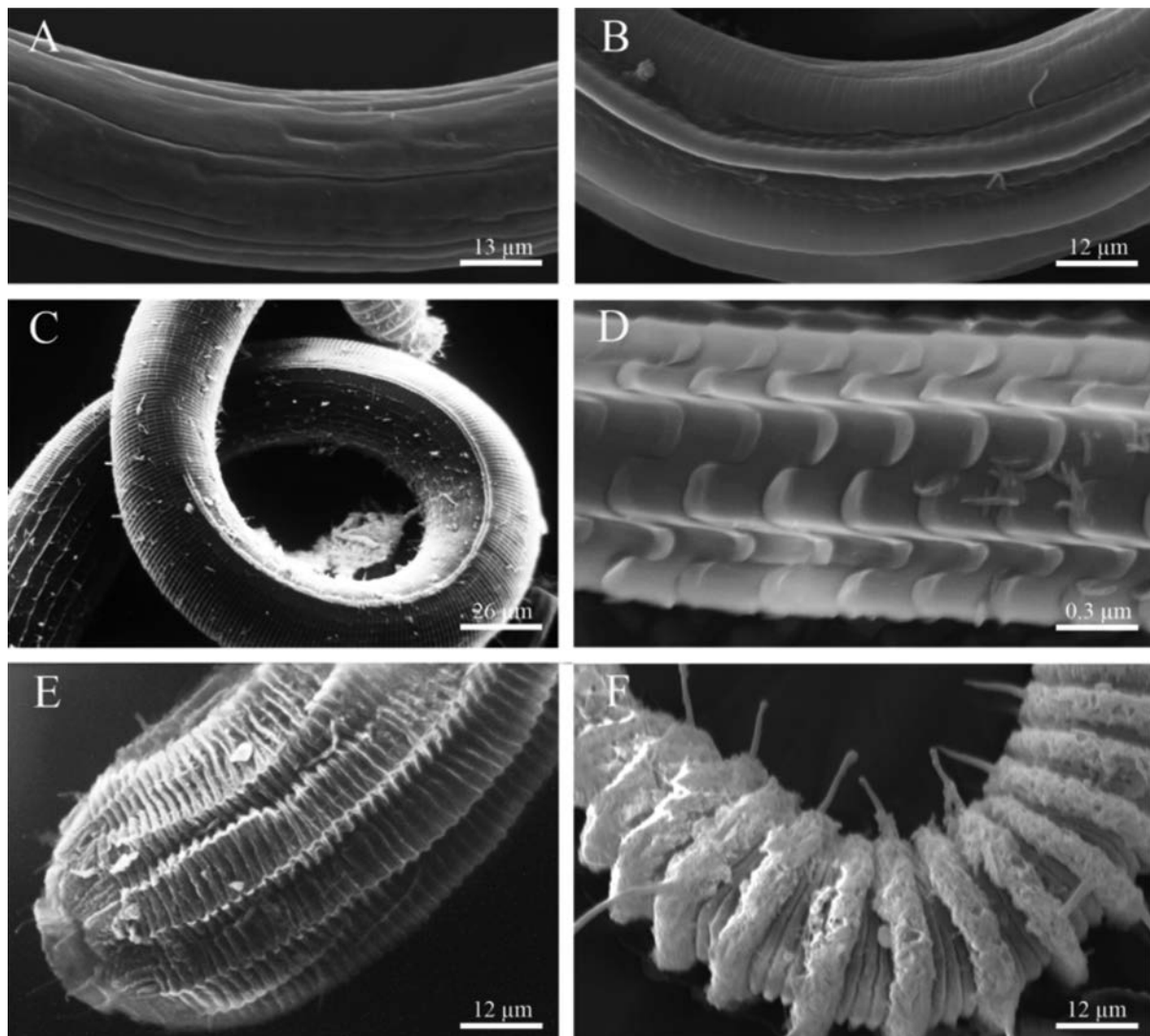


Figure 3. A) Smooth cuticle, genus *Halalaimus* (fam. Oxystominidae); B-C) Different types of annulated cuticle, genera *Leptolaimus* (fam. Leptolaimidae) and *Pseudochromadora* (fam. Desmodoridae); D-E) Strongly sculptured cuticle, fam. Ceramonematidae and fam. Selachnematidae; F) Desmens, genus *Desmoscolex* (Desmoscolecidae).

family Leptolaimidae), while Figure 3C focuses on the end of the oesophageal region (genus *Pseudochromadora*, family Desmodoridae). The genus *Ceramonema* (family Ceramonematidae) has wide body annules and longitudinal ridges (Figure 3D), the genera of the family Selachnematidae show a strongly sculptured cuticle of various morphologies (Figure 3E), and the genus *Desmoscolex* (family Desmoscolecidae) show the characteristic desmens (Figure 3F).

The external ornamentation of the cuticle may be observed in a different way by light and electron microscopy. Indeed, some fine details are not immediately visible even under SEM. For instance, the cuticle with dots of the Comesomatidae species appears only annulated using SEM (Muthumbi *et al.*, 1997), as well as do some complex cuticles of Chromadoridae species. However, the inner structure of the cuticle and important additional details may be captured by SEM simply by breaking the sur-

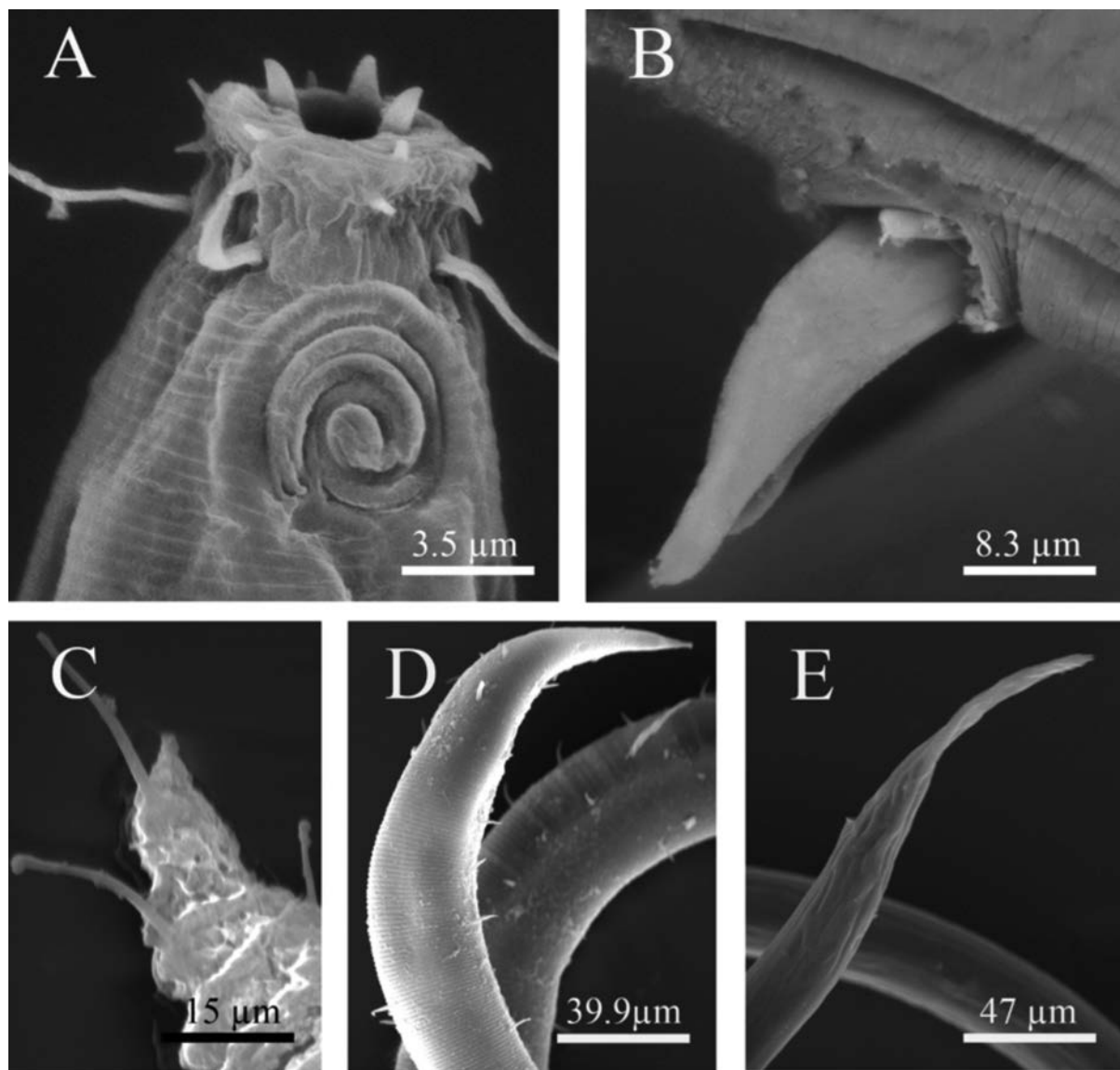


Figure 4. A) Teeth, genus *Dorylaimopsis* (fam. Comesomatidae). B) Tip of the spicule of a *Dorylaimopsis* species (fam. Comesomatidae). C) Short tail, genus *Desmoscolex* (fam. Desmoscolecidae); D) Conical tail, genus *Croconema* (fam. Desmodoridae); E) Elongate tail, genus *Halalaimus* (fam. Oxystominidae).

face of the nematode cuticle and observing the deeper layers (Gourbault and Vincx, 1994).

### Buccal cavity

Nematodes show different levels of feeding specialization related to the adaptive plasticity of the buccal cavity structure: they may be omnivorous, predators, plant-feeding, or detritivorous (Semprucci and Balsamo, 2012).

Wieser (1953) proposed a distinction of nematodes in four trophic groups based on the morphology of their buccal cavity: selective deposit feeders (1A), non-selective deposit feeders (1B), epigrowth feeders (2A) and predators and omnivorous (2B).

The group 1A is formed by species that mainly feed on small detritus particles and bacteria, and thus show a small and non-cuticularized buccal cavity because they use the muscular pharynx to pump up the food. Species of the group 1B feed on bacteria, diatoms cells and organic particles and have a well-developed buccal cavity, but weakly cuticularized because they ingest mainly by lips. Instead, teeth of various size and denticles characterize the buccal cavity of species of the trophic group 2A. These structures allow them to feed on benthic diatoms, and also to scrape bacteria from the surface of the sand granules. Finally, the group 2B include species showing a buccal cavity with strongly cuticularized teeth and even mandibles used for predated various organisms, also other nematodes. A detail of the lips in the genus *Bathylaimus* (family Tripyloididae, trophic group 1B) is reported in Figure 1B and a close-up of the teeth in the genus *Dorylaimopsis* (family Comesomatidae, trophic group 2A) is visible in Figure 4A.

### Spicules

Spicules are one or two cuticular copulatory male organs that are inserted into the female vulva for widening it during mating and allowing the sperm transfer. Nematode males generally have spicules with very complex structure and differing in shape and size in various species. The spicules are slightly curved and lie in the cloacal area within their specific pouches; they can be protruded and retracted by erector and protractor muscles. An accessory piece,

the *gubernaculum*, may be present in some species and serves as a guide during the protrusion of the spicules. Spicules may be partially visible using SEM only if they are protracted outside the body of the animal; a complete observation of their structure may be possible after excision (Rammah and Hirschmann, 1987). In Figure 4B, it is possible to observe the tip of the spicule of a *Dorylaimopsis* species (family Comesomatidae) that reveals fine morphological details undetectable by light microscopy that can be used as a diagnostic taxonomical character (Semprucci *et al.*, 2016).

### Tail

Tail shape is an important character in species identification: in fact it can be round, conical, clavate (i.e. conico-cylindrical with swollen tip) or elongated, and can change during the development phases (Schmidt-Rhaesa, 2014). Figure 4C shows a short tail of a specimen of the genus *Desmoscolex* (family Desmoscolecidae), a conical tail of a nematode of the genus *Croconema* (family Desmodoridae) (Figure 4D), and an elongate tail of an individual of the genus *Halalaimus* (subfamily Oxystominidae) (Figure 4E). Thistle and Sherman (1985) pointed out the importance of tail as a functional character like the trophic life style, and in particular as an adaptation to the habitat due to its great relevance in the locomotion. Glands can be also found in the caudal region where they produce an adhesive substance that is released outside through the tail tip (Figure 4C-E).

### Conclusions

Nematodes have a small-sized body and generally differ in minute morphological characters. Although several publications focused on the taxonomy and systematics of nematodes have employed ultrastructural techniques, the use of these techniques is still limited even if they can allow to show details that light microscopy may hardly detect. Thus, we would like to point out the importance of SEM analysis in taxonomical studies as well as its potentialities in ecological surveys.

## References

- Ansari KGMT, Guidi L, Dovgal I, Balsamo M, Semprucci F. Some epibiont suctorian ciliates from meiofaunal organisms of Maldivian archipelago with description of a new ciliate species. *Zootaxa* 2017; 4258 (4), 375-387.
- Appeltans W, Ah Yong ST, Anderson G, Angel MV, Artois T, Bailly N, et al. The magnitude of global marine species diversity. *Curr Biol* 2012;22:2189-202.
- Danovaro R, Gambi C, Dell'Anno A, Corinaldesi C, Frascetti S, Vanreusel A, et al. Exponential decline of deep-sea ecosystem functioning linked to benthic biodiversity loss. *Curr Biol* 2008;18:1-8.
- Decraemer W, Coomans A, Baldwin J. Morphology of Nematoda. In: Schmidt-Rhaesa editor; *Handbook of Zoology, Gastrotricha, Cycloneuralia and Gnathifera*. De Gruyter, Berlin, 2014;1-51.
- Decraemer W, Rho HS. Order Desmoscolecida. In: Schmidt-Rhaesa editor; *Handbook of Zoology, Gastrotricha, Cycloneuralia and Gnathifera*. De Gruyter, Berlin, 2014;351-373.
- Gad G. The relation between habitus and habitat structure as evidenced by a new species of *Glochinema* (Nematoda, Epsilonematidae) from the plateau of the Great Meteor Seamount. *Hydrobiologia* 2002;474:171-182.
- Giere O. *Meiobenthology: the microscopic motile fauna of aquatic sediments*. 2nd edition. Springer, Berlin Heidelberg, 2009.
- Gourbault N, Vincx M. New species of *Parapinnanema* (Nematoda: Chromadoridae) are described, with a discussion of the genus. *Aust J Mar Freshwater Res* 1994;45:141-159.
- Hochberg R, Litvaitis MK. Phylogeny of Gastrotricha: A morphology-based framework of gastrotrich relationships. *Biol Bull* 2000;198:299-305.
- Jensen P. Revision of *Comesomatidae* (Nematoda). *Zool Scr* 1979;8:81-105.
- Leduc D. *Deontostoma tridentum* n. sp. (Nematoda, Leptosomatidae) from the continental slope of New Zealand. *Zootaxa* 2013;3722:483-492.
- Lorenzen S. *The phylogenetic systematics of freelifving nematodes*. The Ray Society, Andover (UK), 1994.
- Muthumbi AW, Soetaert K, Vincx M. Deep-sea nematodes from the Indian Ocean: new and known species of the family *Comesomatidae*. *Hydrobiologia* 1997;346:25-57.
- Pfannkuche O, Thiel H. Sample processing. In: Higgins RP, Thiel H editors, *Introduction to the Study of Meiofauna*. Smithsonian Inst., Washington, 1988;134-145.
- Platt HM, Warwick RM. *Free-living marine nematodes. Part I. British Enoploids*. Synopses of the British Fauna. Cambridge University Press, Cambridge, 1983.
- Rammah A, Hirschmann H. Morphological comparison and taxonomic utility of copulatory structures of selected nematode species. *J Nematol* 1987;19:314-323.
- Schmidt-Rhaesa A, *Handbook of Zoology, Gastrotricha, Cycloneuralia and Gnathifera*. Vol 2: Nematoda, De Gruyter, Berlin, 2014.
- Semprucci F. A new species of *Paracomeseoma* (*Comesomatidae*) from Maldives (Indian Ocean) with an emended diagnosis and an updated key of the genus. *J Mar Biol Ass UK* 2015;95:339-347.
- Semprucci F, Balsamo M. Key role of free-living nematodes in the marine ecosystem. In: Boeri F, Jordan AC editors; *Nematodes: Morphology, Functions and Management Strategies*. 2012;109-34.
- Semprucci F, Burattini S, Kim H, Hong JH, Lee W, Guidi L, et al. Application of confocal laser scanning microscopy in the taxonomy of free-living marine nematodes. *Microscopie*. 2016;13:48-57.
- Semprucci F, Colantoni P, Baldelli G, Rocchi M, Balsamo M. The distribution of meiofauna on back-reef sandy platforms in the Maldives (Indian Ocean). *Mar Ecol* 2010;31:592-607.
- Semprucci F, Losi V, Moreno M. A review of Italian research on free-living marine nematodes and the future perspectives in their use as Ecological Indicators (EcoInd). *Mediterr Mar Sci* 2015;16: 352-365.
- Thistle D, Sherman KM. The nematode fauna of a deep-sea site exposed to strong near-bottom currents. *Deep-Sea Res* 1985;32:1077-1088.
- Wieser W. Die Beziehungen zwischen Mundhöhlengestalt, Ernährungsweise und Vorkommen bei freilebenden marinen Nematoden. Eine ökologisch-morphologische studie. *Arkiv för zoologi (Ser, 2)* 1953;4:439-484.
- Wieser W. *Free-living marine nematodes IV. General part*. *Acta Univ. Lund (N. F. 2)*. 1959;55:1-111.







## I VANTAGGI DEI SOCI SISM

Essere Soci SISM (Società Italiana Scienze Microscopiche) vuol dire far parte di una Società Scientifica che, nata dalla consolidata tradizione scientifica della SIME (Società Italiana di Microscopia Elettronica), opera con uno spirito di forte dinamicità nei diversi settori della Microscopia, è sempre attenta alle continue evoluzioni tecniche e scientifiche in ambito Biologico, Biomedico e in Scienza dei Materiali e ha voluto fare della integrazione tra Ricercatori, Tecnici e quanti sono interessati alle applicazioni ed al progresso delle Scienze Microscopiche il suo obiettivo costante. La Società promuove Congressi Scientifici a livello nazionale ed internazionale, organizza e sponsorizza Scuole, Corsi teorico-pratici, Workshops, Seminari su specifici temi di particolare interesse e/o attualità per favorire l'aggiornamento teorico-applicativo di ricercatori, operatori professionali e personale specializzato delle aziende del settore.

Essere Soci SISM vuol dire:

- far parte dell'EMS (European Microscopy Society, [www.eurmicoc.org](http://www.eurmicoc.org)) e usufruire delle opportunità offerte dalla Società Europea in termini di informazioni, aggiornamenti, Corsi e Congressi a cui si può partecipare con quote ridotte;
- avere la possibilità di ricevere la rivista semestrale *Microscopie* che contiene informazioni riguardanti non solo le attività della Società, ma anche le novità che possono offrire le Ditte legate al settore, recensioni su pubblicazioni di interesse per i microscopisti, articoli scientifici e contributi dai diversi Centri di Microscopia che, diffusi su territorio nazionale, offrono grandi potenzialità in termini di strumentazioni e di competenze scientifiche facilmente condivisibili tra i Soci SISM;
- essere informati delle attività, Congressuali e non, che coinvolgono il mondo della microscopia in tutti i suoi aspetti;
- partecipare con quote vantaggiose a tutte le attività della Società;
- partecipare con quote vantaggiose alle iniziative accreditate secondo il progetto ECM (Educazione Continua in Medicina);
- avere la possibilità, per i giovani non strutturati, di usufruire di premi e borse di studio intese a favorire la partecipazione a Congressi di Microscopia nazionali ed internazionali e a premiare la ricerca svolta;
- avere libero accesso, a richiesta, a materiale didattico e scientifico prodotto dalla Società su argomenti di particolare attualità e interesse;
- avere la possibilità, per i Soci che siano promotori di attività di spin-off, di partecipare, con quote vantaggiose, alle iniziative della Società.

In conclusione, essere Soci della SISM vuol dire far parte di una Comunità di Microscopisti attiva, dinamica e in continua evoluzione non solo su scala nazionale, ma anche in un contesto europeo.

Per maggiori informazioni si prega di consultare il sito all'indirizzo [www.sism.it](http://www.sism.it).

## TARIFE INSERZIONI PUBBLICITARIE

La rivista *Microscopie* è una pubblicazione a carattere tecnico-scientifico edita dalla Società Italiana Scienze Microscopiche (SISM) che viene distribuita a tutti i soci. La rivista ha periodicità semestrale ed è stampata in b/n in formato A4 con copertina a colori. A pagamento possono essere inserite pagine interne a colori. Le tariffe per le inserzioni pubblicitarie sono le seguenti:

Pagina interna colore € 500,00

Seconda, terza o quarta di copertina (colore) € 800,00

I prezzi si intendono per singola pagina, IVA esclusa.

Il materiale pubblicitario, di elevata qualità, deve essere fornito su supporto digitale e deve essere inviato almeno 15 giorni prima della pubblicazione della rivista al seguente indirizzo:

Manuela Malatesta  
Dipartimento di Neuroscienze Biomedicina e Movimento, Sezione di Anatomia e Istologia  
Università degli Studi di Verona, strada Le Grazie, 8 37134 Verona  
Tel. +39.045.8027569/8425115  
E-mail: [manuela.malatesta@univr.it](mailto:manuela.malatesta@univr.it)

*Date di pubblicazione della rivista:* 15 Marzo e 15 Settembre.

Istruzioni per gli autori: <http://www.pagepressjournals.org/index.php/microscopie/about/submissions>



Scientific / Metrology Instruments  
Multi-purpose Electron Microscope

# CRYO ARM<sup>TM</sup>

Ultimate instrument  
for Protein/Virus  
structure study



Cold FEG  
Omega energy filter  
Phase plate  
Single Particle Analysis

[www.jeol.com](http://www.jeol.com)