

Da Hartmut Dietle, IL MICROSCOPIO NELLA SCUOLA, Ed La Scuola, Brescia

PREPARATO MICROSCOPICO: UNA PELLICINA DI CIPOLLA

1. COME SI FA IL PREPARATO

Occorrente:

una cipolla, coltello, cassetta per microscopia, lente, microscopio.

Ricaviamo un preparato microscopico da una pellicina di cipolla. Con un coltello si taglia una cipolla in quattro parti. La cipolla risulta costituita da tante squame: per l'esame microscopico ci serve una di queste squame o più precisamente solo la pellicina di una di queste squame. È importante staccare la pellicina nel punto giusto.

La faccia convessa e arcuata della squama di cipolla è molto brillante e percorsa da tante righe verdi: qui non si possono togliere pellicine, questa faccia non va bene per l'esame microscopico. Invece la faccia concava e scavata delle squame di cipolla è coperta da una pellicina sottile e facilmente separabile, che in parte si distacca dalla squama e si arrotola su se stessa. Da questa pellicina si ritaglia con la lametta un quadrato di circa mm 7X7, scegliendo preferibilmente un punto piuttosto piatto della squama, in modo che poi la pellicina asportata non si inarchi troppo.

Successivamente si deve preparare un vetrino portaoggetti per deporvi la pellicina di cipolla. Con la pipetta si depone una goccia d'acqua al centro del vetrino: questa goccia d'acqua dovrebbe avere all'incirca le stesse dimensioni dell'oggetto da esaminare, nel nostro caso dunque un diametro di 7 mm. Poi si asporta dalla squama la pellicina già ritagliata in precedenza. Con la pinzetta si afferra un angolino del quadrato e si tira via la pellicina dalla squama di cipolla esattamente allo stesso modo in cui si stacca un cerotto dalla pelle. La pellicina va deposta subito sulla goccia d'acqua del vetrino portaoggetti senza bagnarne la superficie trasparente.

Successivamente si sovrappone il vetrino coprioggetti: prima lo si posa sul vetrino portaoggetti con un angolo di 30°, passando poi a coprire lentamente la pellicina di cipolla e la goccia d'acqua. Fatto questo il preparato microscopico è pronto. Ora si vede se la goccia d'acqua aveva le dimensioni volute: se era troppo grande il vetrino coprioggetti galleggia sull'acqua, e allora con una striscia di carta da filtro si assorbe l'acqua in eccesso e il vetrino rimane fissato. Se non si riesce nell'intento, bisogna fare un altro preparato.

Quando la goccia è troppo piccola, lo spazio sotto il vetrino coprioggetti si riempie di acqua incompletamente e si formano bolle d'aria, le quali disturbano specialmente quando compaiono in corrispondenza del preparato. Anche qui si può rimediare deponendo con una pipetta molto sottile una gocciolina d'acqua lungo il bordo del vetrino coprioggetti. Di là per effetto capillare il liquido scorre sotto il vetrino coprioggetti e scaccia le bolle d'aria. Ovviamente non deve mai cadere acqua sopra il vetrino coprioggetti, perché altrimenti il preparato non sarebbe più valido.

2. LA PELLICINA DI CIPOLLA SOTTO LALENTE

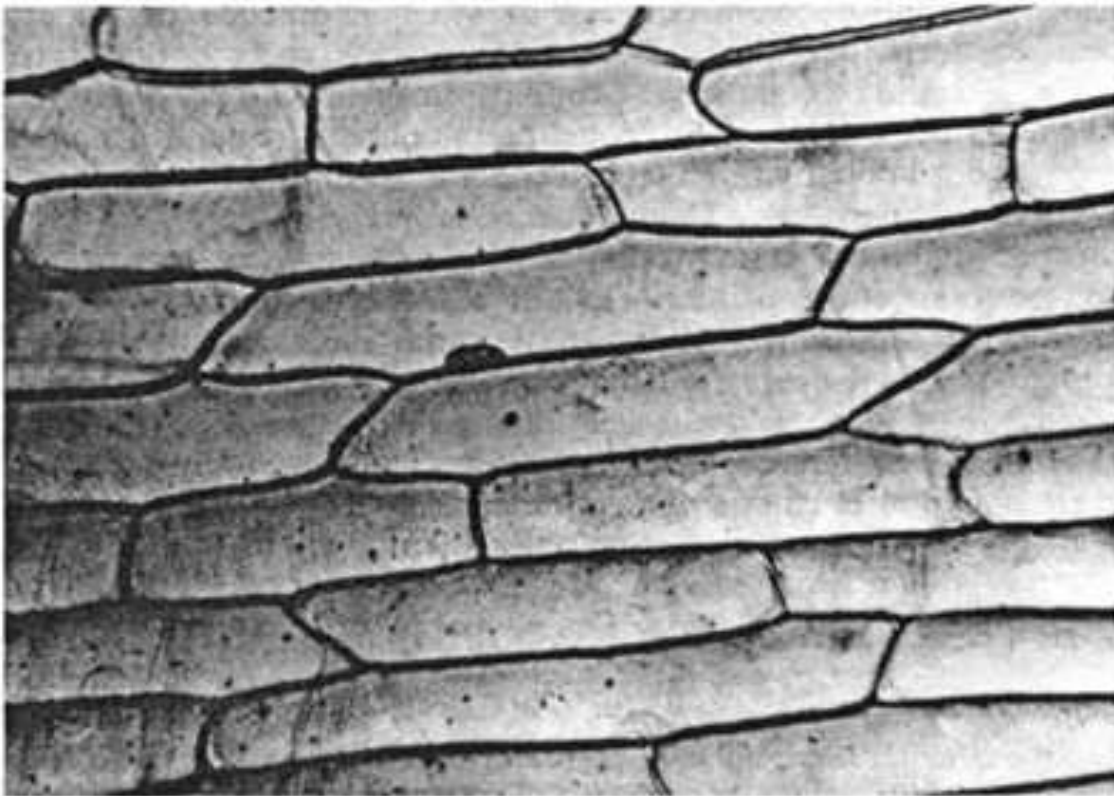
Prima esaminiamo il preparato con la lente. Anche se abbiamo lavorato con la massima accuratezza, alla pellicina di cipolla rimarranno attaccate alcune bollicine d'aria e inoltre si vedrà qualche macchiolina scura. Però troveremo sicuramente anche un punto del preparato limpido e trasparente. Qui sotto la lente riconosceremo strutture fini e delicate, la cui disposizione sarà bene fissare in uno schizzo. Cosa rappresentano quelle strutture? Potremo rispondere solo dopo l'esame microscopico. Quindi eccovi anzitutto una breve ma indispensabile introduzione alla tecnica della microscopia.

3. INSERIMENTO DEL PREPARATO MICROSCOPICO

Si accende innanzitutto la lampada dell'apparecchio, si regola il condensatore nella posizione più alta e si chiude il diaframma del condensatore circa a metà. Poi si inserisce sulla direttrice dei raggi luminosi l'obiettivo più debole e con l'ausilio dei morsetti si fissa il preparato di pellicina di cipolla sul tavolino portaoggetti. L'oggetto da esaminare — qui la pellicina di cipolla — deve stare esattamente sopra la macchia di luce visibile nella lente frontale del condensatore. Ora, girando la vite macrometrica, si abbassa il tubo, osservandolo lateralmente, finché la distanza tra la lente frontale dell'obiettivo e il vetrino portaoggetti si riduce a 5 mm. Solo adesso si guarda nel microscopio e si rialza il tubo azionando la vite macrometrica in senso inverso. A un tratto nel campo visivo emergono le strutture del preparato microscopico, che poi si potranno mettere più a fuoco agendo sulle vite micrometrica.

L'immagine microscopica mostra tante camerette disposte una accanto all'altra come mattoni, e compaiono ingrandite pure le bolle d'aria e le macchie scure che già si vedevano con la lente. Spostando di pochissimo il vetrino portaoggetti sul tavolino del microscopio si individuano molto bene i punti del preparato che presentano contorni chiari e netti, poiché il nostro occhio riesce a riconoscere le strutture in movimento meglio di quelle ferme. Ora si pone al centro del campo visivo un punto favorevole della pellicina di cipolla e si inserisce sulla direttrice dei raggi luminosi l'obiettivo successivo in ordine di potenza (di solito 10 ingrandimenti). Si apre un pochino il diaframma del condensatore e girando la vite micrometrica si mette a fuoco il preparato. Se avremo lavorato bene, la nostra immagine microscopica dovrà essere uguale a quella della fig. 9.

Fig.9



Ci interessa sapere cosa rappresentano quelle camerette allungate e in parte anche esagonali: sono le cellule che costituiscono la pellicina di cipolla, di cui si riconoscono chiaramente solo le pareti. Per i raggi luminosi le strutture del contenuto cellulare possiedono quasi lo stesso indice di rifrazione dell'acqua in cui si esaminano le cellule e perciò il contenuto cellulare ci appare privo di contrasto. Chiudere il diaframma del condensatore serve poco, perché allora le cellule assumono un aspetto grinzoso e insignificante (provare). Aumentando gli ingrandimenti, con l'inserimento dell'obiettivo più forte, si possono vedere le pareti cellulari molto più grandi, però della pellicina di cipolla se ne coglie solo un pezzettino tanto piccolo che nel campo visivo non compare per intero neanche un'unica cellula. Perciò per ora accontentiamoci dell'ingrandimento complessivo di 100 X e facciamo un bilancio della nostra esperienza al microscopio. Guardare al microscopio significa sempre cercare un punto ottimale del preparato. Spostando cautamente il vetrino portaoggetti sul tavolino si può individuare meglio dove trovare un punto del genere, da porre al centro del campo visivo. Dopo avere inserito l'obiettivo seguente in ordine di potenza, già si rende visibile l'immagine «approssimativa», poiché i singoli obiettivi del revolver sono appositamente correlati fra loro. Poi si mette a fuoco l'immagine, aprendo ulteriormente il diaframma del condensatore e azionando la vite micrometrica. In base all'oggetto si deciderà con quale obiettivo lavorare. Quindi non si tratta di ottenere il massimo ingrandimento complessivo possibile, ma di lavorare con una combinazione obiettivo-oculare adatta all'oggetto in esame.

LA CELLULA VEGETALE

1. COLORAZIONE DELLA PELLICINA DI CIPOLLA

Occorrente:

microscopio, cassetta per microscopia, cipolla, boccetta per colorazione, blu di metilene, rosso neutro, notes e materiale da disegno.

Facciamo un altro preparato di pellicina di cipolla, ma questa volta prima di sovrapporre il vetrino coprioggetti, aggiungiamo sul vetrino portaoggetti una goccia di soluzione 0,1% di blu di metilene. Il blu di metilene è una sostanza che colora determinate parti della cellula. Ora l'esame microscopico dimostra che le cellule non sono vuote, ma contengono un nucleo (fig. 13). Nella tecnica microscopica si sfrutta la proprietà di singole parti della cellula di trattenere con maggiore intensità determinate sostanze coloranti: per esempio il blu di metilene è notoriamente una sostanza colorante del nucleo.

Solitamente il nucleo si trova ben visibile al centro della cellula, ma talvolta appare anche spostato presso la parete cellulare, però in questo caso non è rotondo, bensì ha forma allungata fino ad assumere un aspetto lenticolare. Perché? Perché il nucleo è un corpo che visto dall'alto appare circolare e visto di lato appare allungato, Com'è collocato il nucleo dentro la cellula?

Nel preparato microscopico il nucleo sta in uno spazio che — a parte alcune particelle — sembra vuoto. Però con certe tecniche di colorazione si può rendere visibile il mezzo in cui esso è collocato, basta colorare la pellicina di cipolla per 5-10 minuti in una boccetta di colorazione con una soluzione molto diluita di rosso neutro (1 : 1000), poi estrarla con una pinzetta e lavarla in acqua di rubinetto. Al microscopio si vede che nelle singole cellule l'intero contenuto si è colorato in rosso (fig. 14). In realtà si è colorato solo il succo cellulare che riempie uno spazio detto vacuolo. Con questo metodo di colorazione le componenti vive della cellula, citoplasma e nucleo, non appaiono.

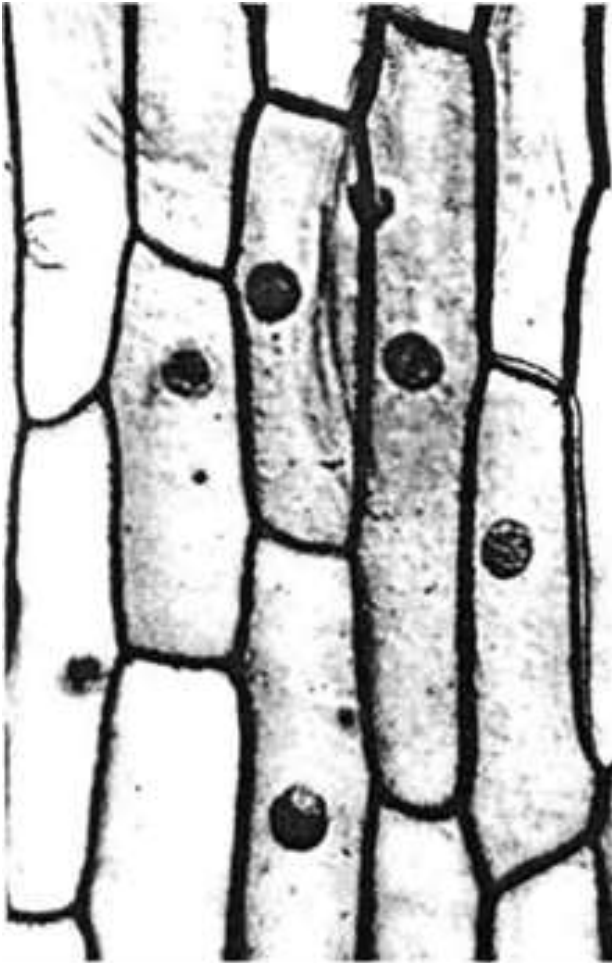


Fig. 13. Cellule di cipolla, colorazione del nucleo con blu di metilene.

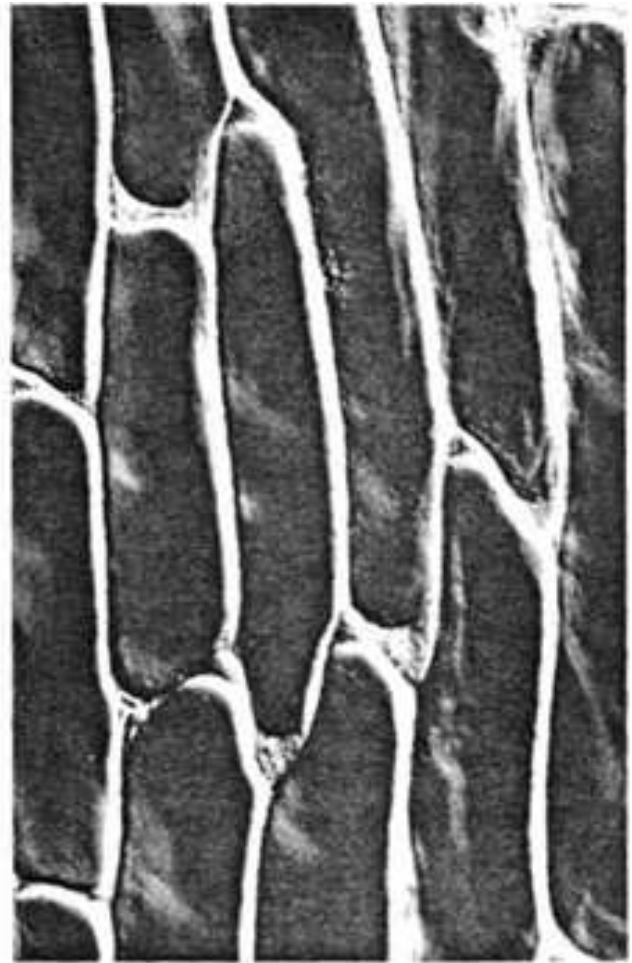


Fig. 14. Cellula di cipolla, colorazione del succo cellulare col rosso neutro.

Le cellule della pellicina di cipolla hanno un grande vacuolo, che occupa quasi tutto il loro volume, e il succo cellulare è una soluzione acquosa di sostanze inorganiche e organiche. Le piante con foglie, fiori o frutti rossobluastri contengono nel succo cellulare il colorante antocianina e pertanto in questi casi il succo lo si può osservare direttamente, senza doverlo colorare in precedenza. Per ora lasciamo da parte il quesito di come il succo cellulare perviene nella cellula e quello della sua funzione.

2. TORNIAMO ALLA PELLICINA DI CIPOLLA NON COLORATA

Perché ci occupiamo ancora della pellicina di cipolla non colorata? Per un motivo molto semplice e cioè perché ora sappiamo dove cercare le singole componenti della cellula e abbiamo l'occhio più addestrato in materia. Adesso vedremo sicuramente di più che al primo esame microscopico.

La nostra attenzione va anzitutto alla parete cellulare, che si può studiare minuziosamente ad un ingrandimento di 400-500 X (volte), azionando in continuazione la vite micrometrica. Vediamo che la parete cellulare non è costituita da una struttura unitaria, perché al centro della parete c'è una sottile lamella ininterrotta, detta lamella mediana, sulla quale è deposta la parete cellulare, di natura cellulosica. A determinati intervalli la parete cellulare è interrotta da sottili intagli chiamati punteggiature, che costituiscono tanti collegamenti con la cellula vicina.

Ora, sapendo dove cercare il nucleo, lo troviamo anche nel preparato non colorato. Esaminiamo il nucleo a forte ingrandimento. Se ne riconosce la membrana, che lo delimita dal succo cellulare come un involucro (fig. 15), e due piccoli corpuscoli rotondi che risaltano nettamente dal resto del contenuto. Per ora, anche con uno studio più attento, nel nucleo non si individuano altri particolari, e così nel complesso l'esame microscopico del nucleo risulta piuttosto deludente. Di questa formazione, che pure svolge un ruolo importante nel metabolismo, si vede molto poco. Invece con un'osservazione minuziosa si può scoprire lungo le pareti cellulari un orlo sottile « granuloso ». È il citoplasma, disposto marginalmente come un tenue manicotto. Lo strato citoplasmatico si riconosce meglio negli angoli delle cellule che lungo le pareti parallele. Ora riassumiamo le nostre osservazioni in un disegno.

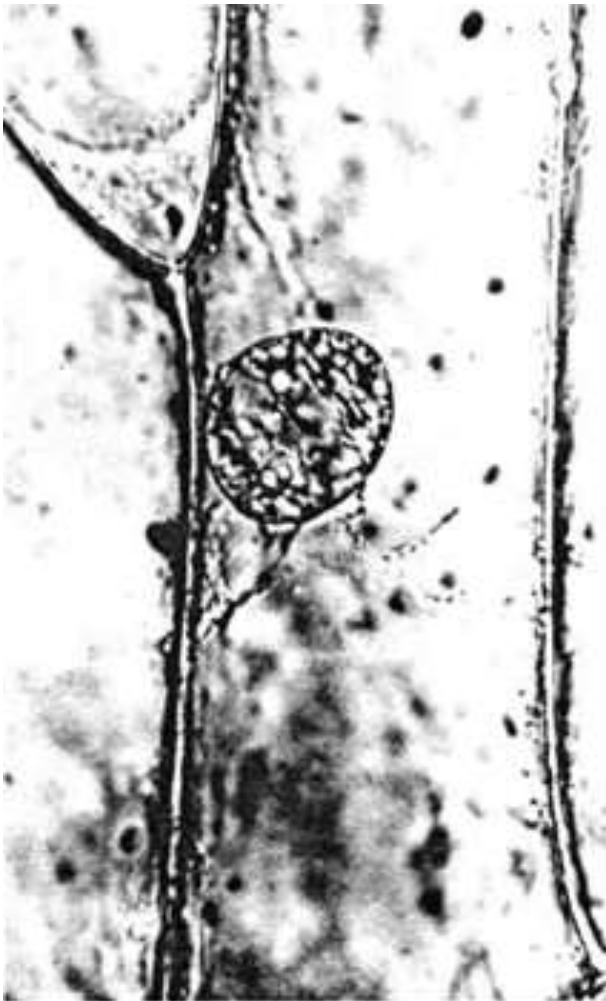


Fig. 15 – Nucleo di una cellula di cipolla ingrandita 500 volte. Si riconoscono la membrana e i due corpuscoli nucleari.

3 . IL DISEGNO AL MICROSCOPIO

Nel libro « Microscopia per tutti » STEHLI scrive: « **Solo ciò che si è disegnato lo si è visto veramente** ». Quindi la pratica di disegnare gli oggetti osservati al microscopio è molto raccomandabile, naturalmente a patto che ve ne sia il tempo. Perciò non potremo disegnare tutti gli oggetti che esamineremo al microscopio, in quanto il disegno al microscopio esige, oltre a completezza e precisione, anche pazienza ed esercizio. Si disegna con matita su carta da disegno a grana fine. Per le correzioni occorre una gomma da cancellare che non unga. Chi al microscopio tiene aperti entrambi gli occhi, nel disegno al microscopio non incontra difficoltà. Il disegno al microscopio deve dare una riproduzione corretta dell'oggetto microscopico. Nella maggior parte dei casi non è necessario disegnare l'intero oggetto, di solito basta un settore: nel nostro caso una cellula con le pareti cellulari confinanti. La scelta di questo settore è determinante: deve essere un punto favorevole e rappresentativo del preparato, che va riprodotto ingrandito, in modo da renderlo più chiaro e potervi inserire anche più particolari. Inoltre è più facile fare disegni grandi che piccoli. Nel disegno si deve poter riconoscere l'identità con l'oggetto microscopico, tanto che sulla base del disegno dell'allievo il maestro deve poter riconoscere quale punto del preparato è stato disegnato: pertanto, mentre si disegna, non si deve mai spostare il preparato inserito nel microscopio. All'esame approfondito del preparato con la vite micrometrica si procede solo quando il piano messo a fuoco in un primo tempo è stato fissato definitivamente nel disegno. Ora si mette a fuoco un altro piano del preparato e si introducono nel disegno le strutture che si sono rese visibili. Alla fine il disegno (fig. 16) conterrà tutte le componenti cellulari che si possono riconoscere all'esame approfondito del preparato, raffigurate su uno stesso piano.

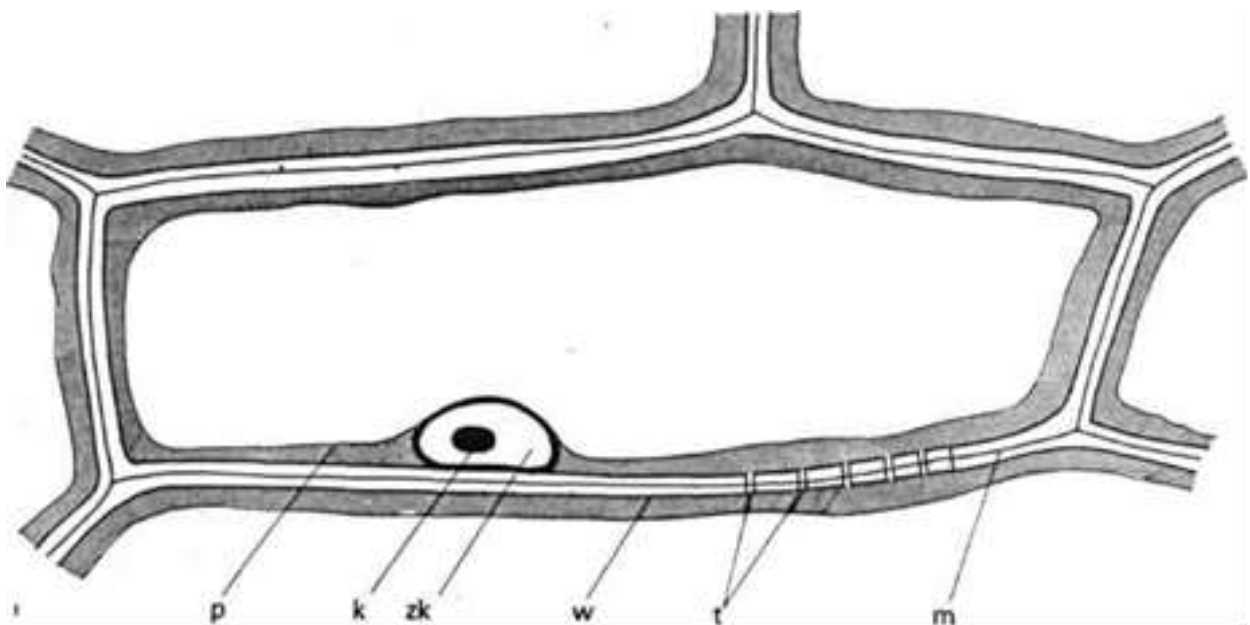


Fig. 16. Disegno di una cellula di pellicina di cipolla: p citoplasma, k corpuscoli nucleari, zk nucleo, w parete cellulare, t puntino, m lamella mediana.

4. ESAMINIAMO AL MICROSCOPIO UNA FOGLIOLINA DI MUSCHIO

Si presta bene allo scopo il muschio stellato, che si trova spesso nei posti umidi e ombrosi, come p. es. le fessure dei muri.

Con la pinzetta si staccano dalla punta del fusticino del muschio una o due giovani foglioline, si trasferiscono nell'acqua posta su un vetrino portaoggetti e si sovrappone il vetrino coprioggetti. Per farci un'idea complessiva della struttura di una fogliolina, osserviamola dapprima a debole ingrandimento. L'immagine appare chiara e bene ordinata, perché la fogliolina, a parte le regioni centrale e marginale, è costituita da componenti uguali e regolari: le cellule. Ora passiamo a un ingrandimento più forte, limitandoci a osservare poche cellule (fig. 17)

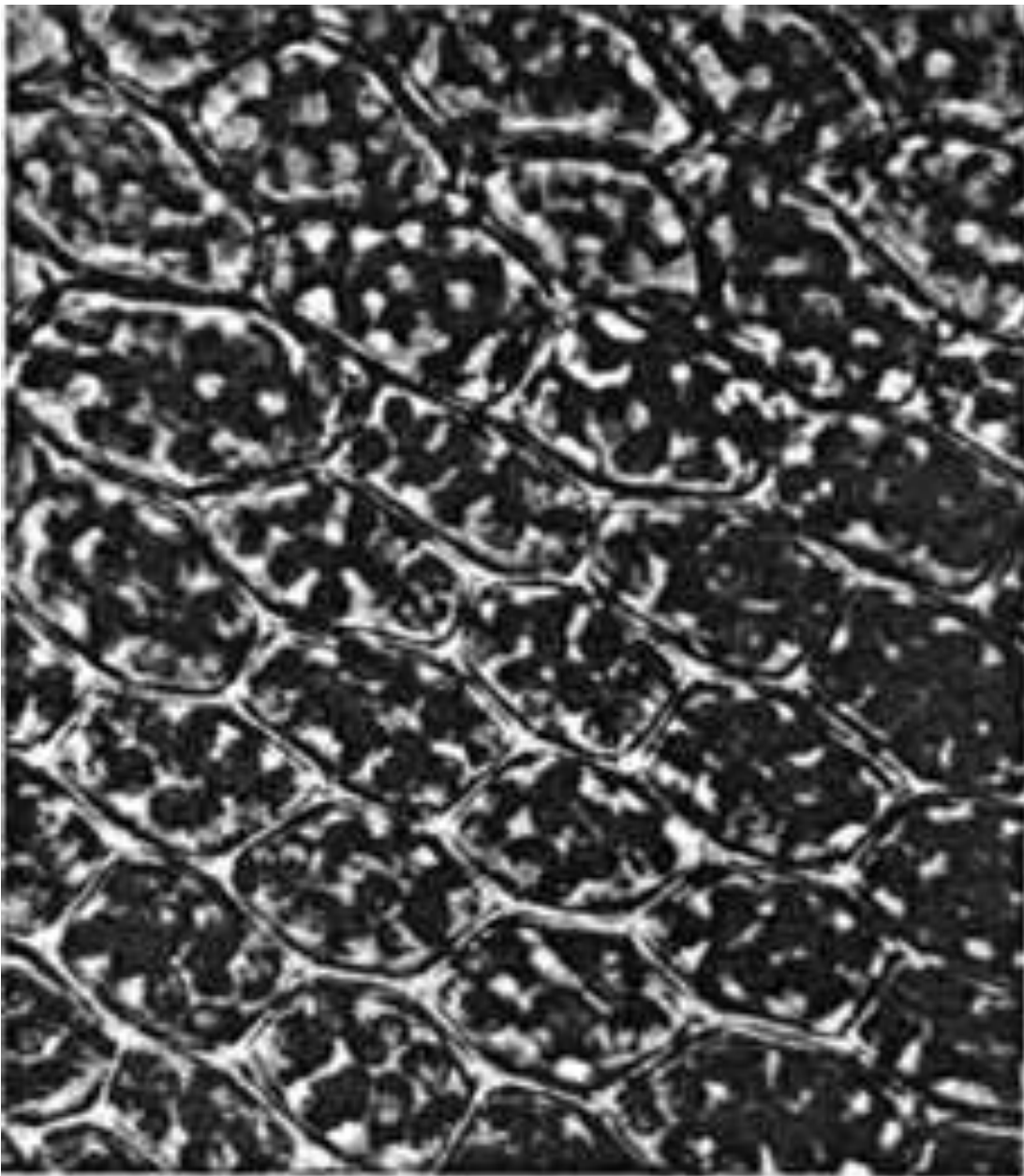


Fig. 17. Le cellule di una fogliolina di muschio contengono molti cloroplasti.

Anzitutto all'interno della cellula ci colpiscono numerose formazioni verdi: i cloroplasti. Ogni cellula è circondata dalla parete cellulare. Ora, azionando la vite micrometrica, cerchiamo di trovare nella parete cellulare la lamella mediana. Nel campo visivo non si

riesce ad avere a fuoco contemporaneamente tutte le cellule della fogliolina di muschio comprese nell'immagine: se si mette a fuoco il centro, appaiono sfuocate le cellule marginali, viceversa, con i margini a fuoco, appare sfuocato il centro. Dato che tende a inarcarsi e arrotolarsi fortemente, la fogliolina di muschio non giace piatta e piana sul vetrino portaoggetti neanche con sopra il vetrino coprioggetti. Al microscopio la discontinuità della messa a fuoco fra centro e bordi del campo visivo disturba poco, perché alla regolazione della nitidezza si procede comunque in continuazione con la vite micrometrica. Questo non si può fare con la microfotografia, come mostra la fig. 17, dove è stato messo a fuoco il centro, mentre in corrispondenza dei bordi dell'immagine ci sono cellule sfuocate.