

Cellule e tessuti, il *design* della natura

Microscopia vegetale per la scuola, dall'osservazione in campo alle tecniche classiche

EVELYN GRUBER, FRANCESCO RIGOBELLO⁽¹⁾ & FIORENZA TISI⁽²⁾

⁽¹⁾Museo Tridentino di Scienze Naturali

⁽²⁾Settore Informazione e Monitoraggi - APPA

L'importanza di fornire esperienze a più dimensioni (conoscere, fare, esprimere, realizzare) a ragazzi in formazione ha determinato negli ultimi anni il grande sviluppo di laboratori con finalità educative. In un progetto educativo il laboratorio è molto importante, non soltanto perché stimola le funzioni di colui che apprende, ma perché consente anche di osservarne l'evoluzione e di riconoscere e valorizzare capacità non ancora espresse.

Poiché è difficile studiare qualsiasi forma di vita se non la si vede, non meraviglia che l'uomo si sia ingegnato a costruire degli strumenti e a sviluppare delle tecniche che gli hanno consentito di osservare anche gli organismi più piccoli.

Infatti nei tempi passati è stato proprio il microscopio a rivelare i segreti della struttura della cellula ed anche oggi rimane un potente strumento per lo studio della biologia cellulare. A partire dal settembre 1999 il Museo Tridentino di Scienze Naturali in collaborazione con l'IPRASE (Istituto Provinciale di Ricerca Aggiornamento Sperimentazione Educativi) del Trentino ha attivato vari corsi di aggiornamento per insegnanti delle scuole

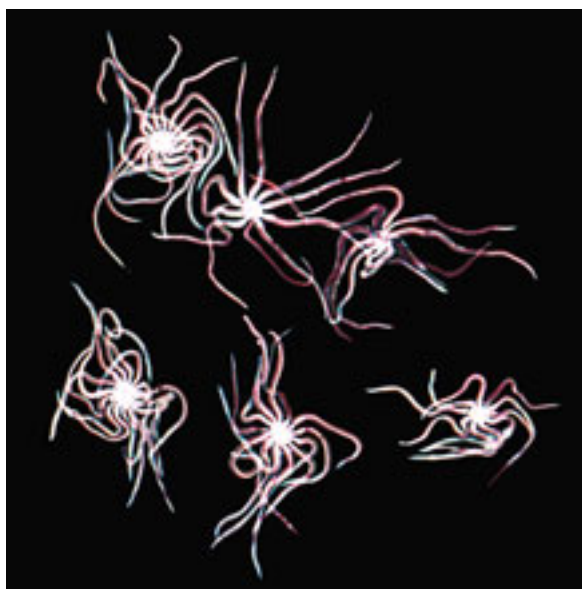


Fig. 1 – Un semplice trattamento fotografico come l'inversione può trasformare una foto al microscopio ottico in un'immagine quasi astratta (foto: F. Rigobello).

elementari, medie e superiori: questo per rispondere alle esigenze emerse e legate alla diversa preparazione di base dei docenti.

I corsi si sono tenuti in varie sedi: in particolare presso l'Arboreto di Arco, sede staccata del Museo Tridentino di Scienze Naturali, e presso i laboratori del Liceo "A. Maffei" di Riva del Garda.

L'attività di aggiornamento è stata articolata per consentire la preparazione e la sperimentazione assieme ai corsisti di attività di microscopia di botanica nelle quali le considerazioni teoriche derivino da operazioni di carattere concreto, basate sull'osservazione di materiale facilmente reperibile nel nostro ambiente, con il coinvolgimento degli studenti.

Come operare...

L'allestimento di un preparato microscopico permette di sperimentare tecniche diverse che variano a seconda di ciò che si vuole osservare e del tipo di vegetale che si ha a disposizione. Per questo motivo sono state prese in considerazione tecniche facilmente utilizzabili in un laboratorio scolastico: il metodo dell'impronta, la raschiatura, la spellatura, la sezione e l'osservazione di pollini. Inoltre si è prestata particolare attenzione alla scelta di piante facilmente identificabili, facilmente reperibili e diffuse nei nostri ambienti.

1. Tecnica dell'impronta

Non è facile osservare una pianta senza intaccarne la struttura. Per risolvere questo inconveniente ed educare gli studenti al rispetto della natura è possibile applicare il metodo dell'impronta. Tale metodologia prevede l'uso, oltre che dei tipici strumenti da laboratorio come vetrini portaoggetti e coprioggetti, di materiali di uso comune: smalto per unghie trasparente ad asciugatura rapida e nastro adesivo trasparente. Il risultato è la produzione di un vetrino permanente senza danneggiare l'organismo vegetale oggetto di studio.

Per una corretta ed efficace applicazione di questo metodo risulta importante la scelta della superficie da indagare. Infatti con l'applicazione dello smalto non si riescono ad osservare le strutture interne, ma solo quelle esterne (epidermide, peli, stomi, ghiandole). Si procede applicando sulla superficie della

foglia, o di altre parti rigide della pianta, con un'unica passata un sottile strato di smalto per unghie trasparente, in tal modo si forma un pellicola che copre la superficie in esame. Si attende qualche minuto che il liquido si asciughi, quindi con un pezzettino di nastro adesivo trasparente si toglie dalla foglia la spennellata e la si incolla sul vetrino portaoggetti. Si ottiene così il preparato da osservare al microscopio. I vetrini ottenuti in questo modo sono permanenti e possono durare anche per molto tempo avendo cura di non permettere al nastro adesivo di seccare.



Figg. 2, 3, 4 – Le fasi di preparazione di vetrini permanenti con la tecnica dell'impronta: (in successione) applicazione dello smalto trasparente sulla superficie fogliare, rimozione della pellicola asciutta con nastro adesivo, apposizione del nastro adesivo sul vetrino porta-oggetti (foto: F. Tisi).

L'attività può inoltre essere ripetuta più volte nel corso dell'anno e in più anni successivi; in questo modo è possibile in breve tempo allestire una piccola, ma significativa, raccolta di preparati. Questa procedura è ideale per investigazioni all'aria aperta e richiede tempi di preparazione minimi. Permette di osservare la forma delle cellule epidermiche e di studiare la densità, la forma e la disposizione degli stomi in una grande varietà di piante diverse; è, inoltre, possibile porsi e rispondere a diverse domande:

- c'è lo stesso numero di stomi sulla pagina superiore e inferiore della foglia?
- foglie diverse della stessa pianta hanno densità stomatica diversa?... e foglie di piante diverse ma della stessa specie?
- la densità cambia studiando piante adattate ad habitat diversi?

Nel nostro caso abbiamo cominciato con l'osservare le differenze nella disposizione e

nella forma degli stomi in piante appartenenti a varie famiglie di monocotiledoni e dicotiledoni, evidenziando anche la diversa forma delle cellule epidermiche, per poi passare a rispondere alle domande sopra esposte.

Dalla nostra esperienza risultano da evitare le foglie ricche di peli in quanto questi ultimi vengono inglobati nello smalto ed impediscono l'osservazione della struttura dell'epidermide della foglia.

Si possono anche riscontrare difficoltà nell'applicare il metodo a piante acquatiche o non aventi strutture sufficientemente rigide. Le foglie ricoperte da uno strato troppo spesso di cere o con stomi infossati (per esempio aghi di conifere, foglie di oleandro) non permettono di riconoscere la forma degli stomi ma solo la loro densità e distribuzione spaziale. Questa tecnica può essere applicata anche a fusti giovani non ancora suberificati.

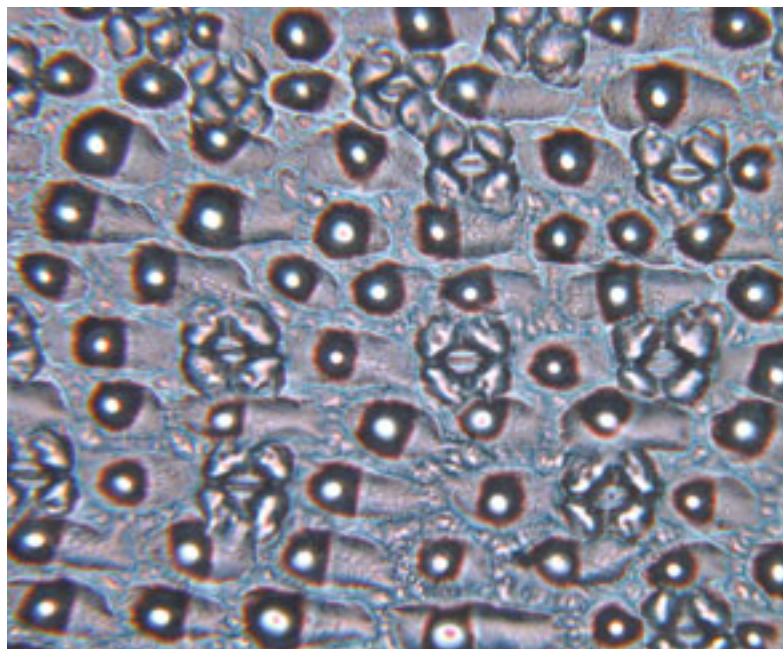


Fig. 5 –
Carex sp.,
foglia, impronta,
100x.

Si possono osservare le aperture degli stomi e, in alcuni casi, le cellule di guardia
(foto:
W. Larcher).

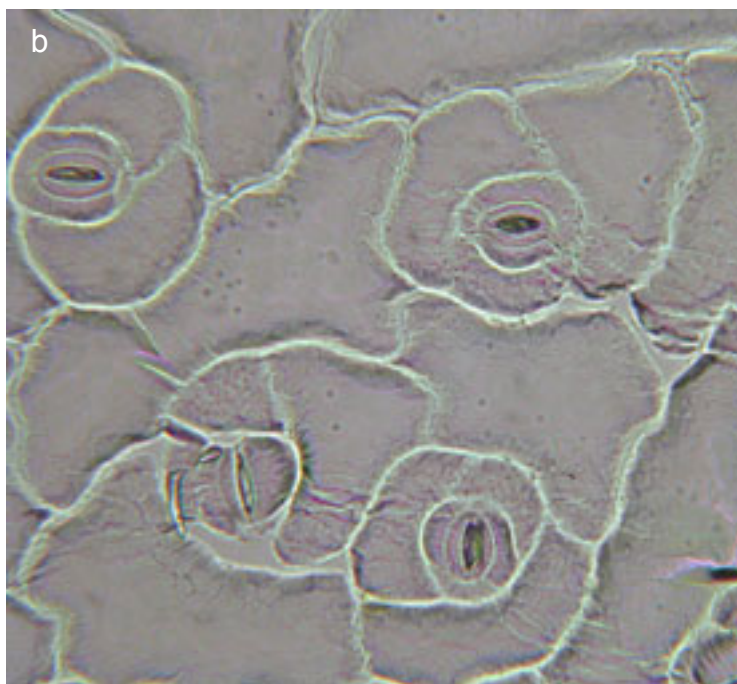
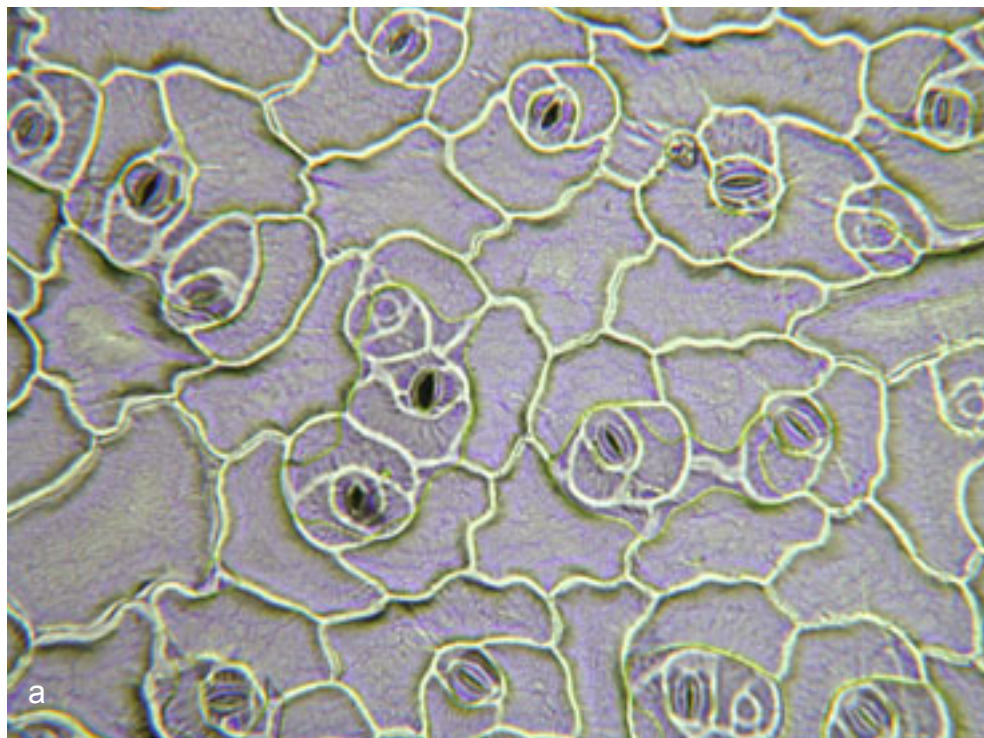


Fig.6 - *Sedum* sp., foglia, impronta: **a.** 100x; **b.** 200x.

Si possono osservare forma e disposizione delle cellule epidermiche, stomi e cellule di guardia (foto: *W. Larcher*).

2. Raschiatura

Per osservare più da vicino le strutture epidermiche è possibile separarle dall'epidermide stessa con un semplice procedimento. La superficie fogliare, o altre parti della pianta, vengono raschiate con la lametta in modo da prelevare le formazioni epidermiche (peli, ghiandole, ecc.); queste ultime vengono trasferite dalla lametta in una goccia d'acqua posta su un vetrino portaoggetti e coperte con il vetrino coprioggetti. In questo modo è possibile studiare i diversi tipi di peli correlandoli alla funzione che svolgono per la pianta stessa, cioè possiamo mettere in rela-

zione le formazioni epidermiche con l'ecologia della pianta ed evidenziare come specie diverse abbiano risolto allo stesso modo problemi simili (Figg. 8, 9, 10, 11, 12).

Hanno dato buoni risultati le osservazioni dei peli delle foglie di olivo, verbasco, geranio, leccio e dei rametti di nocciolo.

Questa tecnica può essere applicata anche ad altre strutture della pianta, come il tubero della patata, la polpa della pera e della banana, per osservare i granuli di amido e le sclereidi (Fig.7).

3. Spellatura

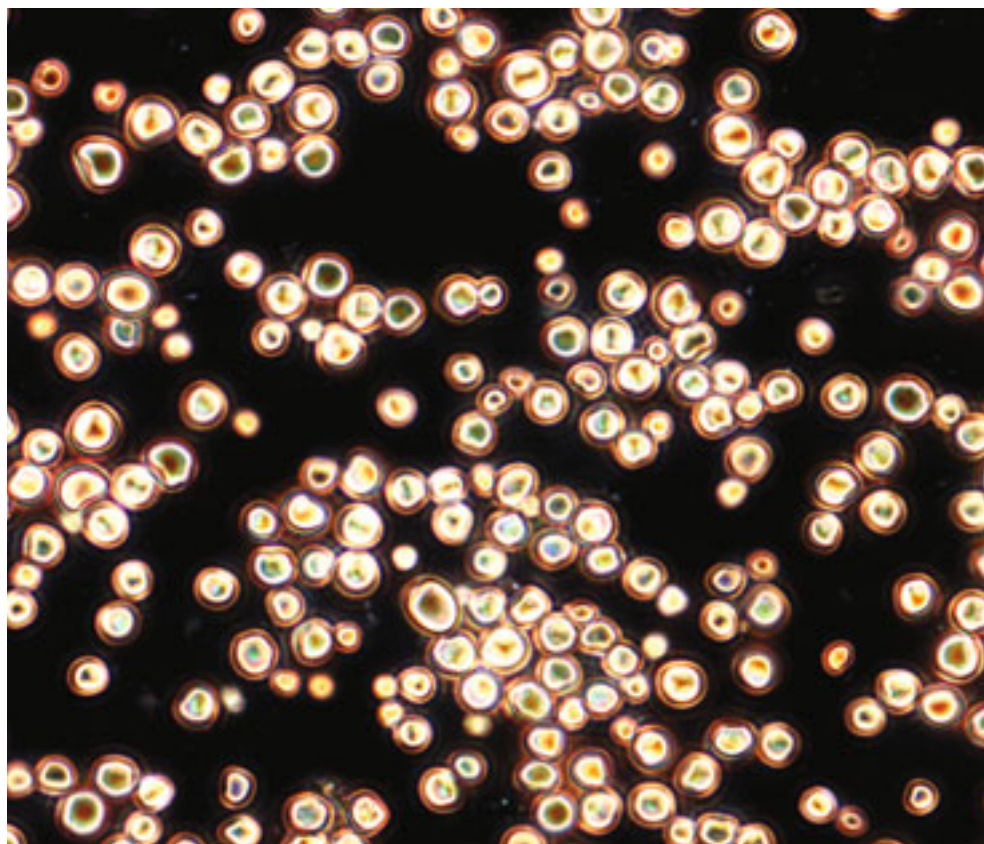


Fig. 7 - Ranuncolo (*Ranunculus* sp.), fusto, raschiatura, granuli di amido, 400x in contrasto di fase (foto: F. Rigobello e E. Gruber).



a



b

Fig.8 - *Verbascum thapsus* L.), foglia, raschiatura, peli pluricellulari ramificati: **a.** 50x; **b.** 200x
(foto: F. Rigobello e E. Gruber).



Fig.9 - *Leccio (Quercus ilex* L.), foglia, raschiatura, pelo pluricellulare stellato, 50x
(foto: F. Rigobello e E. Gruber).



Fig.10 - Geranio (*Pelargonium* sp.), foglia, raschiatura, pelo semplice, 100x (foto: F. Rigobello e E. Gruber).



Fig.11 - Nocciolo (*Corylus avellana* L.), foglia, raschiatura, pelo glanduloso, 50x (foto: F. Rigobello e E. Gruber).



Fig.12 - Olivo (*Olea europaea* L.), foglia, raschiatura, peli pluri-cellulari peltati, 200x (foto: F. Rigobello e E. Gruber).

L'osservazione della superficie vegetale è possibile anche prelevando parte della struttura ed osservandola montata su un vetrino portaoggetti.

Questa tecnica consiste nel prelevare utilizzando una pinzetta un sottile strato epidermico; ne risulta un tessuto trasparente costituito da pochi strati di cellule da trasferire sul vetrino in una goccia d'acqua e quindi coprire con un vetrino coprioggetto.

Risultano così evidenti struttura, forma e di-

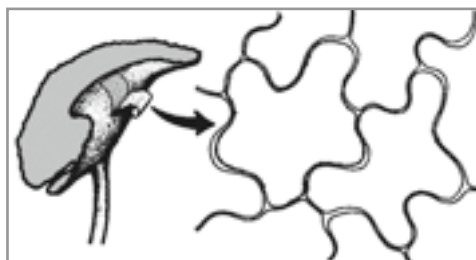


Fig.13 - La tecnica della spellatura consiste nel prelevare con una pinzetta il sottile strato di epidermide che ricopre i vari organi della pianta (da KRAMER, 2002; modificato).

sposizione delle cellule; si possono osservare inclusi cellulari, strutture quali nucleo e plastidi (cloroplasti, cromoplasti, amiloplasti), strutture epidermiche come i peli (semplici, composti, glandulari, ...). Di particolare in-

teresse sono le foglie di geranio, ciclamino, iris; i fusticini di ortica, geranio e nocciolo e le papille presenti sui petali di *Tagetes* sp., viole e primule (Fig.14, 15).

Fino a questo punto le osservazioni si sono

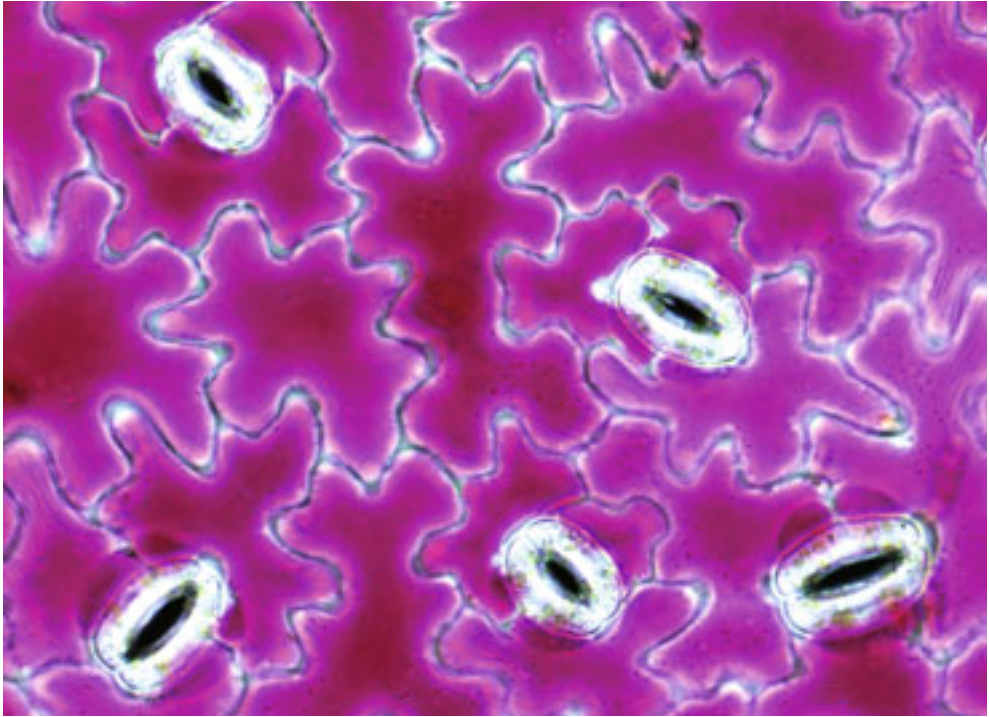


Fig.14 - Ciclamino (*Cyclamen persicum* Mill.), foglia (pagina inferiore), spellatura, 400x.

Si osservi la forma articolata delle cellule, la disposizione e la forma degli stomi con le rispettive cellule di guardia.

Il vacuolo risulta essere spesso pieno di liquido rosso per la pre-senza di antociani in soluzione

(foto: F. Rigobello e E. Gruber).

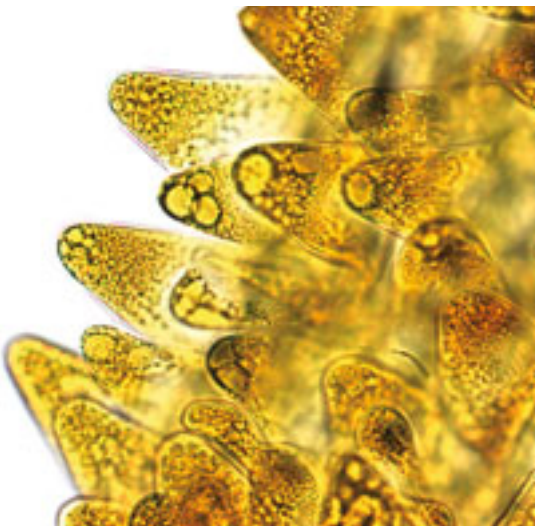


Fig.15 - Tagete (*Tagetes* sp.), petalo, spellatura, 400x.

Si notano le papille presenti sulla superficie del petalo

(foto: F. Rigobello e E. Gruber).

4. Sezione

limitate alla superficie delle piante o a sottili strati superficiali, ora si passa allo studio delle strutture interne. Risulta abbastanza facile allestire sezioni trasparenti con gli organismi vegetali perché i loro tessuti sono piuttosto consistenti. Quasi tutti gli organi vegetali possono essere comodamente sezionati utilizzando una lametta; questo semplice strumento ci consente di ottenere agevolmente

delle fettine sufficientemente sottili da poter essere studiate al microscopio. L'esame di questi preparati permette di riconoscere i vari tipi di tessuto presenti negli organi vegetali, di osservarne la disposizione e le eventuali formazioni cellulari; come ad esempio druse, idioblasti e rafidi. (Figg. 16, 17).

Fig.16 - Vite (*Vitis vinifera* L.), fusto, sezione, rafidi, 400x.
I rafidi sono cristalli allungati di ossalato di calcio spesso presenti nelle cellule senescenti
(foto: F. Rigobello e E. Gruber).

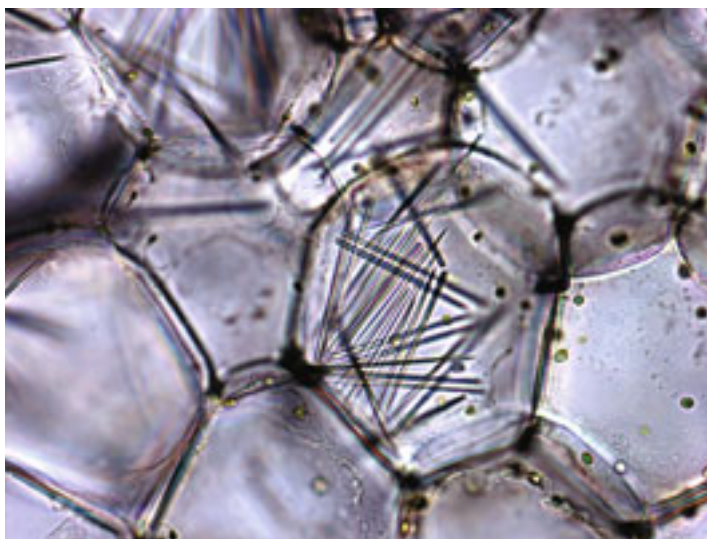
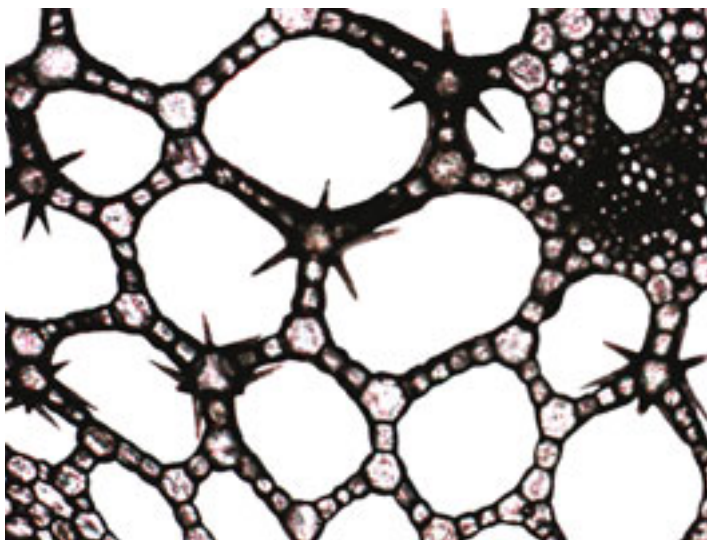


Fig.17 – Nannufaro (*Nuphar lutea* (L.) Sm.), fusto, sezione, idioblasti con funzioni di sostegno e rinforzo, 50x.

Il parenchima presente è oltre che di riserva, di tipo aerifero (con ampi spazi intercellulari) in modo da facilitare la circolazione dell'aria in profondità (adattamento idromorfico). Una certa funzione meccanica di sostegno è devoluta agli idioblasti (cellule con pareti mineralizzate con ossalato di calcio) (foto: F. Rigobello e



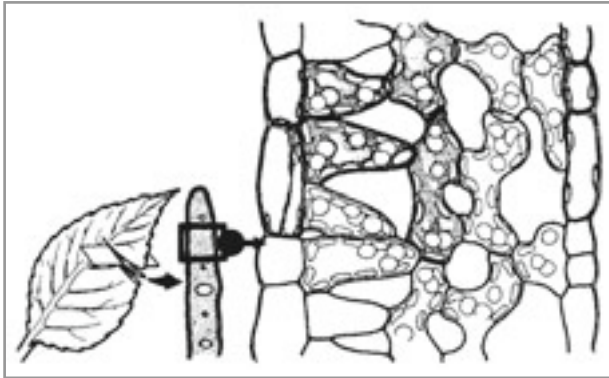


Fig.18 - La sezione viene eseguita con la lametta in modo da ottenere una sottile porzione della parte di pianta da osservare (da LONGO, 1992; modificato)

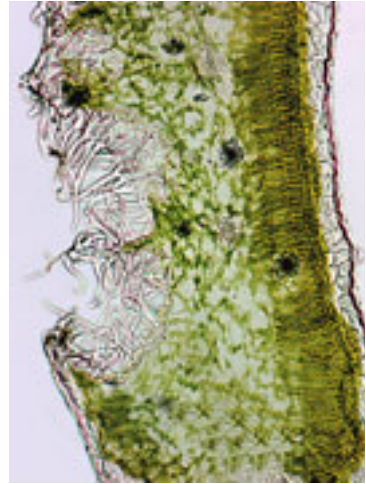


Fig.19 - Oleandro (*Nerium oleander* L.), foglia, sezione, cripta stomatica, 100x. La foglia di oleandro mostra degli adattamenti xeromorfici (cioè tipici dei vegetali dei luoghi aridi) tendenti a limitare la traspirazione. Si osserva, infatti, una stratificazione sia dell'epidermide superiore che dell'inferiore e la presenza di un tessuto a palizzata pluristratificato (cellule allungate ricche di cloroplasti disposte in modo ordinato). In particolare, a livello della pagina inferiore, si notano le cripte pilifere, che sono aree di invaginazione dell'epidermide. In esse si trovano gli stomi e dei peli morti che hanno la funzione principale di limitare la circolazione dell'aria all'interno della cripta. Si crea così un microclima ad elevata umidità che riduce la traspirazione (foto: F. Rigobello e E. Gruber).



Fig.20 - Mais (*Zea mays* L.), foglia, sezione, 100x. Si tratta di una foglia isolaterale, infatti gli stomi sono presenti nell'epidermide delle due pagine (foglia anfistomata); il mesofillo (l'insieme dei tessuti della foglia, esclusa l'epidermide, che li avvolge) si presenta non molto compatto e a struttura piuttosto omogenea non differenziando un tessuto a palizzata e un tessuto lacunoso. In questo tipo di foglie non si parla di pagina superiore e inferiore, ma di pagina dorsale e ventrale (quella verso cui è rivolto lo xilema) (foto: F. Rigobello e E. Gruber).



Fig.21 - Pino nero (*Pinus nigra* Arnold), foglia, sezione, 50x. Si tratta di una foglia con evidenti adattamenti xeromorfici. Si osservi in particolare come l'epidermide sia fortemente cuticularizzata e lignificata. Il parenchima clorofilliano non presenta alcuna differenziazione e appare compatto. Al centro si trova una nervatura delimitata dall'endodermide, che presenta due fasci, attorno ai quali si nota un particolare tessuto, detto di trasfusione (costituito di elementi parenchima-tici e di tracheidi), che facilita il trasporto radiale delle linfe circolanti. Abbondanti sono inoltre i canali resiniferi immersi nel parenchima clorofilliano.(foto: F. Rigobello e E. Gruber).

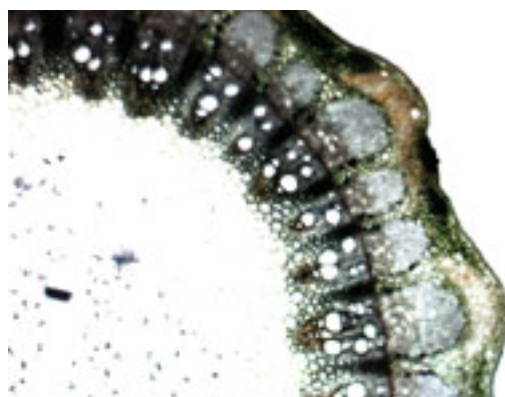
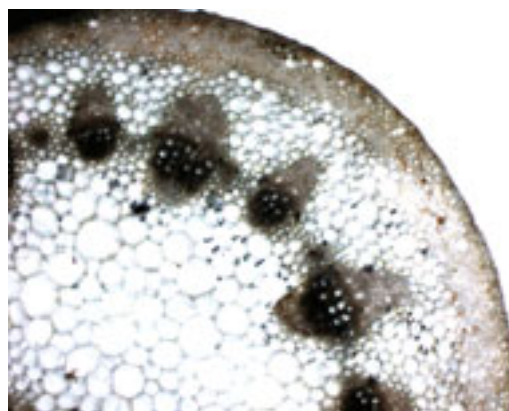
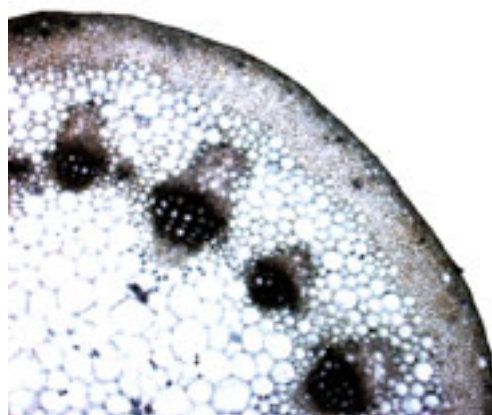
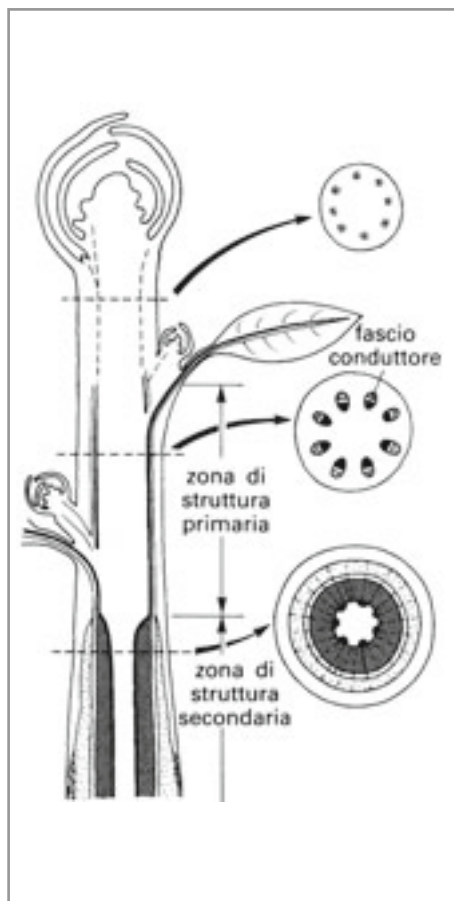


Fig.22 - Vite (*Vitis vinifera* L.), fusto, sezione, 3 sezioni a livelli diversi da struttura primaria a secondaria, 50x (foto: F. Rigobello e E. Gruber)

In particolare sono state utilizzate foglie di oleandro, conifere, iris (Figg. 19, 20, 21); fusto di ranuncolo, trifoglio, artemisia, menta, taglio,

nocciolo, cipresso, tasso, salvia e palma; ma anche fusti di piante acquatiche sommerse come ninfea, *Nuphar lutea* e *Myriophyllum* sp.

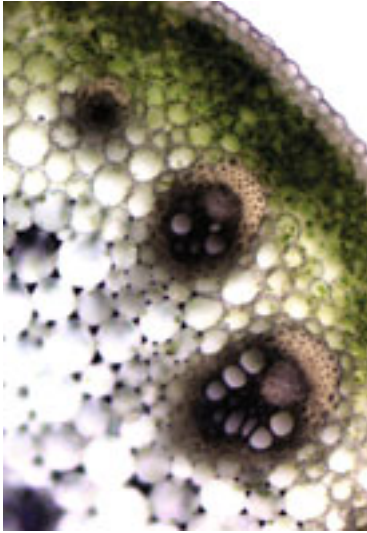


Fig.23 - Ranuncolo (*Ranunculus* sp.), fusto, sezione, struttura primaria, 100x. Si osservino i fasci conduttori (insieme di tessuti vegetali deputati alla conduzione di liquidi nelle piante vascolari) ancora separati tra loro e disposti radialmente (foto: F. Rigobello e E. Gruber).

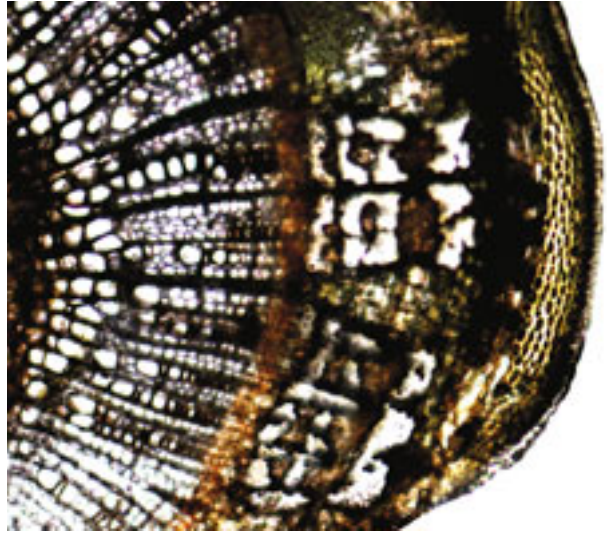


Fig.24 - Tiglio (*Tilia* sp.), fusto, sezione, struttura secondaria, 100x. In particolare si notano dall'esterno verso l'interno: - periderma (sughero + fellogeno + fellogeno, è il tessuto che riveste il fusto e le radici delle piante legnose, una volta terminata la fase di crescita primaria, formando la corteccia esterna) e parenchima corticale; - il libro (tessuto di conduzione della linfa elaborata), spezzettato in cunei in quanto gli elementi di più antica formazione vengono spinti sempre più all'esterno, dove sono costretti ad occupare spazi maggiori di quelli occupati al momento della loro formazione; - il cambio (formato da cellule che hanno mantenuto la capacità di dividersi); - il legno secondario di tipo eteroxilo, cioè costituito di trachee e tracheidi (vasi conduttori aperti e chiusi) con ispessimenti di vario tipo, di fibre sclerenchimatiche (con la funzione di sostenere e irrobustire gli organi della pianta) e cellule parenchimatiche. Il legno è attraversato da raggi midollari pluriseriati e presenta numerose cerchie annuali di accrescimento distinguibili per la netta differenza tra il legno di chiusura estivo-autunnale (costituito prevalentemente di elementi conduttori a lume ridotto e fibre) e il legno primaverile (caratterizzato da un minor numero di fibre e da elementi conduttori a lume molto ampio); - parenchima midollare al centro (foto: F. Rigobello e E. Gruber).

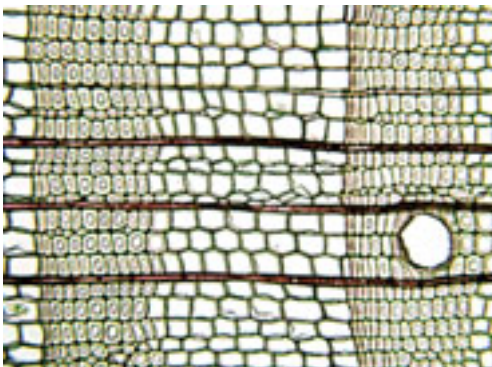


Fig.25 - Larice (*Larix decidua* Mill.), fusto, sezione trasversale, 400x. Particolare del legno secondario, con i raggi midollari uniseriati, esso è caratterizzato dalla presenza di sole tracheidi e fibrotracheidi che gli conferiscono un aspetto molto uniforme e omogeneo (legno omoxilo). Si può osservare inoltre l'accrescimento primaverile e autunnale e la presenza di canali resiniferi (foto: W. Larcher).

(Figg.22, 23, 24, 25, 26, 27); radici di ranuncolo e mais (Fig.28).

All'inizio sono emerse con i docenti difficoltà di applicazione di questa tecnica dovute alla mancanza di manualità, poi superate con

la pratica e l'esperienza. Inoltre, è emerso come, rispetto alle precedenti, questa tecnica per motivi di sicurezza non sia facilmente applicabile alle attività di un laboratorio scolastico.

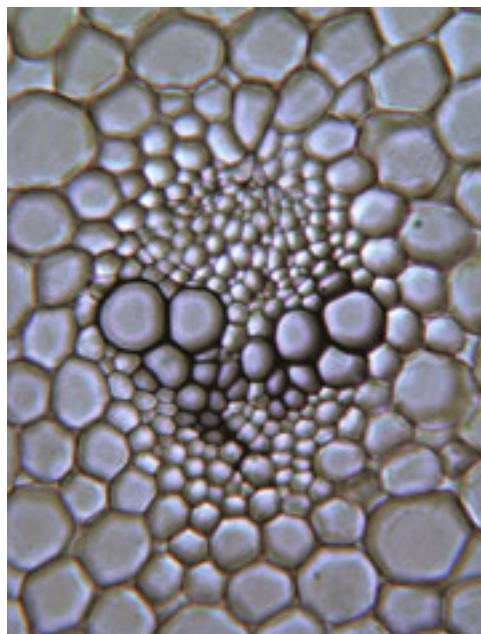


Fig. 26 - *Polygonatum* sp., fusto, sezione, fascio, 200x.

Si possono osservare il floema (o libro) e il metaxilema (conduzione della linfa grezza) con vasi molto ampi (foto: W. Larcher).

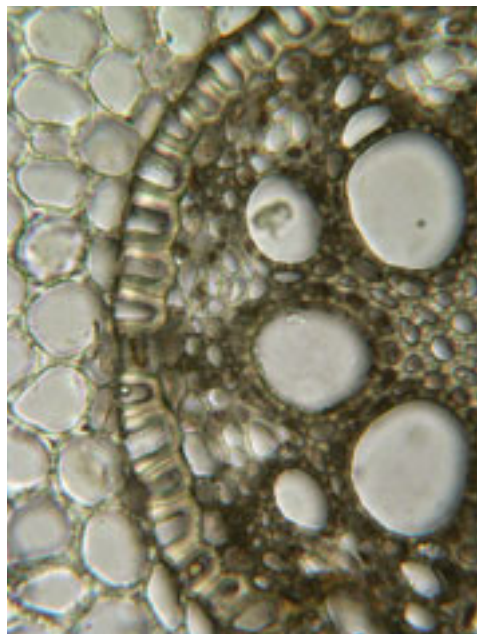


Fig. 27 - *Iris* (sp.), radice, sezione, 400x. Particolare del cilindro centrale con l'endodermide che presenta i caratteristici ispessimenti ad U ed i punti di permeazione (cellule dell'endodermide che mantengono la suberificazione primaria della fascia del Caspary e che si riscontrano in corrispondenza delle arche xilematiche per consentire una certa circolazione delle soluzioni). Nel cilindro centrale si notano inoltre numerose arche floematiche e xilematiche (radice poliarca) (foto: W. Larcher).



Fig. 28 - Mais (*Zea mays* L.), fusto, sezione, struttura primaria di monocotiledone, 50x. Esempio di struttura atactostelica (i fasci sono disposti "disordinatamente" nel cilindro centrale), con i fasci conduttori che si spingono a ridosso dell'epidermide (foto: F. Rigobello e E. Gruber).

5. Preparati a fresco al naturale

L'osservazione di alcuni organi e strutture (nucleo, plastidi, lipidi) è possibile anche senza modificare il materiale vegetale a disposizione. Si possono osservare in trasparenza le foglioline di piante acquatiche sommerse (*Eloдея* sp.), i filloidi di muschio e la pellicina di cipolla.

6. Osservazione di pollini

Una parte del corso è stata dedicata all'osservazione di pollini raccolti in natura e/o presenti in alcuni dei più comuni mieli in com-

mercio. I pollini sono stati osservati ponendoli in piccola quantità in una goccia d'acqua su un vetrino portaoggetti. I risultati migliorano se la soluzione di acqua e miele viene centrifugata, in tal modo i pollini contenuti si concentrano sul fondo della provetta. In particolare si sono osservati dal vivo i pollini di cedro, nocciolo, sambuco e giglio martagone ed i pollini presenti nei mieli di acacia, arancio, castagno, millefiori (Figg.25, 26, 27). Per agevolare il lavoro di osservazione e identificazione, sono state fornite ai docenti fotocopie dei diversi pollini tratte da "*Flora apistica italiana*" (RICCIARELLI D'ALBORE e PERSANO ODDO, 1981).

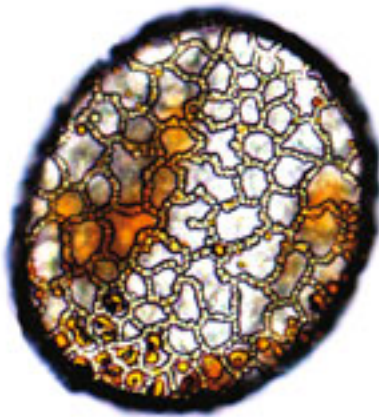


Fig. 29 – Giglio martagone (*Lilium martagon* L.), polline, 400x (foto: F. Rigobello e E. Gruber).

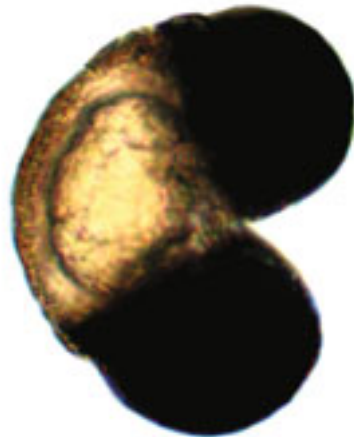


Fig. 30 - Pino mugo (*Pinus mugo* Turra), polline, 400x (foto: F. Rigobello e E. Gruber).



Fig. 31 - Nocciolo (*Corylus avellana* L.), polline, 400x (foto: F. Rigobello e E. Gruber).

Conclusioni

Le tecniche dell'impronta e della raschiatura sono state le più apprezzate dagli insegnanti in quanto di più facile applicazione soprattutto nelle scuola primaria e scuola secondaria di primo grado. Gli insegnanti hanno dato grande rilevanza educativa alla tecnica dell'impronta dal momento che permette di studiare le piante in campo e senza distrug-

gerle.

L'esperienza ci ha inoltre permesso di calibrare meglio i laboratori didattici che vengono svolti presso la sede del Museo Tridentino di Scienze Naturali, ed ha favorito nei docenti l'acquisizione di conoscenze, tecniche e manualità applicabili nelle scuole di appartenenza.

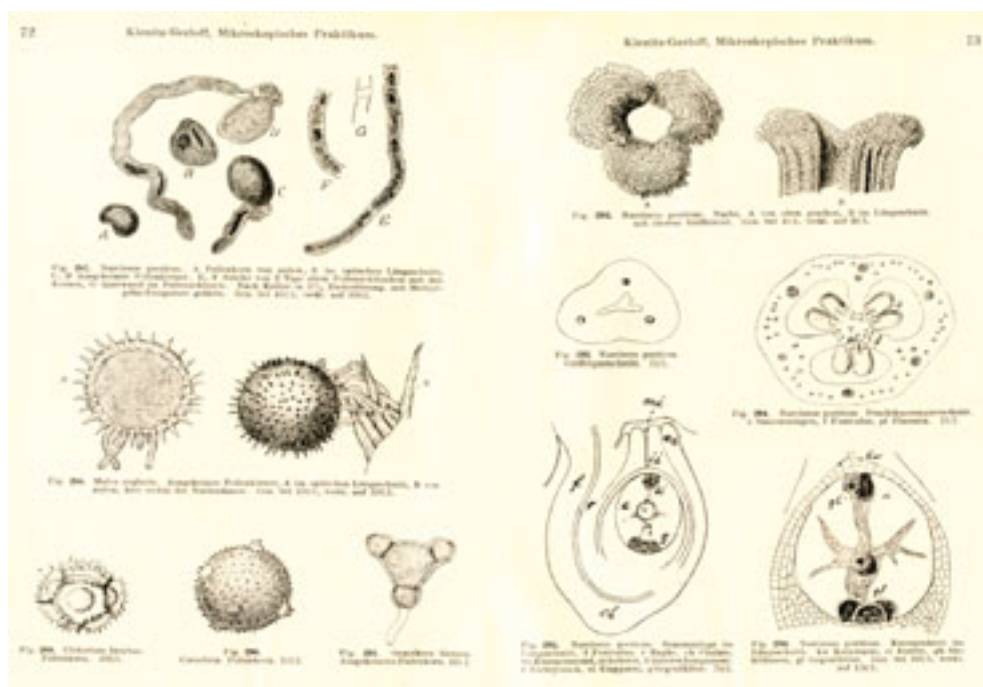


Fig. 321 – In assenza di supporto fotografico, la riproduzione grafica di quanto osservato al microscopio ottico ha rappresentato per tutto l'Ottocento la modalità di “fissazione” delle immagini microscopiche (tavola tratta dal: *Mikroskopisches Praktikum* di KIENITZ-GERLOFF, *Quelle und Mayer*, Leipzig, 1910).

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare sentitamente:
 - il prof. Walter Larcher e la prof.ssa Johanna Wagner dell'Istituto di Botanica dell'Università di Innsbruck per i preziosi consigli e per il contributo formativo dato nella corretta acquisizione dei metodi di lavoro;

- il prof. Nello Fava dell'IPRASE per la collaborazione nella programmazione dei corsi di aggiornamento sulla microscopia vegetale, il Liceo Scientifico “A. Maffei” di Riva del Garda per l'ospitalità presso i propri laboratori.

Letteratura citata

- AA.VV., 2001 - *Stomatal impressions - some simple alternatives*. SAPS - Science and Plants for Schools. Osmosis 20, Spring 2001.
- BRUNE W., LEMAN A. e TAUBERT H., 1999 - *Pflanzenanatomisches Praktikum* I. Ed. Spektrum, Heidelberg.
- KRAMER B.P., 2002 - *Das grobe Kosmos-Buch der Mikroskopie*. Kosmos, Stuttgart.
- LONGO C., 1992 - *Biologia vegetale*. UTET, Torino.
- RICCIARELLI D'ALBORE G. & PERSANO ODDO L., 1981 - *Flora apistica italiana*. Istituto Sperimentale per la zoologia agraria. Ristampa a cura della Federazione Apicoltori Italiani. Roma.