

3. SCHEDE DI LABORATORIO

3.1 Tecniche speciali di preparazione dei campioni vegetali

3.1.a Sezioni manuali di organi vegetali

I tessuti vegetali abbastanza duri, come dei rametti rigidi¹, possono essere sezionati con una lametta da barba tenendoli in mano. Bisogna usare una lametta nuova e ben pulita ed è necessario coprire un lato tagliente per evitare di tagliarsi. Si tiene il rametto nella mano sinistra come indicato in figura 1 e si fa scorrere la lametta sull'indice. La prima sezione va sempre scartata. Le prime volte si avrà paura di tagliarsi, ma con un po' di pratica e allenamento si riusciranno ad ottenere sezioni veramente sottili. Il trucco è premere sempre più la parte centrale della lametta contro il dito, in modo da abbassare sempre più lo spessore delle sezioni. Per ottenere migliori risultati vanno fatte molte sezioni in sequenza, senza mai fermarsi. La lametta va fatta scorrere con pazienza e mano ferma verso il proprio corpo, premendo appena. Bisogna ricordarsi di inumidire la superficie della lametta con etanolo al 10 % perché in questo modo le sezioni aderiranno ad essa e non si secceranno rovinandosi. L'acqua per lo scopo non basta perché tende a ritrarsi per la tensione superficiale una volta depositata sulla lametta. Le sezioni fatte non vanno toccate né con le dita né con pinzette, ma con un pennellino in pelo animale molto morbido imbevuto d'acqua e trasferite in un vetro d'orologio colmo d'acqua di fonte. Le sezioni fatte possono essere montate su vetrino e osservate direttamente altrimenti se si volesse colorarle andrebbero poste in un vetro d'orologio contenente fissativo (in genere FAA o etanolo 95°, salvo diversa indicazione).

Se si desiderano sezionare organi non sufficientemente rigidi come le foglie, queste vanno racchiuse in un mezzo rigido ma facilmente sezionabile come sughero, polistirolo, pezzi di carota o meglio, midollo di sambuco prima di essere tagliate come indicato per i rametti rigidi (fig. 2).

Sezioni longitudinali di rami possono essere ottenute senza troppe difficoltà con la lametta tenendo il campione in mano, oppure si possono includere nei mezzi sopra menzionati nella posizione desiderata (fig. 3) e tagliandoli con la lametta.

3.1.b Sezioni di organi vegetali con microtomo a mano

I vegetali possono essere sezionati anche con l'ausilio di un semplice microtomo a mano. Tale strumento è stato già descritto nel capitolo dedicato agli strumenti. Lo strumento può dare un certo aiuto, ma bisogna comunque allenarsi parecchio nel suo uso prima di raggiungere risultati apprezzabili. Il campione va racchiuso entro un mezzo rigido come il midollo di sambuco adattato alle dimensioni del microtomo che successivamente verrà inserito all'interno del portacampione del microtomo (fig. 4). Si stringe la vite che blocca il campione assieme al suo supporto e lo si alza con la vite posta alla base del microtomo fino a che raggiunge l'altezza del piano di taglio. Si fa scorrere il rasoio (bagnato di etanolo a 10°) senza premere sopra al disco di vetro per sezionare il vegetale. Le prime sezioni vanno scartate. Per effettuare un nuovo taglio si alza di poco il campione agendo sulla vite micrometrica e si fa un'altra sezione con il rasoio e così via anche per le altre. Le fette vanno tolte con l'ausilio del solito pennello morbido e trattate come nel caso delle sezioni manuali.

Nel caso del microtomo "artigianale" costruito seguendo le indicazioni riportate nel primo capitolo le modalità di inserimento del campione nel corpo del microtomo sono leggermente diverse, ma il principio di funzionamento è il medesimo. Si inserisce il campione assieme al suo supporto nel cilindro del microtomo e si avvita il bullone fino a che ne esca un pezzettino. Con il metodo già spiegato in precedenza si effettua il taglio tramite rasoio. Per effettuare le sezioni successive si avvita appena il bullone e si taglia nuovamente con il rasoio. Dopo numerosi tentativi si potrà intuire di quanto occorre avvitarlo per ottenere sezioni sottili.

3.1.c Fissativi per botanica

I principali fissativi usati per i campioni vegetali sono:

- 1) FAA (Formalina – Acido acetico – Alcool etilico): viene usato soprattutto per fissare tessuti legnosi. Per la pratica microscopica vengono utilizzate due formule del fissativo, delle quali una viene adoperata per il materiale normale, e l'altra, che contiene una maggior percentuale di etanolo, per il materiale resinoso. Questo fissativo è il più utilizzato perché è stabile, non ha una tossicità estremamente elevata, è facile da

¹ Duri ma non troppo! Con questo metodo si riescono ad ottenere sezioni sottili solo con rametti dal diametro massimo di 4 o 5 millimetri. Tessuti eccessivamente lignificati sono impossibili da sezionare solo con l'ausilio di una lametta.

usare e penetra bene nel tessuto. Non va usato su tessuti e cellule molto delicate, ad esempio non per i pollini. Il fissativo FAA viene adoperato anche per fissare insetti e crostacei.

- 2) Etanolo 95°: è un fissativo grezzo e non va adoperato per tessuti molto delicati. Può essere usato al posto dell' FAA per fissare sezioni di rametti o foglie che riescano a sopportarlo. Purtroppo però alcune piante non riescono a sopportarlo e le sezioni si rovinano e si dissolvono. Un esempio sono le sezioni fatte dai fusticini giovani del fagiolo.
- 3) Clark: è il fissativo più forte in assoluto e viene usato solo per osservare i cromosomi tramite preparati per schiacciamento. E' composto da etanolo e acido acetico glaciale.

3.1.d Inclusione in paraffina di tessuti vegetali

Certi tessuti vegetali particolarmente sottili e delicati possono essere inclusi in blocchetti di paraffina per essere resi idonei al taglio. Foglie, germogli, petali di fiori, radici e rametti estremamente sottili possono essere induriti e ispessiti artificialmente tramite inclusione in paraffina prima del taglio. Il procedimento è piuttosto complesso e lungo ed è lo stesso che viene applicato per effettuare sezioni di organi animali molli (cfr cap. 7). A differenza del metodo usato per gli animali le soluzioni adoperate per la fissazione saranno diverse, come pure le modalità di colorazione.

E' necessario dare alcune indicazioni per il taglio di campioni inclusi in paraffina tramite microtomi a mano. Per poter tagliare correttamente un campione incluso occorre innanzitutto adattare il blocchetto di paraffina al portacampione del microtomo. Bisogna adattare il blocchetto di modo che la superficie sia più piana e regolare possibile, e il pezzo incluso non deve risultare storto. Se si tagliasse male il blocchetto la sezione che ne deriverà sarà obliqua.