

Laboratorio didattico n.1

Il Microscopio Ottico
La Cellula Vegetale



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Corso di Botanica Morfo-funzionale
A.A. 2020-2021

Prof. Maria Maddalena Altamura

- IL MICROSCOPIO OTTICO
- LA CELLULA VEGETALE:

Parete cellulare:

- parete primaria
- parete secondaria

Vacuolo

Plastidi:

- cloroplasti
- amiloplasti
- cromoplasti

- Nostoc (cianobatterio)

Il Microscopio Ottico

Struttura del microscopio

- Parte meccanica : comprende lo **STATIVO** (garantisce stabilità al microscopio)

- Sistema ottico: **LENTI**

- Apparato di illuminazione:

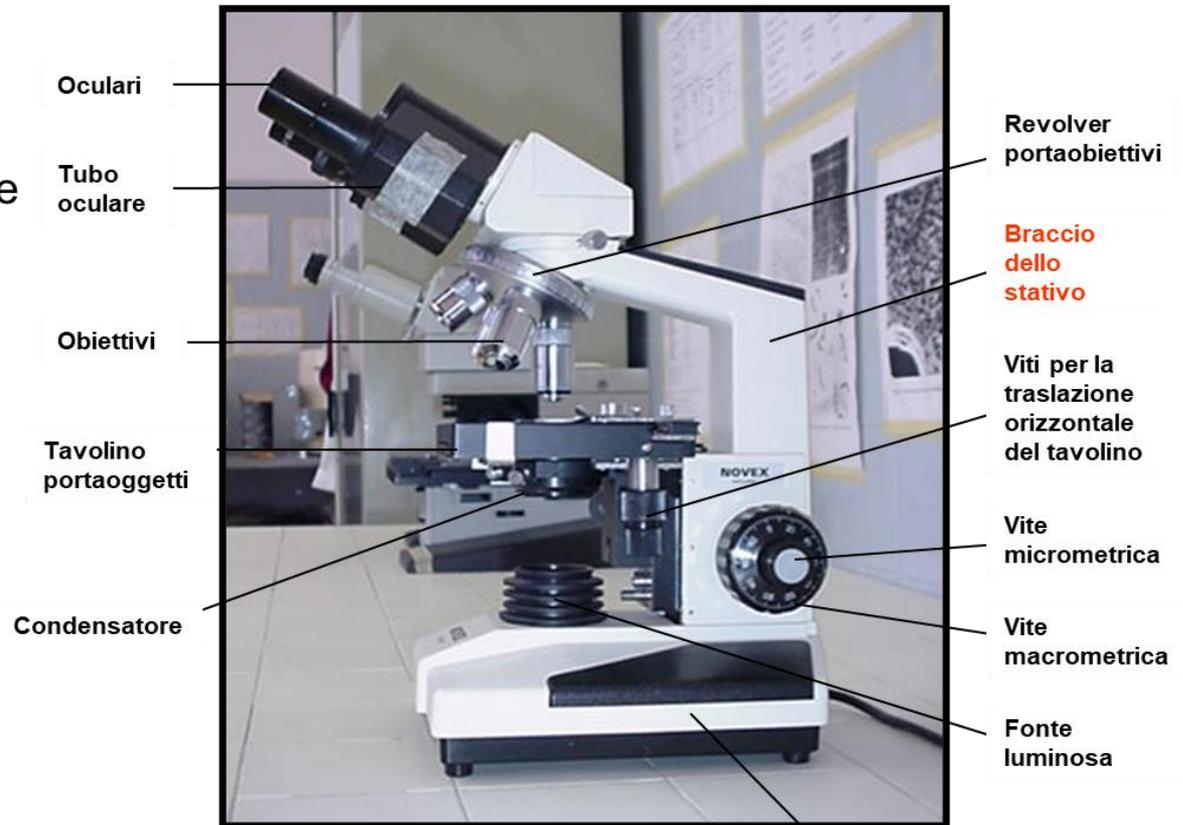
SORGENTE LUMINOSA

La luce attraversa nell'ordine

i tre sistemi di lenti:

condensatore, obiettivo, oculare.

L'**obiettivo** è la parte ottica più vicina al preparato, l'**oculare** è la parte ottica vicina all'occhio dell'osservatore



Il Microscopio Ottico

La messa a fuoco

La **VITE MACROMETRICA** si usa per spostamenti grandi, per la messa a fuoco iniziale a piccolo ingrandimento.

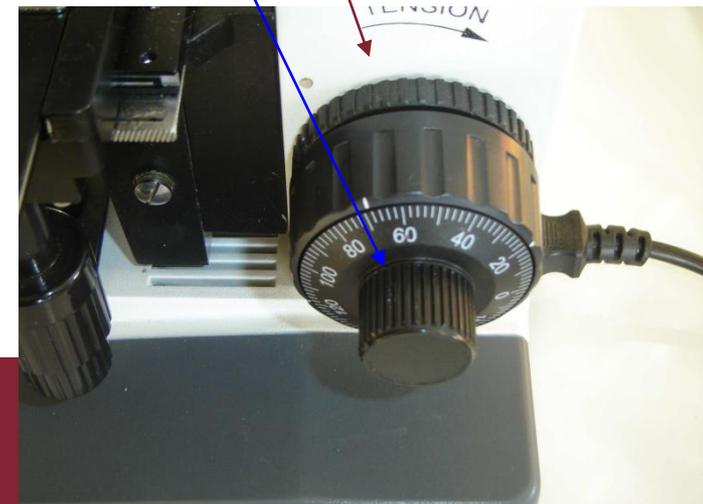
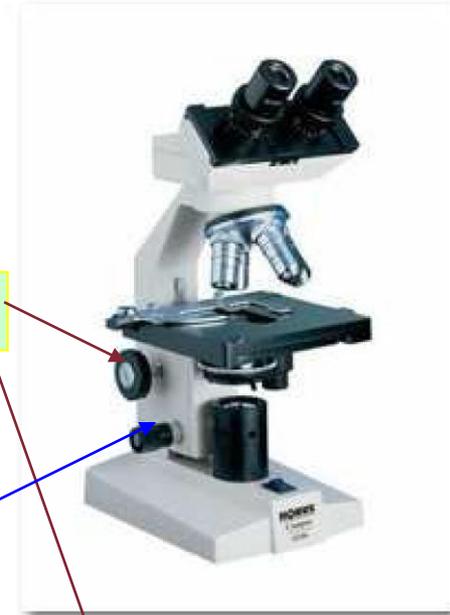
La **VITE MICROMETRICA** si usa per spostamenti impercettibili e permette di focalizzare con precisione ad alto ingrandimento.

Con l'aumentare degli ingrandimenti, si riduce la distanza tra obiettivo e vetrino con il preparato: occorre mettere a fuoco con cautela, usando solo la vite micrometrica.

Entrambe si trovano situate in posti diversi a seconda del microscopio, insieme oppure separate.

Vite macrometrica

Vite micrometrica



Il Microscopio Ottico

I numeri incisi, presenti su obiettivi ed oculari, indicano i rispettivi ingrandimenti parziali.

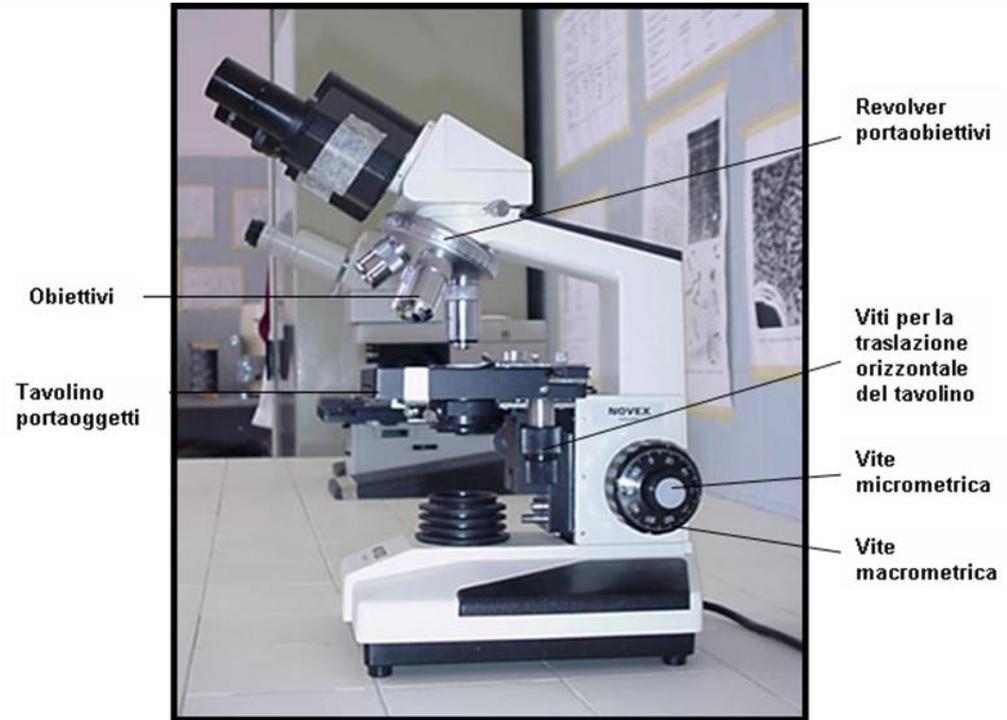
L'INGRANDIMENTO TOTALE È IL PRODOTTO DELL' INGRANDIMENTO DATO DALLE SINGOLE LENTI (dell'obiettivo e dell'oculare).

Esempio:

Se la lente dell'obiettivo ingrandisce 100 volte (lenti 100x, il massimo solitamente utilizzato) e l'oculare ingrandisce 10 volte, l'ingrandimento finale osservato dall'occhio umano sarà di 1000 volte

Raccomandazioni

1. Accendere il microscopio
2. **Ruotare il revolver portaobiettivi mettendo in posizione l'obiettivo a minore ingrandimento (il più corto-5X)**
3. Montare il vetrino con il campione da osservare sul tavolino portaoggetti
4. Traslare il vetrino con le viti per la traslazione orizzontale, fino a portare il preparato nel campo visuale
5. **Mettere a fuoco il preparato con la vite macrometrica**
6. **Aggiustare il fuoco con la vite micrometrica**
7. Mettere in posizione l'obiettivo a maggiore ingrandimento
8. Aggiustare il fuoco con la vite micrometrica
9. **Prima di rimuovere il vetrino dal tavolino portaoggetti, ruotare il revolver portaobiettivi mettendo in posizione l'obiettivo a minore ingrandimento**

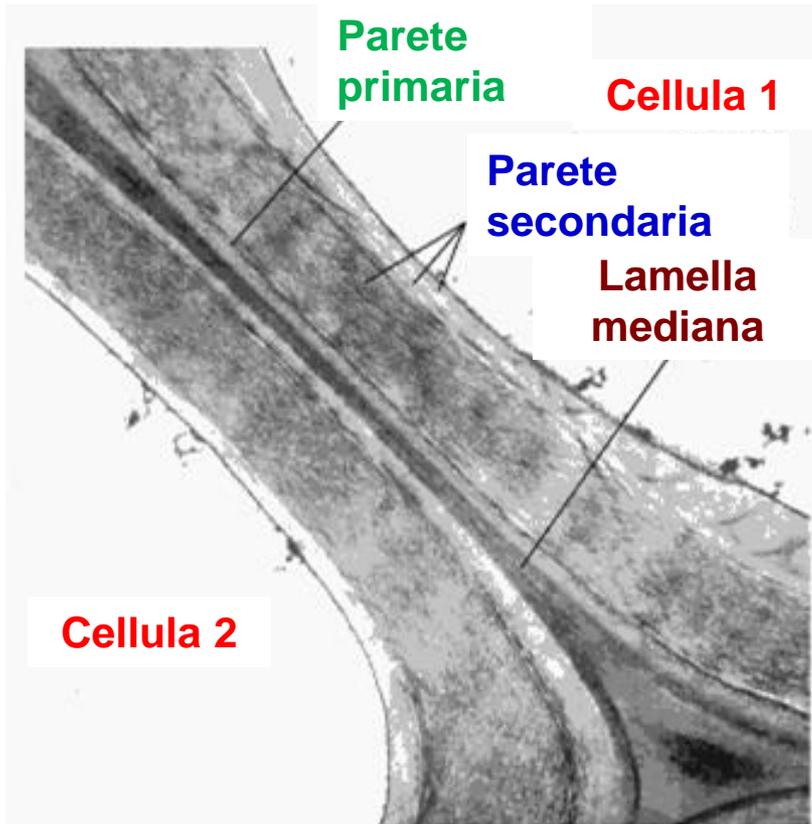


Condizione necessaria per l'osservazione al microscopio ottico è che il campione sia sottile (la luce, proveniente dal basso, lo deve attraversare).

In molti casi è utile colorare il campione.

Parete Cellulare

PARETE CELLULARE

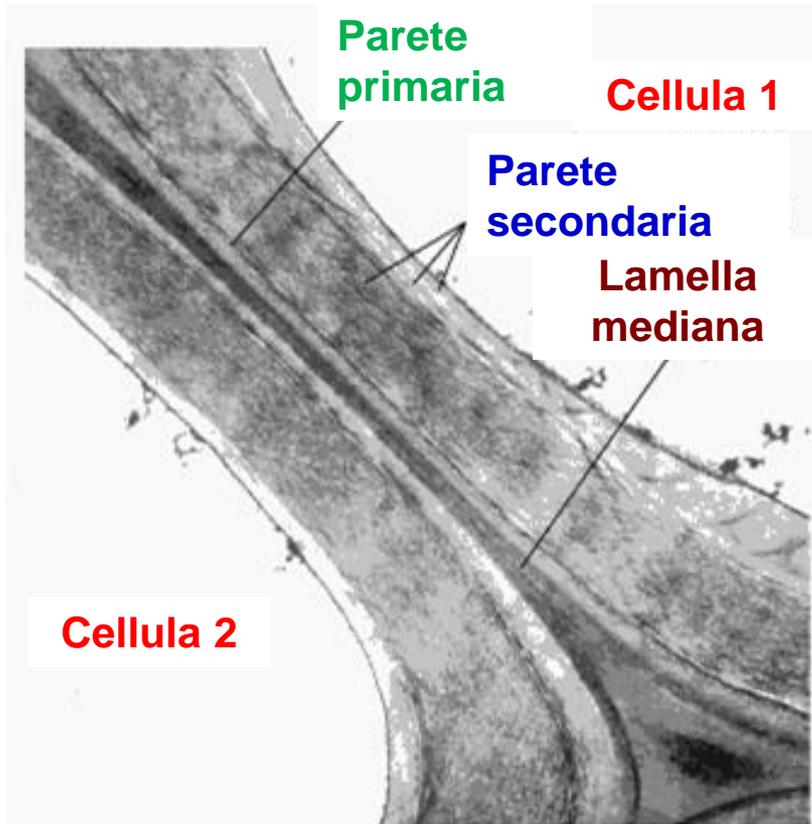


LAMELLA MEDIANA (in comune tra cellule contigue):

Sostanze pectiche

No cellulosa

PARETE CELLULARE



PARETE PRIMARIA (si forma all'interno della lamella mediana):

- FASE FIBRILLARE: **cellulosa**

- FASE MATRICIALE:

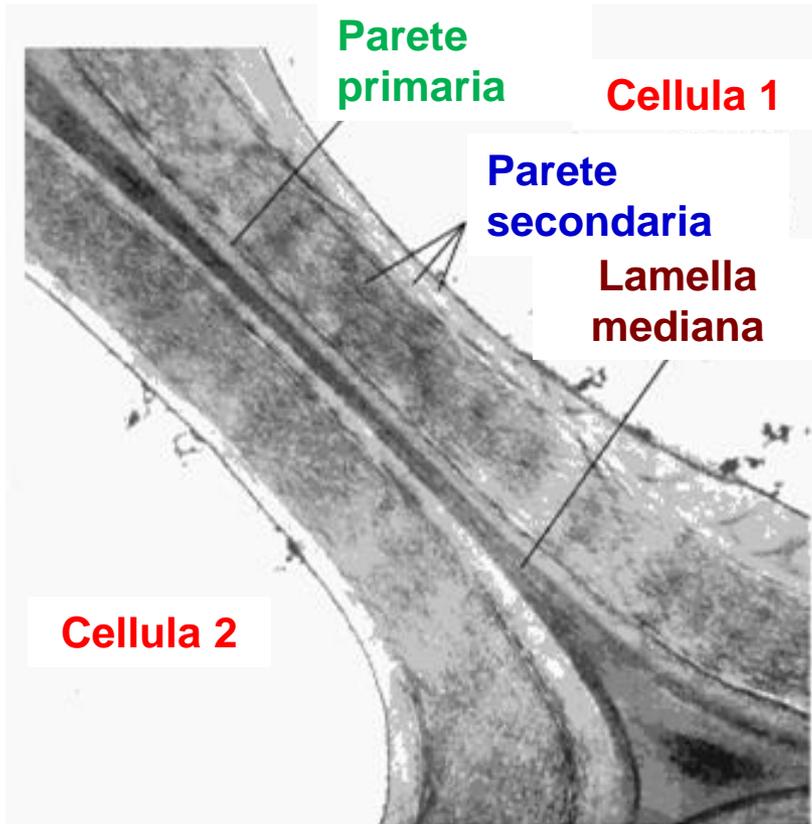
- **H₂O** (70% del peso fresco)

- **emicellulose**

- **sostanze pectiche**

- **proteine** (estensina, serina, idrossiprolina ecc)

PARETE CELLULARE



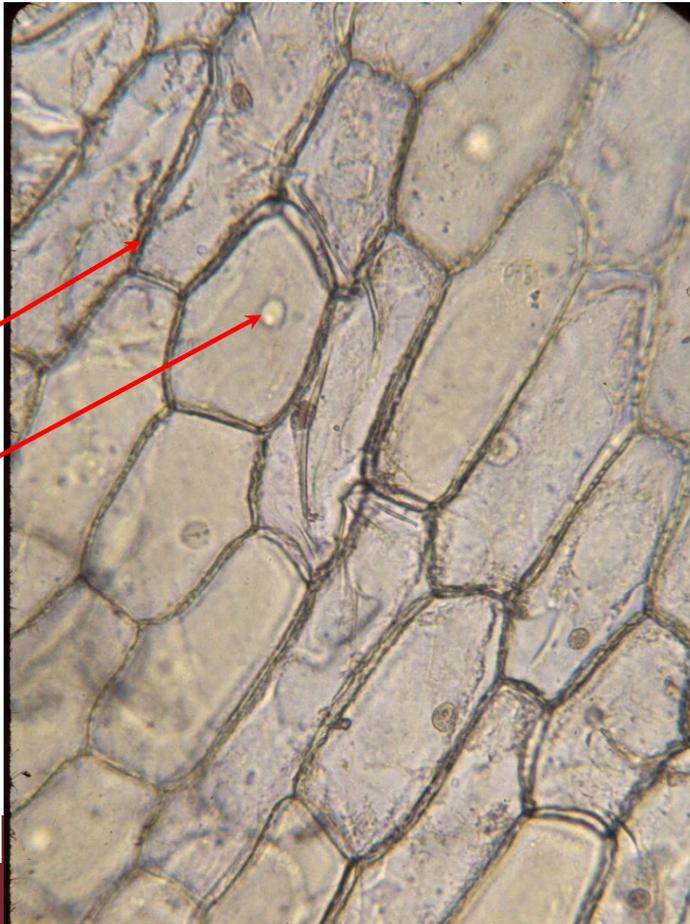
PARETE SECONDARIA (si forma all'interno della parete primaria):

- Percentuale di **fibrille di cellulosa** assai maggiore rispetto alla matrice
- Può essere formata da **più strati** (generalmente 3)
- Spesso impregnata di sostanze idrofobiche (**lignina**, **suberina**)

La sua deposizione non avviene in corrispondenza dei campi di punteggiature della parete primaria e avviene solo al termine della distensione

Cellule epidermiche di catafilli interni del bulbo di cipolla

(*Allium cepa*)



Parete
primaria
nucleo

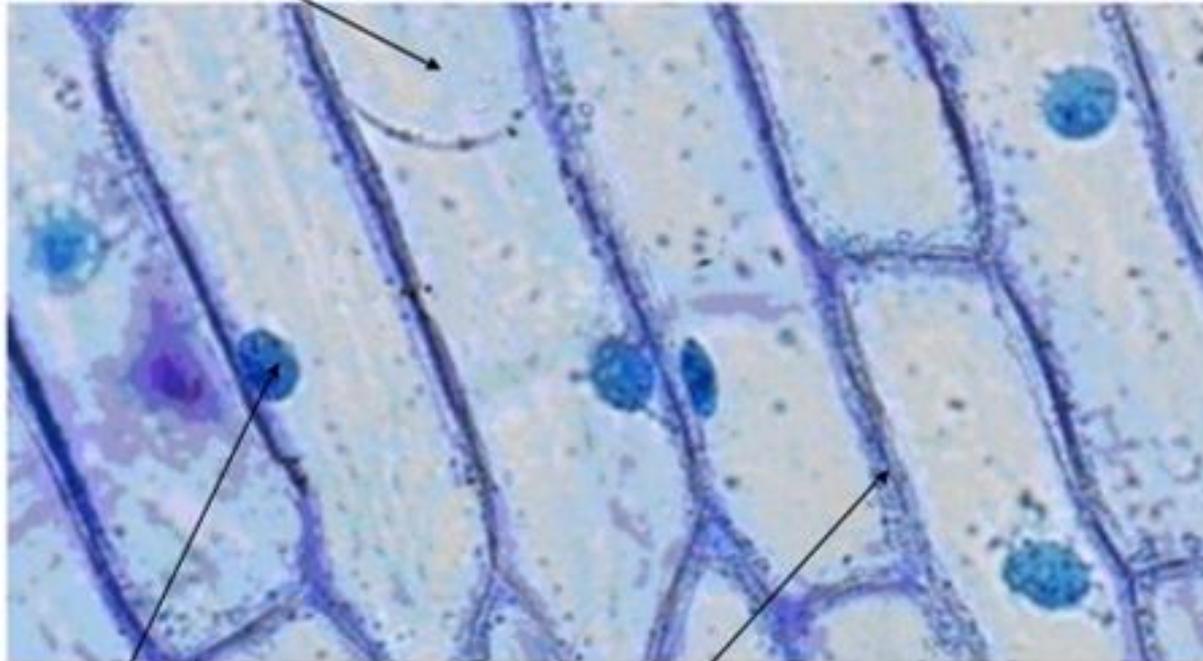
Ottenere una spellatura di catafillo e montarla sul vetrino portaoggetto con una goccia di acqua distillata. Coprire con vetrino coprioggetto. Osservare al microscopio ottico (40X)

La Cellula Vegetale

Colorando per pochi secondi la spellatura di cipolla con Blu di toluidina si osserva:

Cellule di cipolla

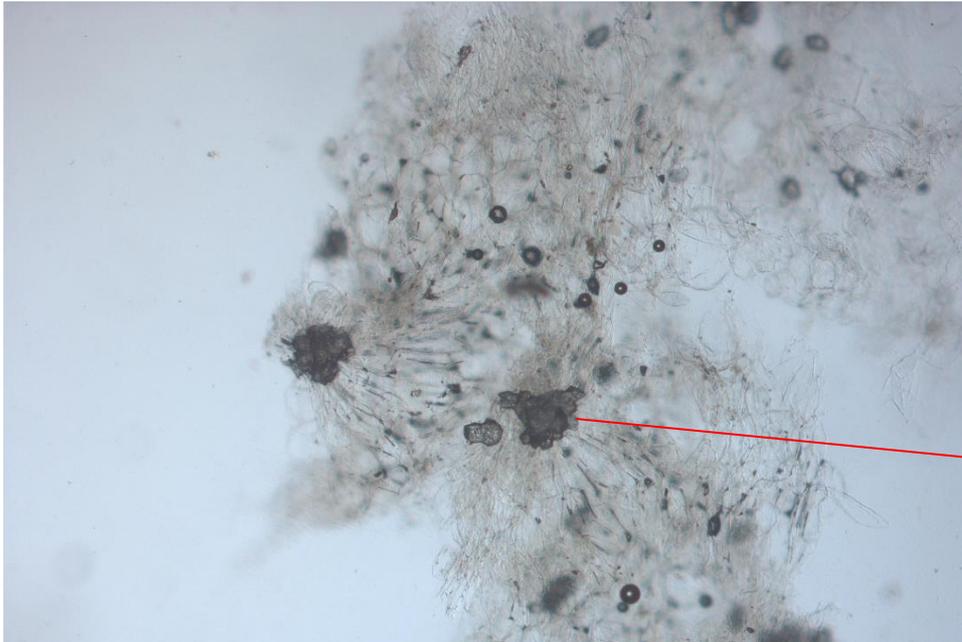
Vacuolo



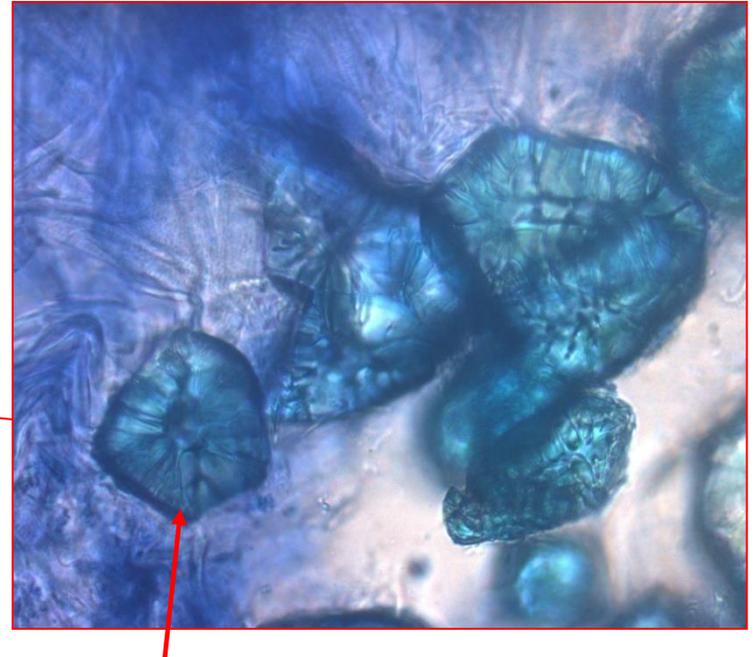
Nucleo

Parete cellulare

SCLEREIDI (cellule pietrose) DI PERA (*Pyrus communis*) COLORATE CON BLU DI TOLUIDINA



- Raschiare con la lametta una piccola quantità di polpa e metterla nella vaschetta
- Aggiungere poche gocce di blu di toluidina tanto da coprire completamente il preparato
- Attendere 40 secondi e montare il preparato su vetrino con una goccia di acqua distillata
- Chiudere il preparato con vetrino coprioggetto, picchiettare leggermente sul coprioggetto ed osservare

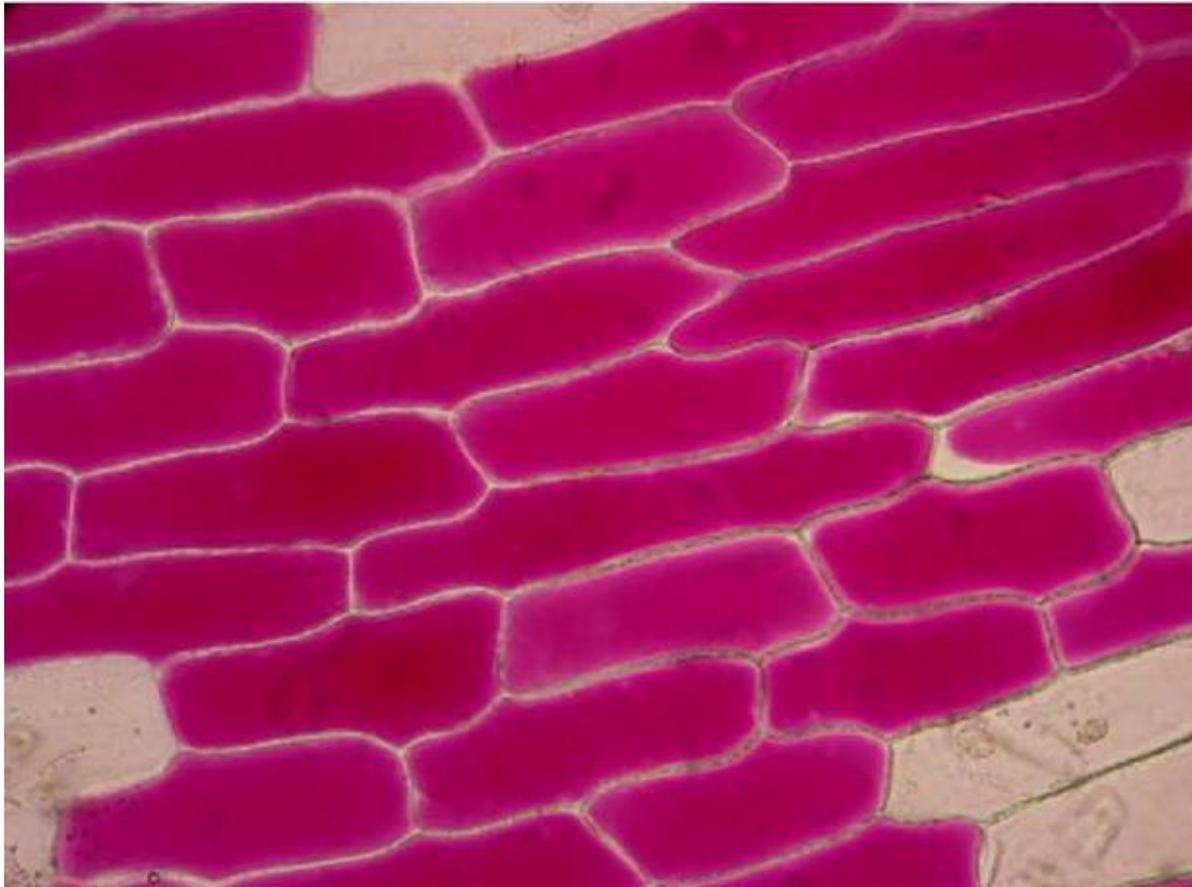


**Pareti secondarie molto spesse,
attraversate da punteggiature semplici.
Lume cellulare molto ridotto**

**Il Blu di Toluidina colora le pareti
lignificate in azzurro-verde**

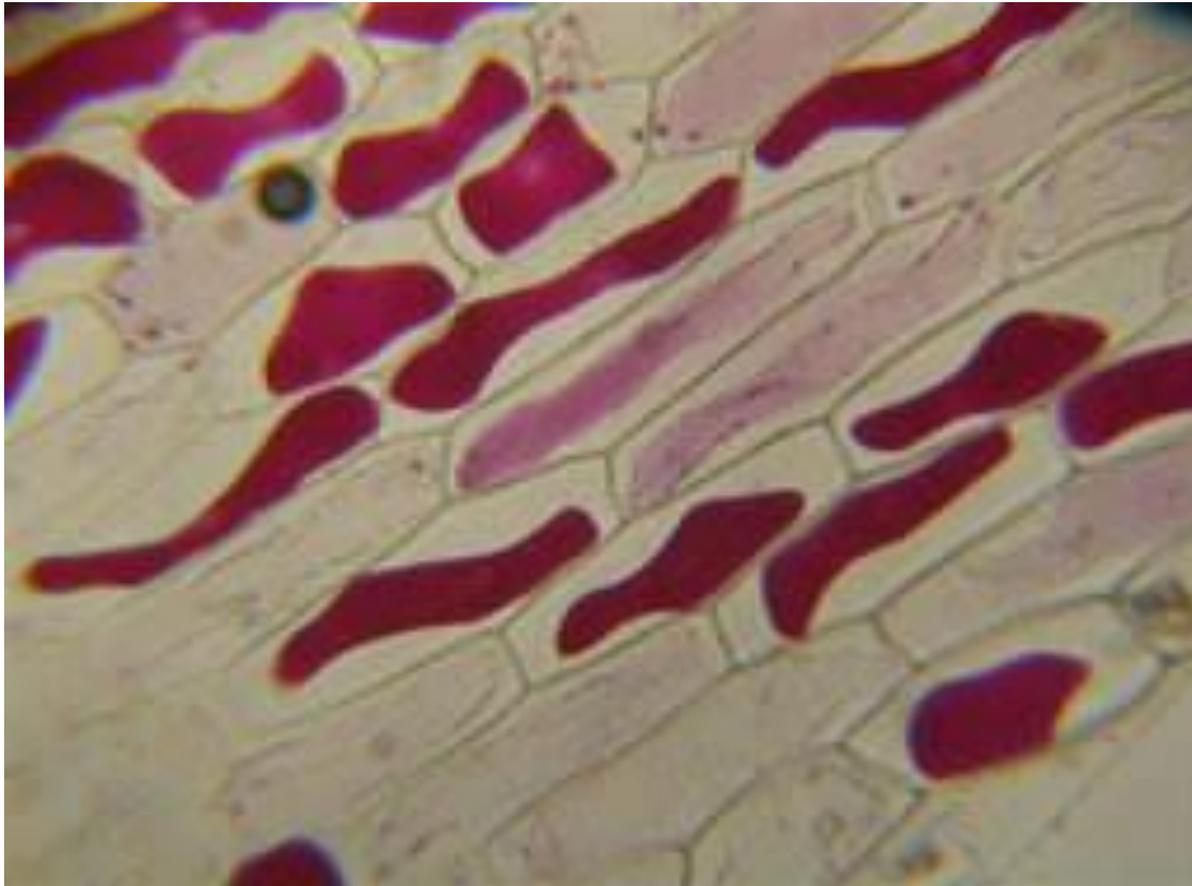
Vacuolo

VACUOLO IN CELLULE EPIDERMICHE DI CIPOLLA ROSSA

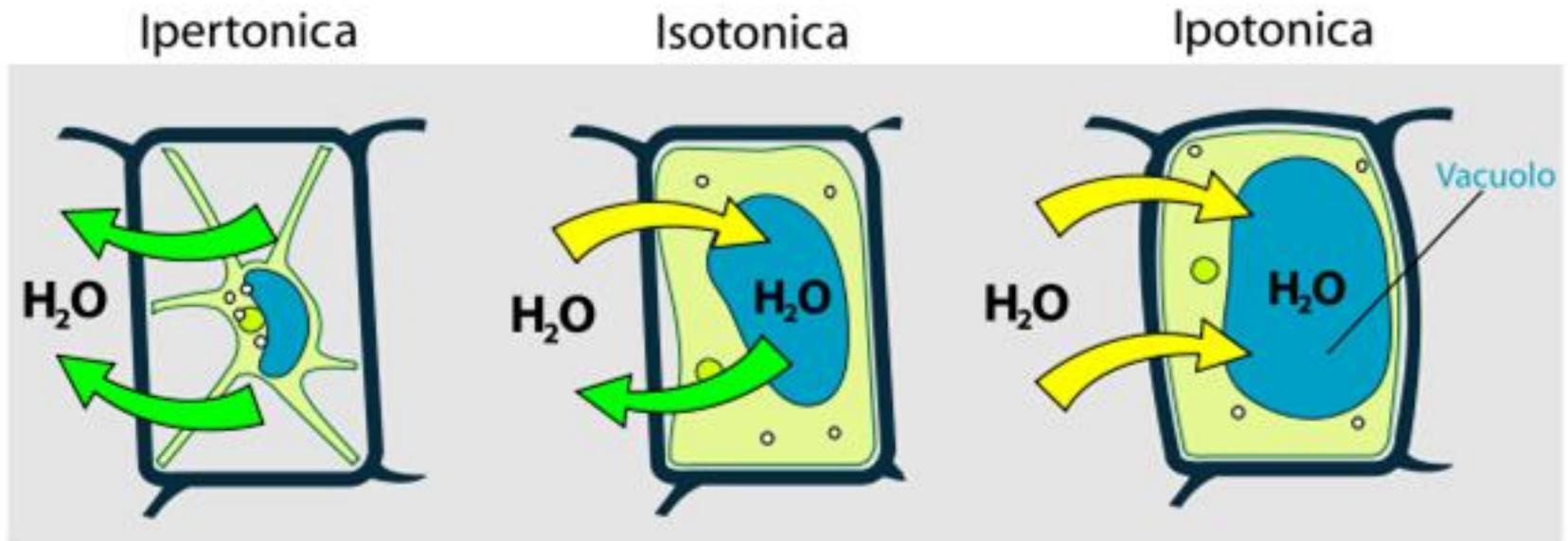


II Vacuolo

Plasmolisi in cellule epidermiche di cipolla rossa



LA RISPOSTA DELLA CELLULA VEGETALE ALLE VARIAZIONI DI CONCENTRAZIONE DELL'AMBIENTE ESTERNO



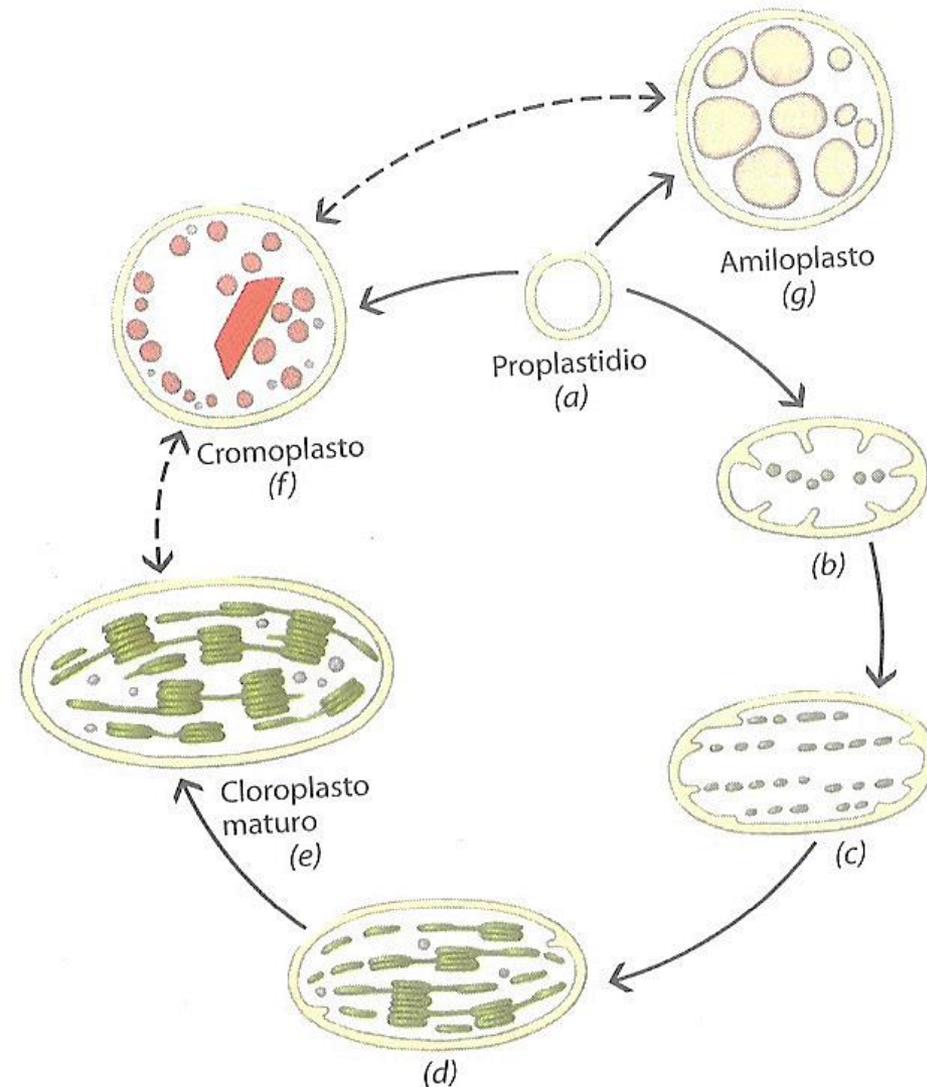
Plastidi

Organuli della cellula vegetale
specializzati per struttura e funzione

I Plastidi

Ciclo di sviluppo dei plastidi

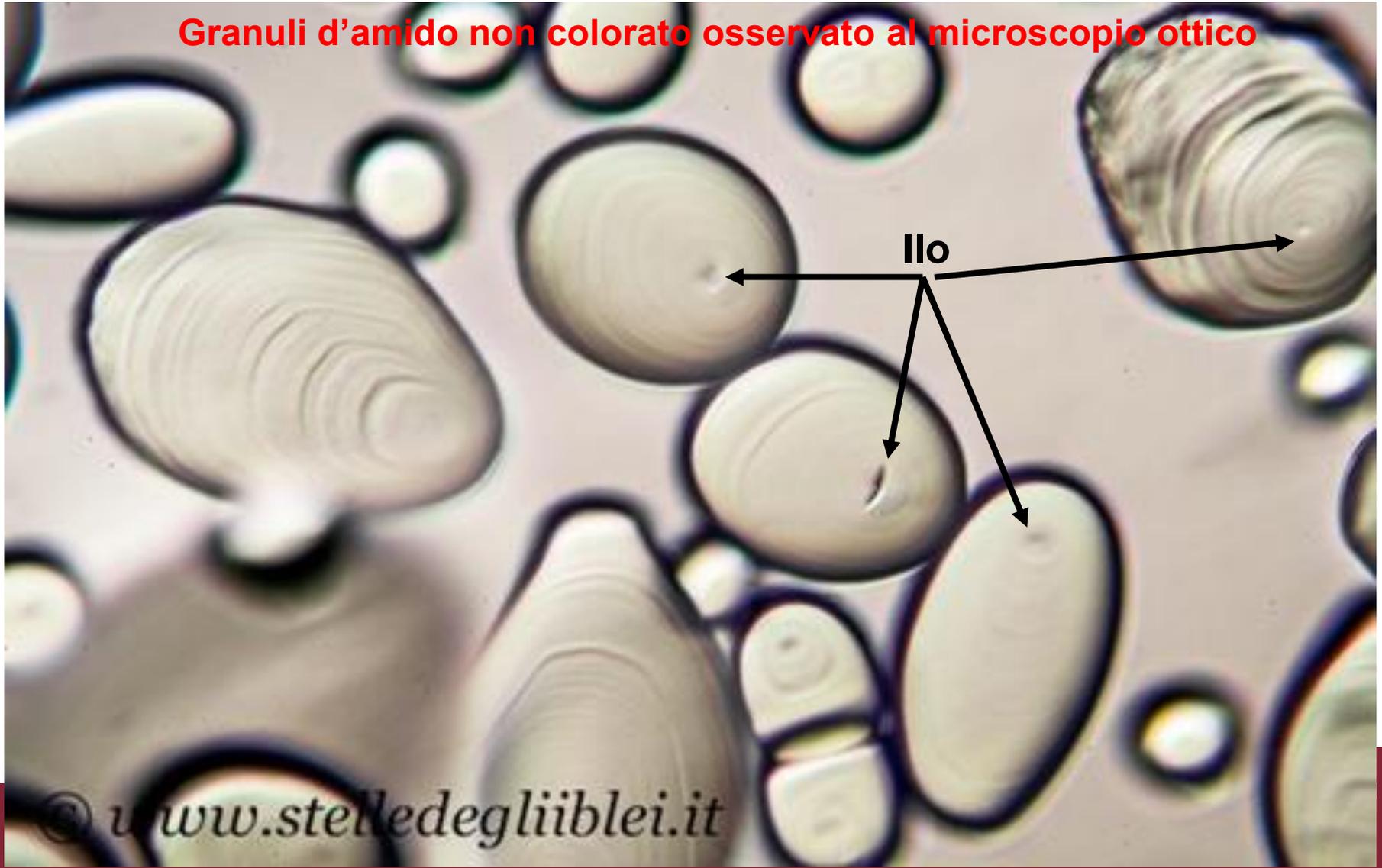
Tutti i plastidi derivano, direttamente o meno, dalla forma indifferenziata dei plastidi presente nelle cellule meristematiche (**proplastidi**) e sono delimitati da una doppia membrana.



I Plastidi

Amiloplasti e granuli di amido: hanno funzione di riserva, accumulano l'amido secondario

Granuli d'amido non colorato osservato al microscopio ottico

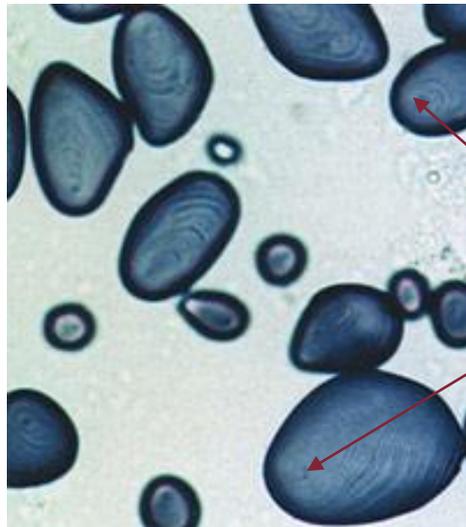


I Plastidi

Forte variabilità:

- Forma
- Dimensioni
- Visibilità o meno della stratificazione concentrica dell'amido intorno ad uno solo (semplici) o a più punti (composti) iniziali di condensazione (ILO)

semplici



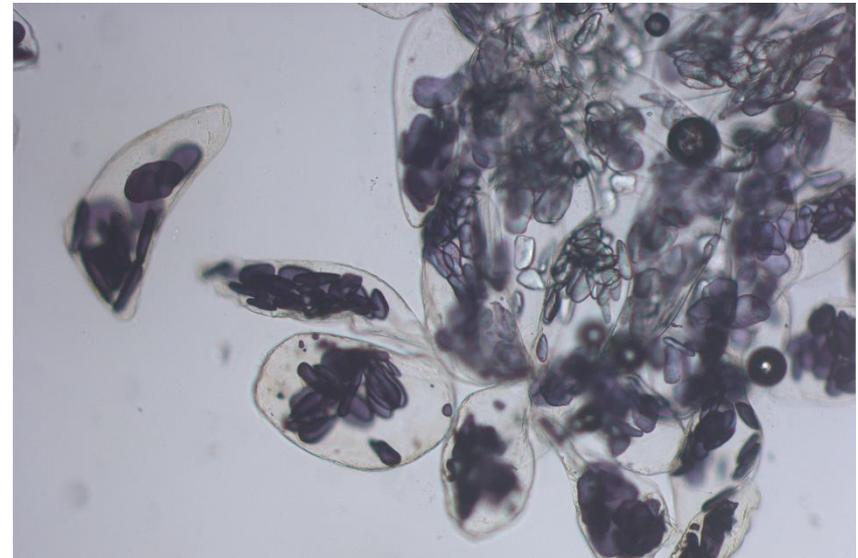
ilo

tubero di patata Dim: 5-100 μm

Luoghi di deposito:

- Midollo del fusto
- Corteccia della radice
- Semi
- Frutti
- Organi di riserva (es. tuberi)

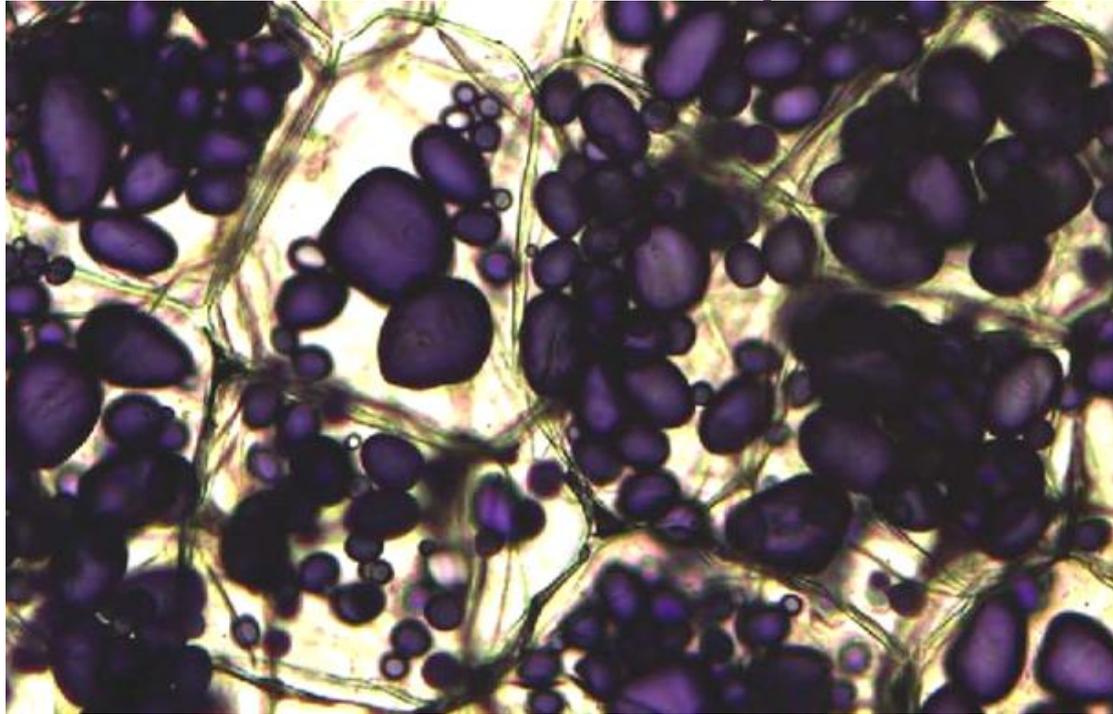
composti



banana

Gli amiloplasti sono plastidi incolori, perché privi di pigmenti. Nelle immagini sono stati colorati con il reattivo di Lugol.

AMILOPLASTI DI *Solanum tuberosum* COLORATI CON IODIO-IODURO DI POTASSIO (reattivo di Lugol)



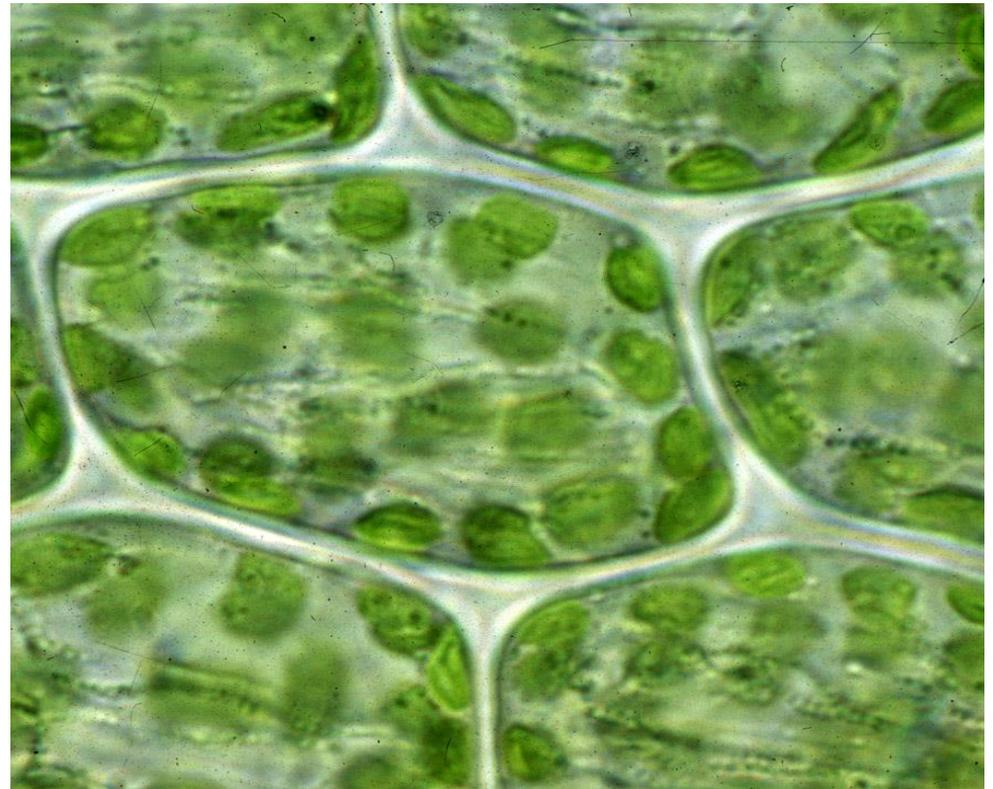
- Raschiare con la lametta una piccola quantità di parenchima amilifero (polpa della patata) e metterla nella vaschetta
- Coprire con qualche goccia di Reattivo di Lugol (soluzione color giallo)
- Non appena l'amido si colora di blu-viola montare il preparato su vetrino con una goccia di acqua distillata
- Chiudere il preparato con vetrino coprioggetto, picchiettare leggermente sul coprioggetto ed osservare

I Plastidi

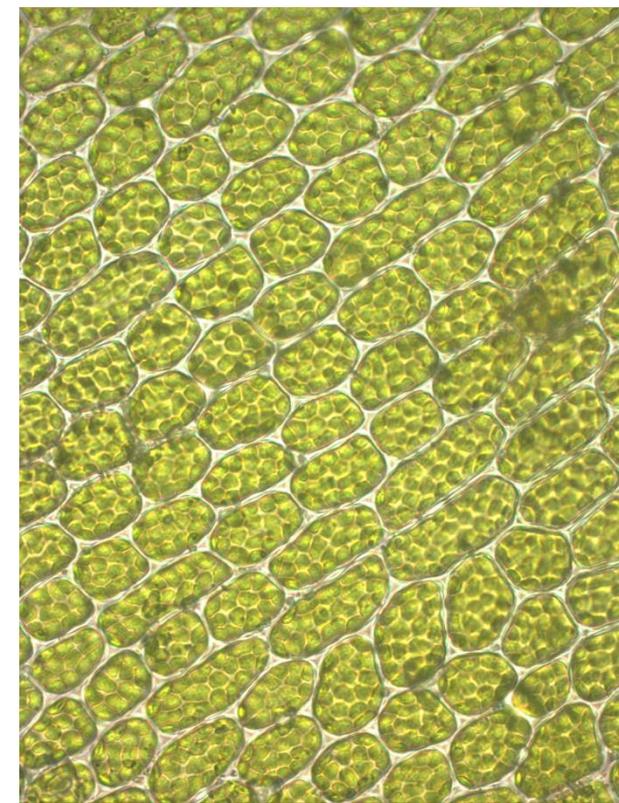
Cloroplasti



Plastidi con funzione fotosintetica



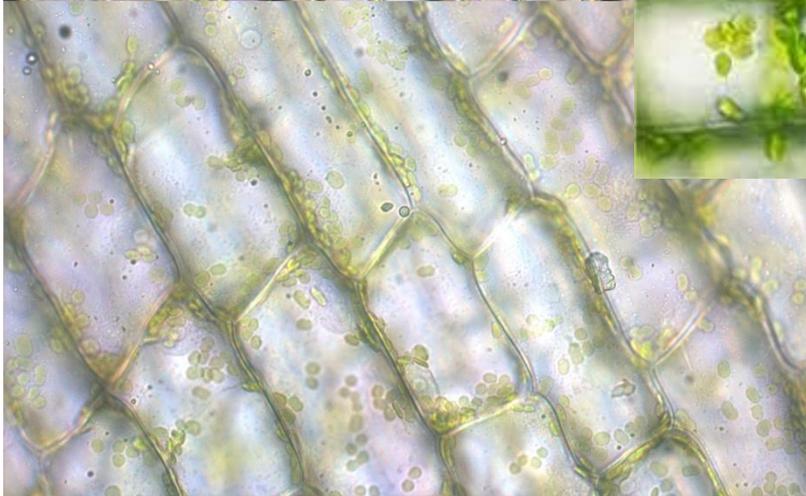
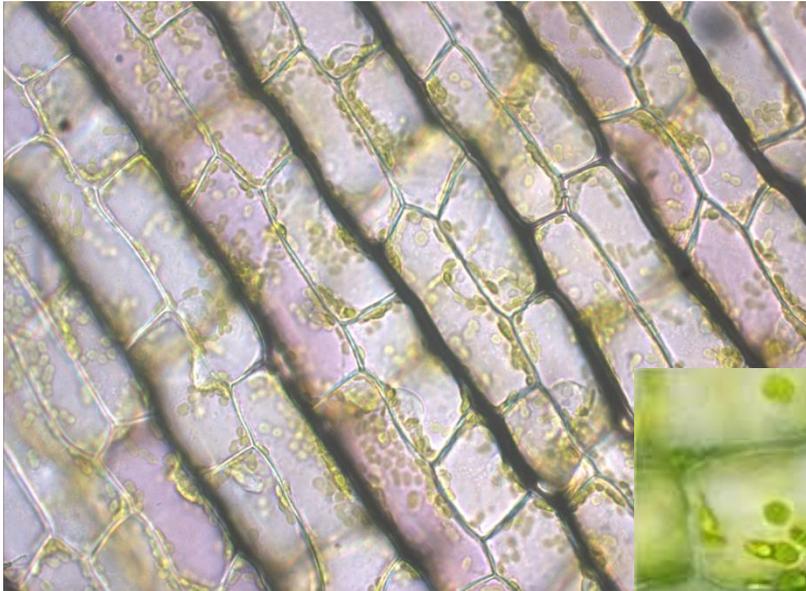
CLOROPLASTI DI FILLOIDE DI MUSCHIO



Montaggio con acqua distillata ed osservare direttamente

NB: le “foglie” dei muschi (Briofite) non sono omologhe alle foglie delle piante vascolari. Sono solitamente costituite da un unico strato di cellule (eccetto la “nervatura mediana ed i margini). Non hanno stomi. Assorbono acqua attraverso i filloidi.

CLOROPLASTI DI FOGLIA DI ELODEA



I cloroplasti, a forma di disco, si dispongono vicino alla parete. Il centro della cellula è occupato dal vacuolo.

Montaggio con acqua distillata ed osservare direttamente

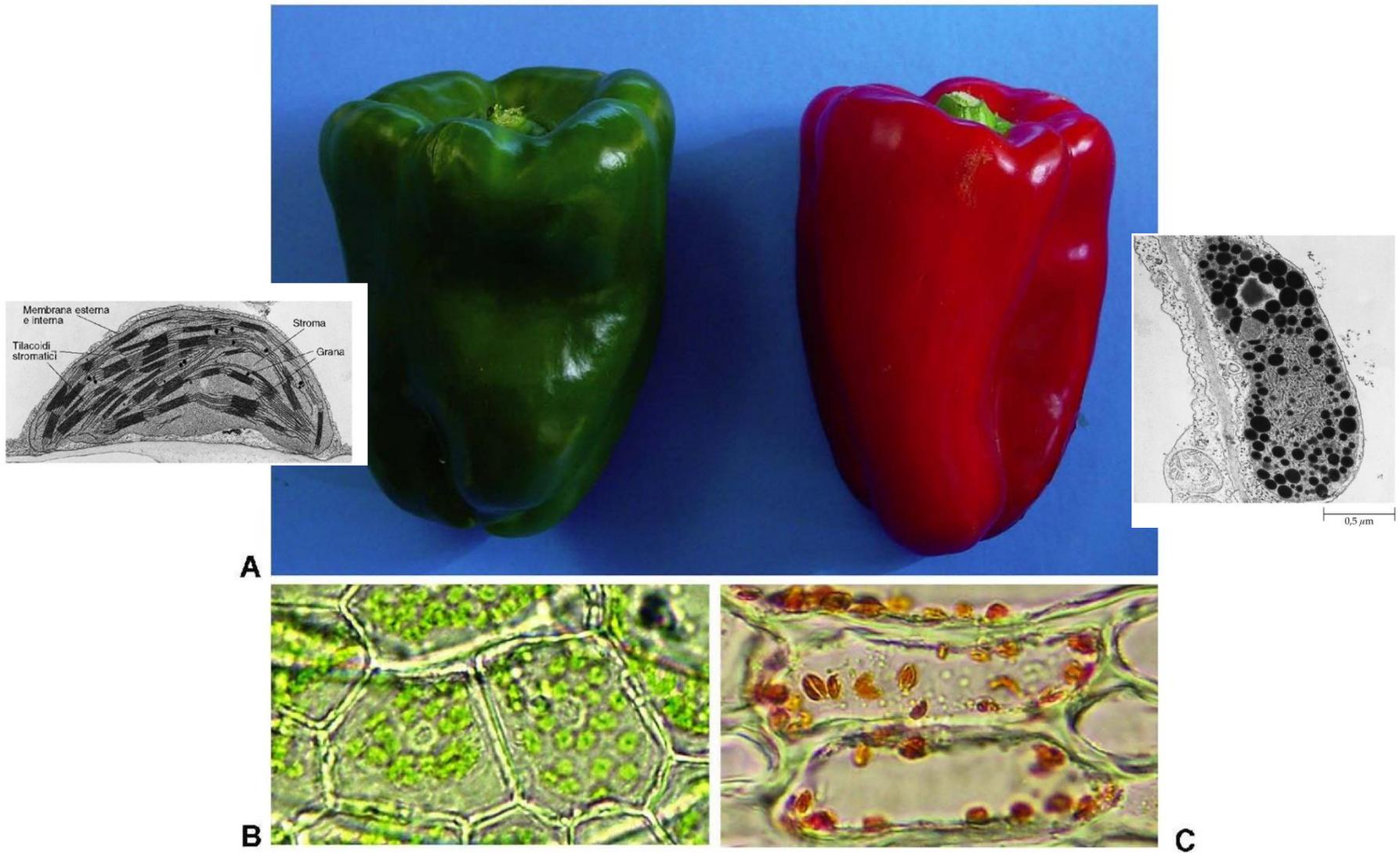


Figura 6.8

La maturazione del peperone (*Capsicum annuum*) (A) si accompagna alla conversione dei cloroplasti (B) in cromoplasti (C) (osservazione di A. Valletta e G. Pasqua).

I Plastidi

Scheda: Allestimento di un preparato di cellule di peperone

Materiale:

- Peperone rosso
- Bisturi
- Vetrini porta e coprioggetto
- Acqua distillata

Cellule della polpa di peperone: si possono osservare i cromoplasti.



Sollevare l'epidermide e grattare un po' di polpa sottostante

L'osservazione dei cromoplasti è semplice, basta staccare con attenzione uno strato sottile di polpa di peperone, metterlo sul vetrino portaoggetto, aggiungere una goccia d'acqua e coprire con il vetrino coprioggetto e osservare al microscopio.

Si osservano cellule molto grandi tondeggianti piene di cromoplasti.

CROMOPLASTO

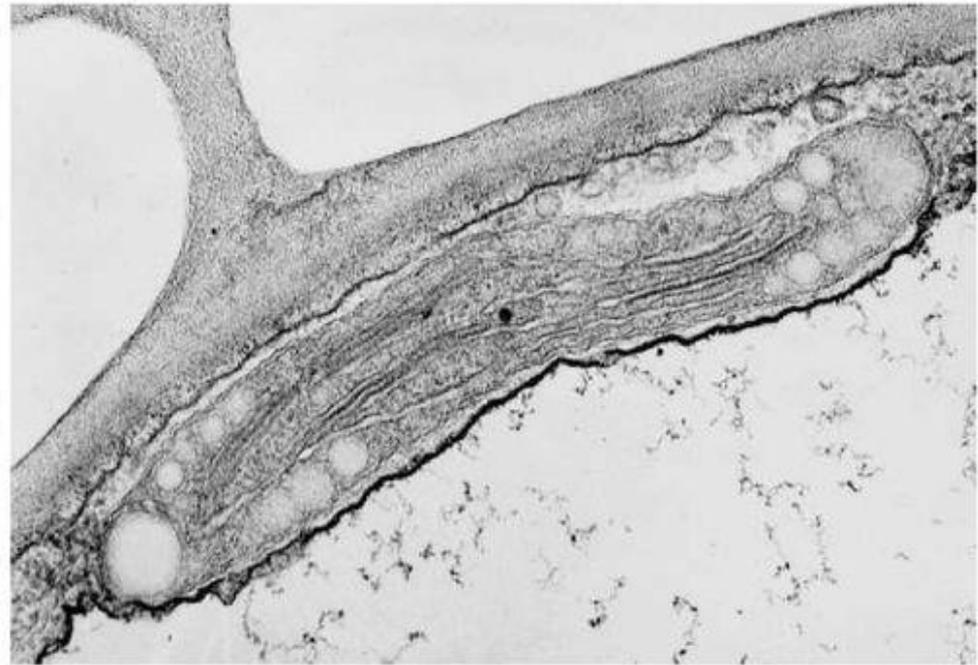
Si formano ex novo da proplastidi, o per degenerazione da cloroplasti verdi. (lo si vede nella maturazione della frutta).

Funzione vessillare di richiamo per insetti e animali impollinatori.

La struttura interna, a maturità, è degenerata, incostante e mal differenziata.

Perde il sistema membranario

Pigmenti colorati per la presenza di carotenoidi, ma senza clorofilla.

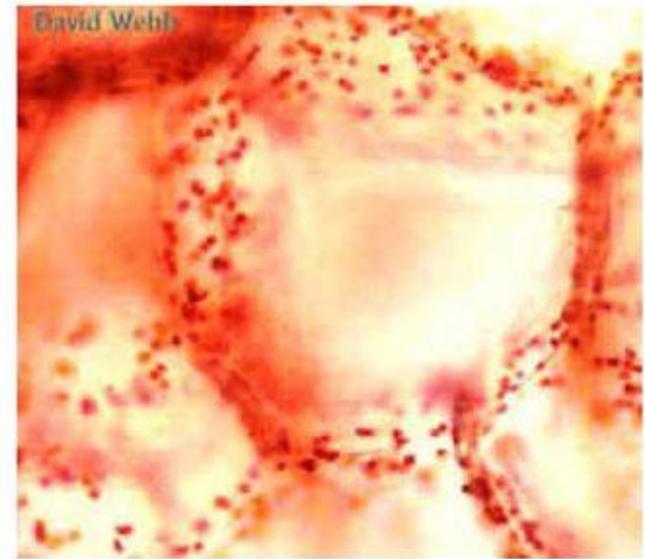


Colorazione dei cromoplasti è dovuta a diversi pigmenti:

- arancione: carotene (carota, arancia)
- gialla: xantofille (limone)
- rossa: licopene (pomodoro)

I pigmenti possono essere disciolti in gocce lipidiche (globuli) oppure possono formare dei tubuli (sottoforma di cristalli)

Localizzazione: in molti fiori (es. ranuncolo), frutti (pomodori) ed organi di riserva (es. carota) e nelle foglie senescenti



Procarioti

Batteri azotofissatori

Nostoc cianobatterio



Eterocisti
(Fissazione N₂)

- maggiori dimensioni, più chiare
- parete spessa
- fotosintesi parziale, senza produzione di O₂ ma solo di ATP, per consentire l'attività della nitrogenasi