

L'ESTUDI DE LA CÈL·LULA

HISTÒRIA
DE LA MICROSCÒPIA
ÒPTICA

PREPARACIÓ
DE LES MOSTRES

TIPUS
DE MICROSCOPIS

en microscòpia òptica

que treballen amb

en microscòpia electrònica

llum visible

flux d'electrons

altres radiacions

- microscopi òptic
- microscopi de polarització
- microscopi de contrast de fases
- microscopi de contrast interferencial
- microscopi de fluorescència
- microscopi confocal

- microscopi electrònic de transmissió
- microscopi electrònic de rastreig

- microscopi de radiació infraroja
- microscopi de radiació ultraviolada
- microscopi de raigs X
- microscopi d'efecte túnel
- microscopi de força atòmica

TEORIA CEL·LULAR

VISIÓ HISTÒRICA

TIPUS DE CÈL·LULES

FORMA I GRANDÀRIA
CEL·LULARS

procariontes

eucariotes

UNITAT 4

L'ESTUDI DE LA CÈL·LULA I LA TEORIA CEL·LULAR

SUMARI

► Contingut

- Història de la microscòpia òptica
- Preparació de les mostres
- Tipus de microscopis
- Teoria cel·lular: visió històrica
- Tipus de cèl·lules
- Forma i grandària cel·lulars

► Lectura

- Laboratori científic

► Resum

► Autoavaluació

El coneixement de la cèl·lula s'ha desenvolupat gràcies a diferents tècniques que n'han permès l'observació morfològica i la manipulació experimental.

Històricament, l'estudi de les cèl·lules ha estat principalment morfològic, descrivint les diverses formes cel·lulars a mesura que s'han anat perfeccionant els sistemes d'observació. Aquesta descripció morfològica ha seguit els passos següents: observació de cèl·lules mortes, tinció de cèl·lules mortes, observació de cèl·lules vives o cultius cel·lulars i observació d'estructures intracel·lulars.

Paral·lelament al perfeccionament dels sistemes d'observació, s'han millorat les tècniques químiques i bioquímiques. Així, han estat clau en citologia la

cromatografia i l'electroforesi en general, el marcatge isotòpic i l'espectrògraf de masses, la centrifugació i ultracentrifugació, la tecnologia de l'ADN recombinant, etc.

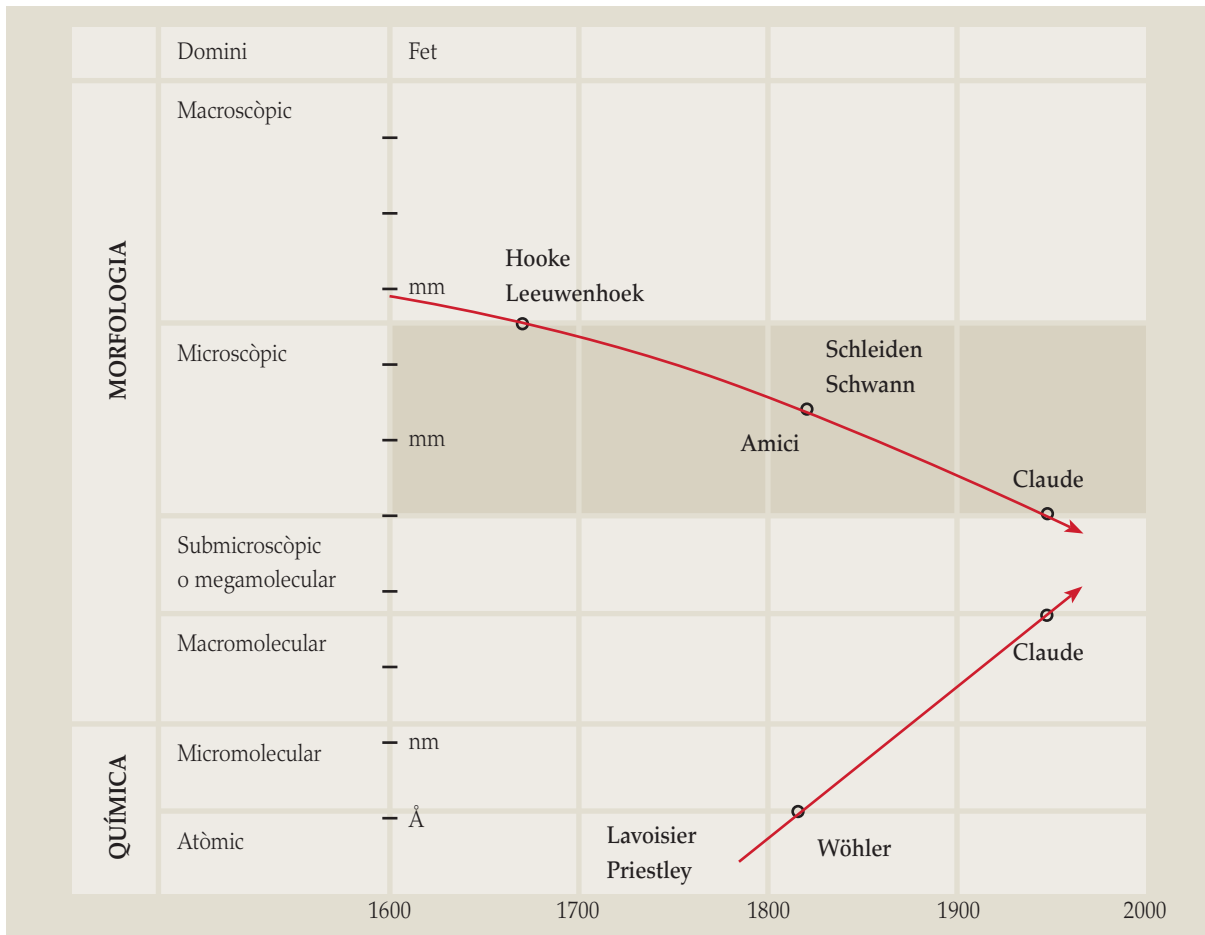
Per tant, l'estudi i el coneixement de les cèl·lules s'han desenvolupat i es continuen desenvolupant a partir de dues aproximacions diferents:

- L'observació cel·lular fins als límits del poder de resolució dels aparells òptics disponibles.
- L'estudi químic molecular de les cèl·lules, des de les molècules més petites fins a les macromolècules.

La interacció d'aquestes dues aproximacions ha permès el desenvolupament d'una nova ciència, la biologia molecular.

PROGRÉS DE LA MORFOLOGIA I DE LA QUÍMICA

Aquest diagrama mostra el progrés de la morfologia en la resolució d'objectes d'una mida cada vegada més petita, i el progrés de la química en la caracterització de molècules cada vegada més grans.



1. Història de la microscòpia òptica

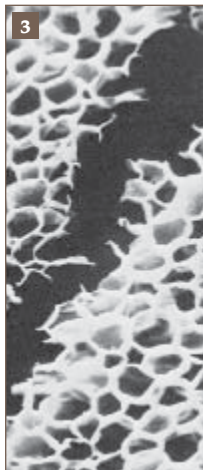
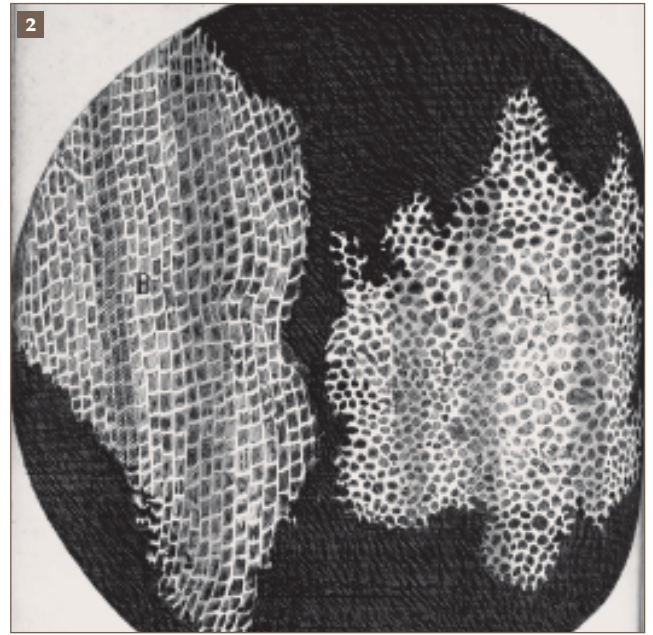
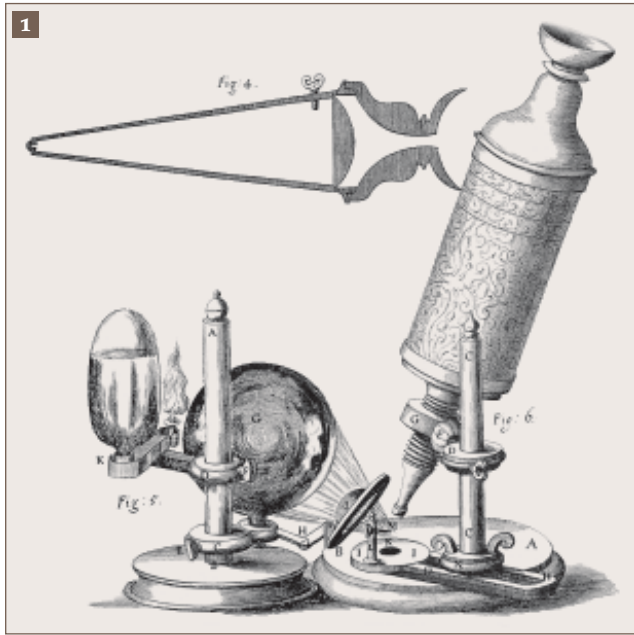
Les primeres observacions cel·lulars es van dur a terme fa aproximadament 350 anys. El 1608, Zacharias Janssen va construir un primer microscopi; el 1611, Johannes Kepler va suggerir la manera de construir un **microscopi compost**, i el 1655, Robert Hooke va publicar un recull de dibuixos titulat *Micrographia*, en què descriu les observacions microscòpiques que va fer amb el primer microscopi construït per ell mateix. Aquestes primeres observacions van ser d'un tall d'un tros de suro. Robert Hooke va anomenar *cel·lula* cada petit porus microscòpic que va observar.

Així, doncs, el mot *cel·lula* es va fer servir per indicar una part petita, tancada; de fet, és lògic si pensem que és el diminutiu de *cel·la* ('habitació').

Antonie van Leeuwenhoek, contemporani de Hooke, és considerat el pare de la microbiologia ja que va ser el pri-

mer d'observar diversos microorganismes i cèl·lules mitjançant microscopis rudimentaris que ell mateix construïa. Al llarg de la seva vida va dissenyar més de 200 microscopis molt especials, que en realitat eren lupes. Aquests microscopis consistien en una placa de coure en la qual hi havia una perla de vidre, de manera que els objectes s'observaven a través d'aquesta perla. Cada objecte s'enganxava amb una agulla perquè no es mogués. Gràcies a aquests microscopis, amb els quals s'aconseguí fins a 270 augments, Leeuwenhoek va poder fer bones observacions de sang, esperma, aigua de pantans i de llacunes, i va ser el primer que va descriure organismes unicel·lulars (protozoos i bacteris).

S'ha de dir que no tots els observadors descrivien les cèl·lules correctament. La gran majoria descrivia dins les cèl·lules allò que volia veure. Així, es va arribar a dibuixar i a descriure un nen totalment format dins un espermatozoide.



1) Microscopi de Robert Hooke tal com ell mateix el va dibuixar en *Micrographia*. 2) Dibuix de R. Hooke de l'estructura del suro vist en el microscopi. Cada cavitat és una cel·la. 3) Fotografia feta amb un microscopi electrònic de rastreig d'una mostra de suro. 4) Microscopi de Leeuwenhoek. Els objectes estaven enganxats amb una agulla i s'observaven amb una perla de vidre.

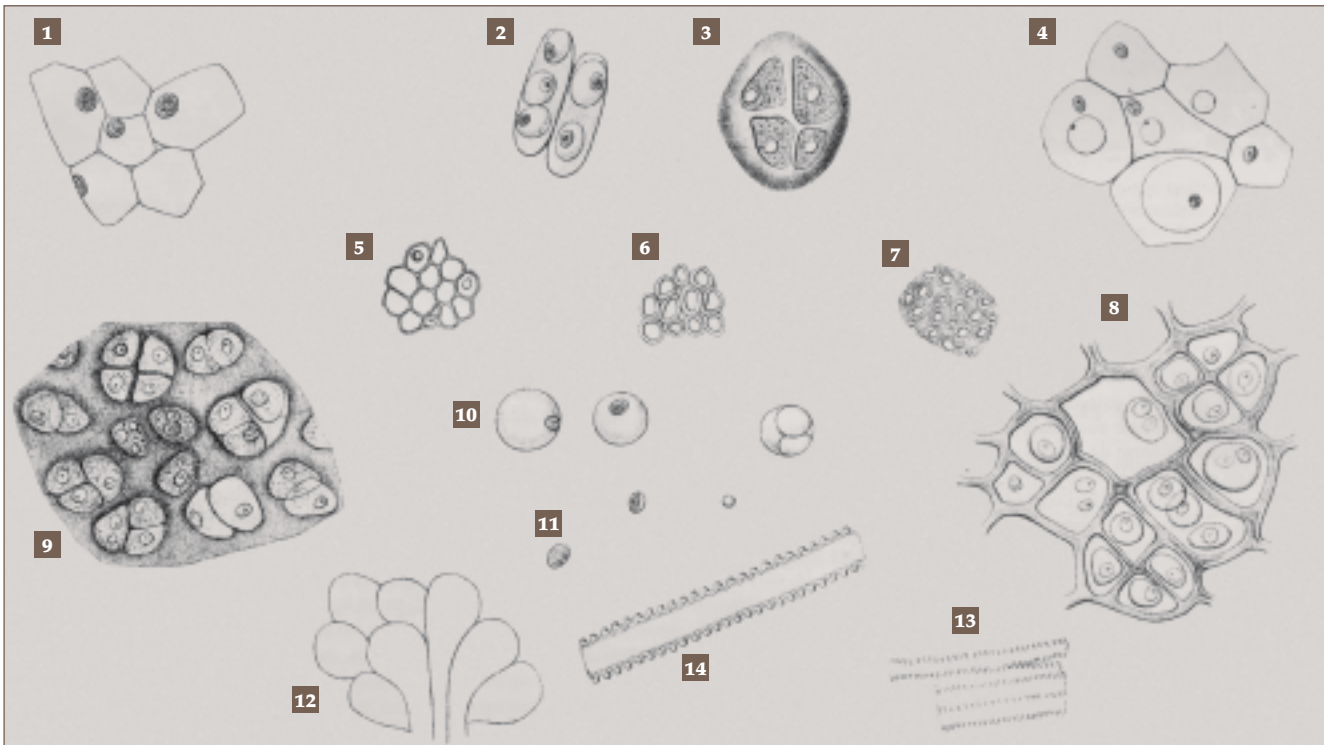
Els microscopis construïts fins aleshores no sols havien aconseguit augmentar la imatge de l'objecte que es volia observar, sinó també dotar l'ull humà de més **poder de resolució**, és a dir, de més poder per veure separats dos punts que estan situats molt a la vora l'un de l'altre. Però els objectius d'aquest tipus de microscopi presentaven dos grans problemes: aberracions esfèriques i aberracions cromàtiques.

Aquestes anomalies consistien en el fet que la imatge formada a través de l'objectiu presentava una aurèola borrosa que impedia definir el contorn de l'objecte observat (**aberració esfèrica**), i, també, una difuminació dels colors de l'arc de Sant Martí al seu voltant (**aberració cromàtica**).

Aquestes aberracions, les va corregir primer l'astrònom italià Giovanni Battista Amici, al començament del segle XIX, i després el físic alemany Ernst Abbe, amb la construcció del primer objectiu que resolvia aquestes anomalies (**objectiu apocromàtic**).



Microscopi del s. XVIII conservat al Museu d'Arts i Oficis de París.



Dibuixos de Theodor Schwann corresponents a diferents tipus de cèl·lules. Els dibuixos 1, 2, 3 i 14 són de cèl·lules vegetals, i els altres, de cèl·lules animals.

Al final del segle XIX s'havien descrit molts tipus de teixits i, a més, Robert Brown (1833) va descriure clarament el nucli cel·lular; Rudolf Albert von Köllinger (1857), els mitocondris de les cèl·lules musculars; Alexander Flemming (1879), el comportament dels cromosomes durant el procés de mitosi de les cèl·lules animals; Robert Koch (1882) va identificar els bacteris causants de la tuberculosi i el còlera, i Camillo Golgi (1898) va descriure per primera vegada l'anomenat *aparell de Golgi* impregnant les cèl·lules amb nitrat de plata. Altres científics com Edwin Klebs, Santiago Ramón y Cajal o Louis Pasteur van aconseguir donar un impuls constant i decidit a les tècniques de microscòpia.

Ja el 1835, Matthias Jakob Schleiden i Theodor Schwann van proposar l'anomenada **teoria cel·lular**, que explicarem més endavant.

La microscòpia com a tècnica i la citologia com a ciència avançaven paral·lelament gràcies a la millora constant dels aparells òptics i a l'ús de colorants per tenyir i ressaltar les cèl·lules.

2. Preparació de les mostres

El material biològic necessita, en la majoria dels casos, una preparació prèvia per observar-se als microscopis òptic i electrònic. Aquesta preparació suposa una sèrie de manipulacions per poder transformar un material que és transparent a les radiacions en un material fàcilment observable.

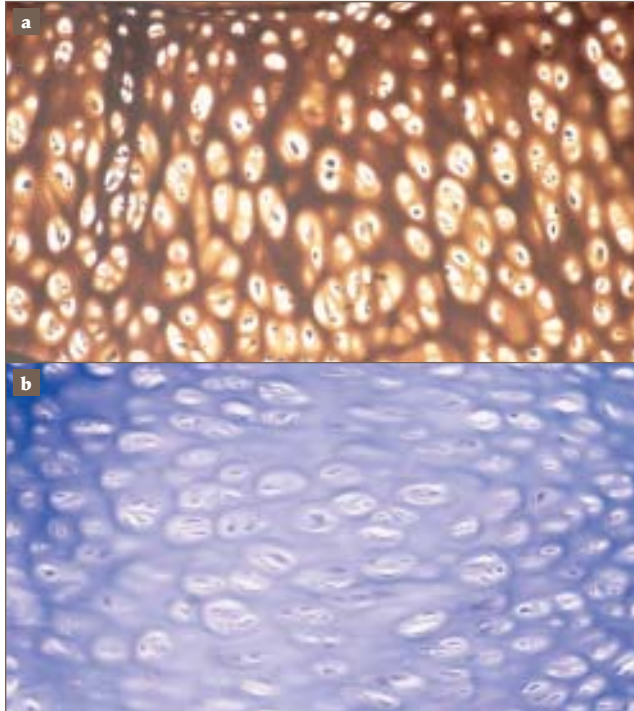
2.1 Preparacions per al microscopi òptic

Una de les primeres tècniques utilitzades va ser la **tinció del material** amb colorants orgànics. Aquesta tècnica s'ha anat perfeccionant fins a la utilització de colorants específics; per exemple, colorants del material nuclear o colorants de membrana. Així, una mateixa cèl·lula es pot tenyir amb diferents colorants per distingir-ne les diverses estructures.

Actualment per tenyir es fan servir reactius, com ara enzims, que en reaccionar amb el seu substrat formen un producte acolorit.

ACTIVITATS

- 1 Fes una taula en què apareguin, per ordre cronològic, els següents esdeveniments: objectiu apocromàtic, descripció del nucli cel·lular, observació de cel·les del suro amb el microscopi, microscopis amb perla de vidre.
- 2 Busca informació sobre la vida i els invents de Robert Hooke i d'Antonie van Leeuwenhoek.



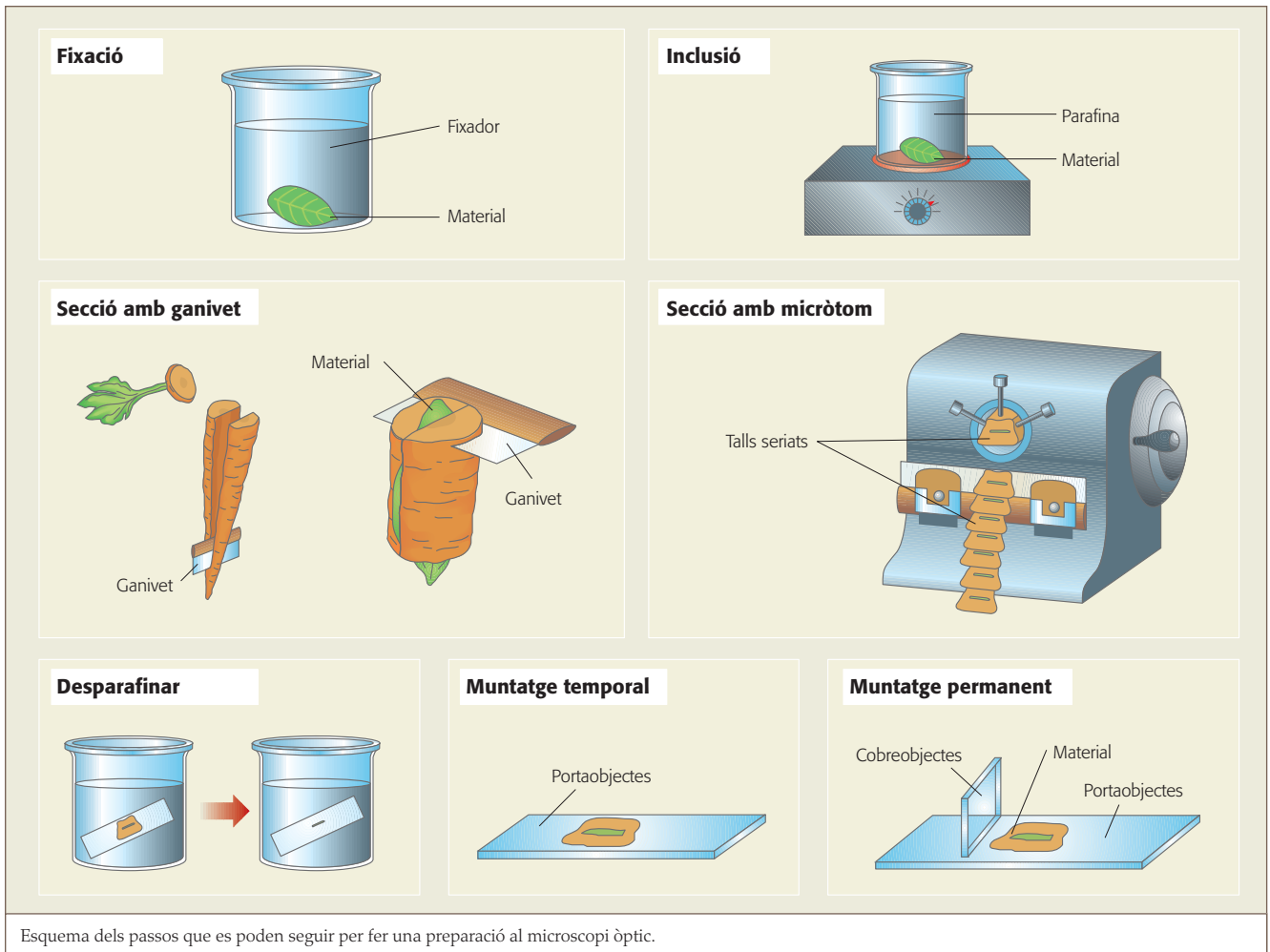
Dues preparacions diferents de cartílag de l'orella: tinció amb nitrat de plata (a) i tinció amb Mallory (b)

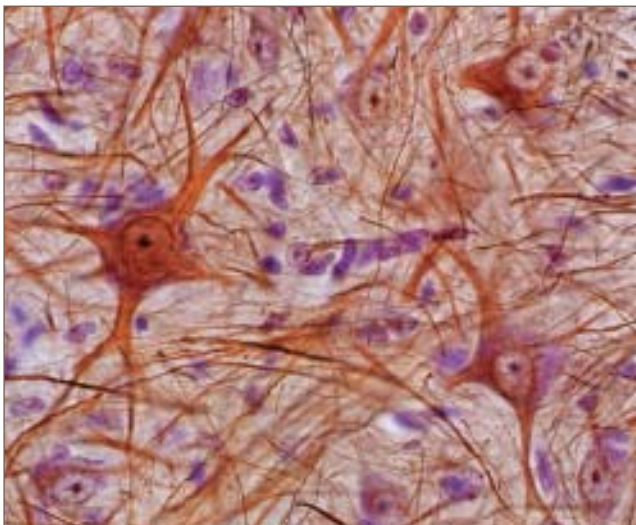
Abans de la tinció, molts materials biològics s'han de fixar per impedir-ne el deteriorament i per facilitar-ne la impregnació amb el colorant.

Si els teixits o les estructures que es volen observar són massa gruixuts, cal fer-ne seccions. Les seccions s'obtenen amb l'ajut d'un aparell anomenat *micròtom*, i cal que facin d'1 a 10 µm per poder-les observar al microscopi òptic.

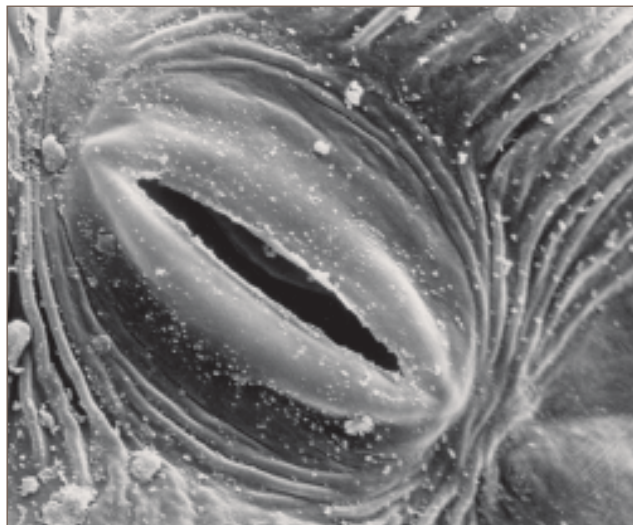
Sovint, però, el material és massa tou perquè es pugui tallar i llavors caldrà fer una inclusió. Una inclusió consisteix a introduir rigidesa al material, sigui incloent-lo en altres (per exemple, dins de parafina fosa per tal que, en refredar-se, aquesta doni consistència al material biològic) o congelant-lo.

Algunes d'aquestes tècniques poden causar distorsions a les cèl·lules, com ara artefactes provocats per la precipitació de colorants, que poden dur a conclusions errònies. Per evitar aquest perill es fan servir les tècniques de congelació. Una congelació ràpida estalvia la fixació i la inclusió, tot i que es necessita un micròtom especial (criòstat) i, aleshores, té l'inconvenient que cal treballar en condicions de congelació durant tot el procés.





Preparació cel·lular, en què es pot veure un detall d'una neurona al microscopi òptic.



Preparació vista al microscopi electrònic de rastreig d'un estoma obert de fulla de favera.

El darrer pas en la preparació de les mostres consisteix en el muntatge. El muntatge de la preparació pot ser permanent o temporal. És permanent si volem mantenir la preparació durant un temps indefinit, i és temporal si només es vol observar la mostra una vegada. El medi de muntatge ha de ser d'un índex de refracció adequat per a cada mostra, a fi d'obtenir el millor contrast a l'hora de l'observació microscòpica. Depenent del tipus de material que s'ha d'observar, el muntatge es fa en un medi hidrosoluble (glicerina, goma aràbiga, gelatina glicerínada) o no hidrosoluble (bàlsam del Canadà), i després s'enganxa el cobreobjectes i el portaobjectes amb una laca si és que es vol una preparació permanent. De vegades és interessant fer el muntatge a l'aire o a l'aigua directament, com per exemple quan es volen estudiar cèl·lules vives.

2.2 Preparacions per al microscopi electrònic

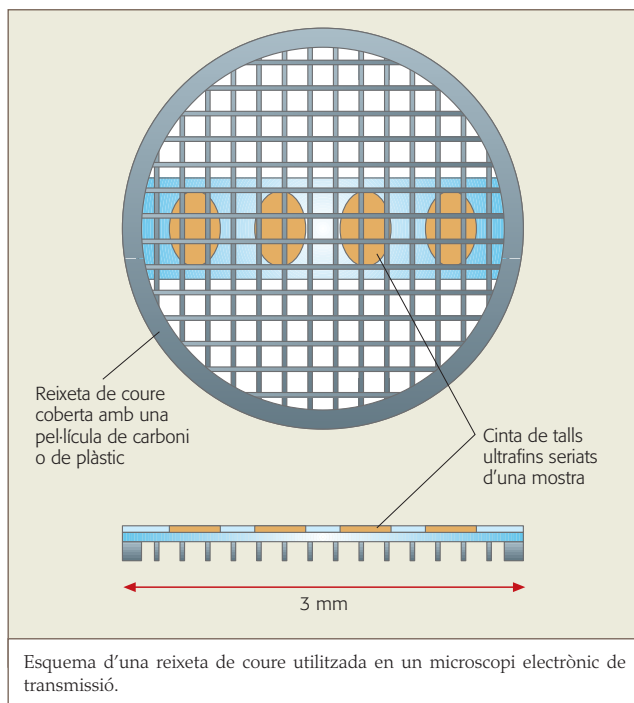
La preparació de les mostres per al microscopi electrònic és complexa. Cada mostra ha de passar per un procés de preparació molt llarg abans de ser observada. A més a més, no hi podem observar material viu.

Primer de tot cal fixar la preparació amb un agent que estabilitzi bàsicament les proteïnes i els lípids, perquè no s'alterin a conseqüència de treballar en el buit. Els fixadors solen ser el glutaraldehid i el tetròxid d'osmi. Un cop fixada la mostra s'han de fer seccions d'entre 50 i 100 nm de gruix (aproximadament, 1/200 del gruix d'una cèl·lula), ja que els electrons tenen un poder de penetració molt baix. Per poder fer talls ultrafins cal infiltrar resina a la mostra. La fulla de tallar és de diamant o de vidre. Els talls d'una mostra es fan seriat i es van col·locant sobre un portaobjectes especial que consisteix en una reixeta de coure de 3 mm de diàmetre i, a proxi-

madament, de 50 o 100 μm de gruix. La reixeta té els 2 mm centrals amb perforacions (més o menys, seixanta-quatre perforacions per mil·límetre).

Quan s'ha col·locat l'objecte cal cobrir-lo amb un metall pesant, generalment or, plom o urani, ja que el material biològic està format per àtoms (C, H, N i O) amb un pes molecular baix i apareixeria amb poc contrast. Els metalls pesants augmenten el contrast als electrons.

La visualització de les imatges no es fa de manera directa, sinó que es duu a terme per mitjà d'una pantalla fluorescent o bé amb fotografies. Generalment se selecciona la imatge escollida amb la pantalla fluorescent i després es fotografia.



Esquema d'una reixeta de coure utilitzada en un microscopi electrònic de transmissió.

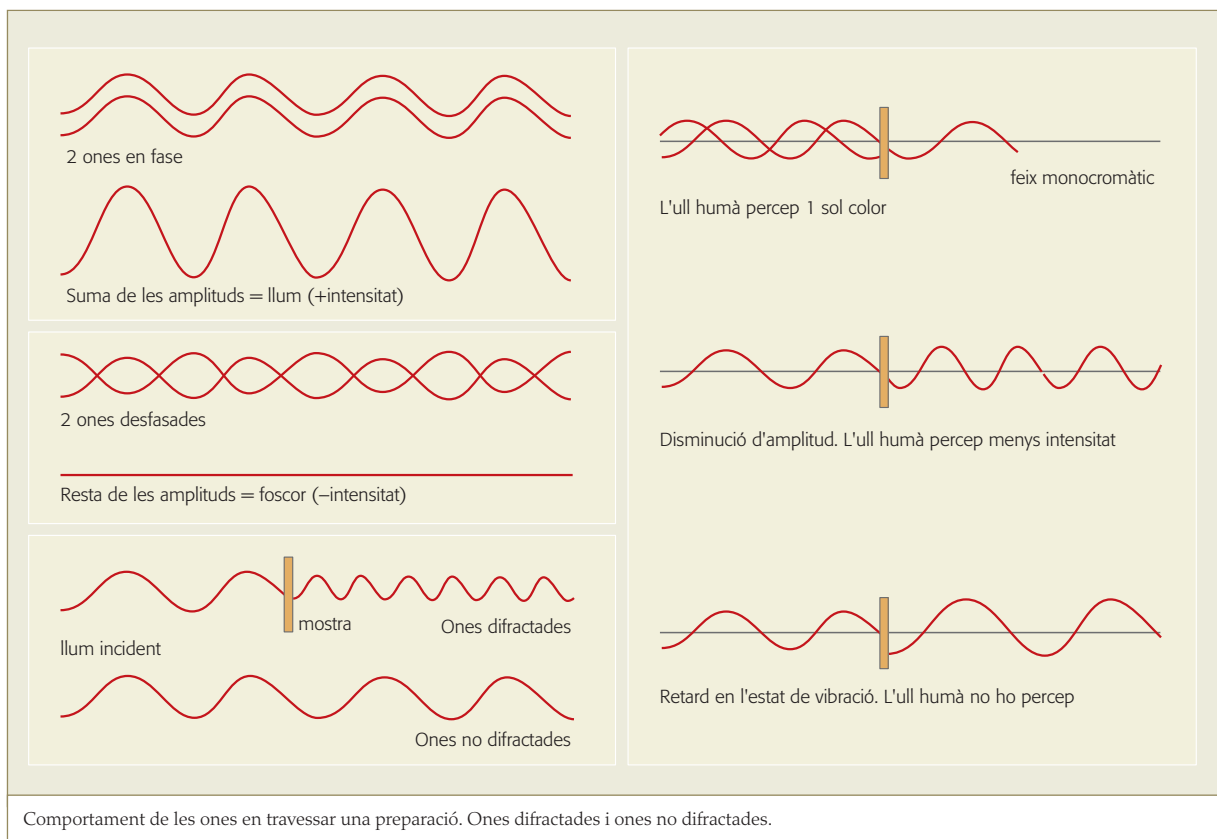
UNA MICA D'ÒPTICA

Com és sabut, la visualització d'objectes a través del microscopi es deu a la interacció de les ones lluminoses amb l'objecte que es vol observar; aquesta interacció s'anomena **difracció**. La difracció suposa que les ones lluminoses experimenten una desviació o pertorbació quan travessen l'objecte. Les ones que no interaccionen amb l'objecte s'anomenen no difractades. Com més gran és l'objecte que es vol observar, més pertorbació causa en les ones lluminoses que el travessen i, per tant, més difracció. La imatge final de l'objecte s'obté a partir de la interferència de les ones difractades i les no difractades.

Arriba un moment en què, si l'objecte és molt petit, no resulta interferit per les ones lluminoses perquè la

longitud d'ona de la llum utilitzada és massa gran i, per tant, es fa invisible. Així, doncs, cal disminuir la longitud d'ona de la llum utilitzada per poder observar els objectes més petits.

Segons la longitud d'ona i el medi on es propaga, varia el **poder de resolució** del microscopi. Com més petita és la longitud d'ona, més gran és el poder de resolució del microscopi. Així, el poder de resolució màxim que podem obtenir amb un microscopi òptic és de $0,2 \mu\text{m}$. Els objectes que arriben pràcticament al poder de resolució del microscopi òptic són els bacteris i mitocondris, que mesuren més o menys 500 nm ($0,5 \mu\text{m}$). Aquest límit del poder de resolució, ja el van obtenir al final del segle XIX els fabricants de microscopis.



ACTIVITATS

3 Ordena els següents passos cronològicament per obtenir una preparació permanent al microscopi:

- | | | |
|-------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| a) tinció de la mostra | c) fixació | e) secció |
| b) inclusió en parafina | d) muntatge amb bàlsam del Canadà | f) obtenció de la mostra |

4 Explica els passos que s'haurien de seguir per obtenir una preparació de tija de julivert per observar al microscopi òptic.

3. Tipus de microscopis

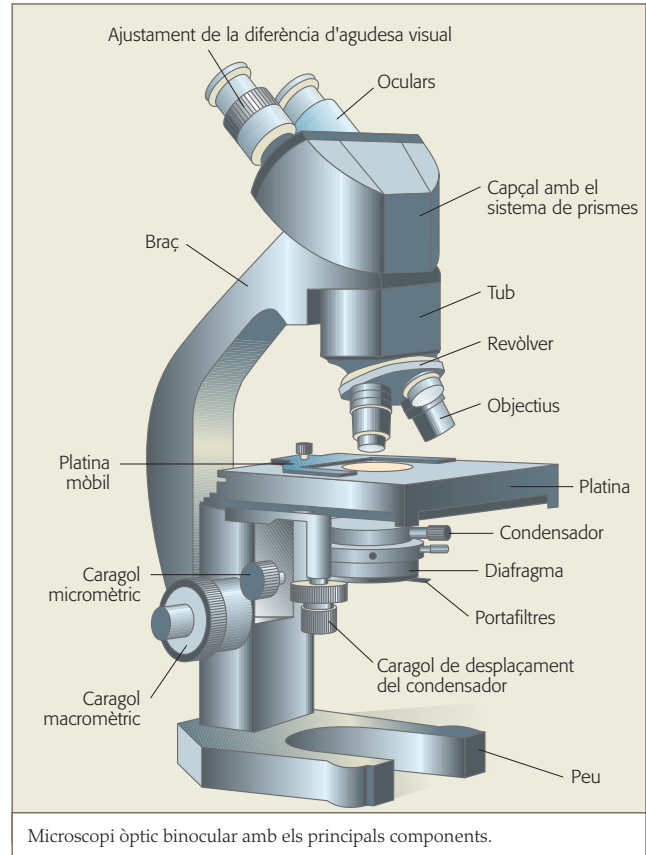
Podem classificar els diferents tipus de microscopis en: microscopis que treballen amb llum visible, microscopis electrònics i microscopis que funcionen amb altres tipus d'ones.

Dins el primer grup cal esmentar els microscopis òptics tradicionals, els de polarització, els de contrast de fase, els de contrast interferencial, els de fluorescència i els confocals.

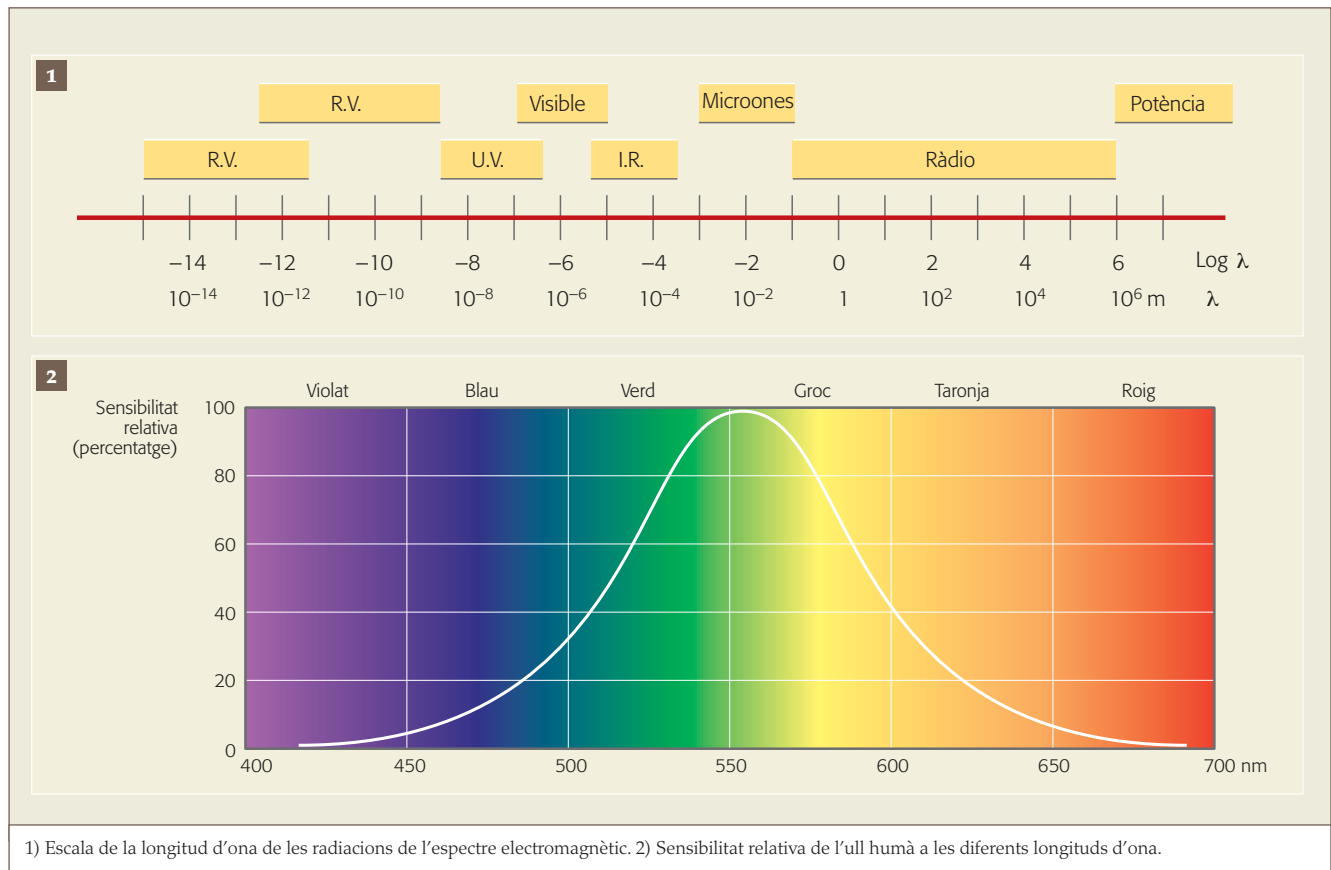
Com a microscopis electrònics cal indicar el microscopi electrònic de transmissió i el microscopi electrònic de rastreig (*scanning*). Dins els que funcionen amb altres tipus d'ones cal esmentar el microscopi de radiació ultraviolada, el de raigs X, l'acústic, el d'efecte túnel i el de força atòmica.

3.1 Microscopis que treballen amb llum visible

El **microscopi òptic tradicional** està format per tres grups de lents (ocular, objectiu i condensador), utilitza les radiacions electromagnètiques de la zona del visible com a font d'il·luminació i permet observar estructures vitals o bé preparacions no vives. El poder de resolució màxim que podem obtenir amb aquests microscopis és de $0,2 \mu\text{m}$. Hem de recordar que és indispensable que el material que es vol observar sigui transparent, ja que la llum ha de travessar la preparació.



Microscopi òptic binocular amb els principals components.



El **microscopi de polarització** és molt usat en el camp de la mineralogia, però també és útil per poder observar totes aquelles estructures biològiques en què es preveu que el material presenti una certa ordenació, com, per exemple: parets de cel·lulosa, fibres musculars o, fins i tot, en casos d'interès clínic, per detectar la presència de minerals en els teixits.

Aquest microscopi és en realitat un microscopi òptic en què s'intercalen dues làmines polaritzadores (el polaritzador i l'analitzador) que seleccionen un únic pla de vibració de la llum (**llum polaritzada**). El polaritzador està situat després de la font lluminosa (generalment, en el lloc del suport dels filtres) i l'analitzador està situat sobre l'ocular.

Les dues làmines polaritzadores poden estar col·locades perpendicularment o paral·lelament l'una respecte de l'altra. En el primer cas, el camp visual apareix fosc quan no hi ha cap preparació, i en el segon, apareix clar. Només les preparacions de mostres que presenten **birefringència** (divideixen un raig incident en dos raigs refractats) es poden observar en tots dos casos.

El **microscopi de contrast de fases** és molt útil per observar preparacions vives (que no es poden tenyir), les quals presenten molt poc contrast en les seves estructures. Aquest tipus de microscopi òptic fou inventat pel físic neerlandès Frederik Zernike el 1932.

L'ull humà només és capaç de percebre canvis d'intensitat o canvis cromàtics de les ones lluminoses que corresponen, respectivament, a canvis d'amplitud o de longitud d'ona. Però, en canvi, no pot percebre canvis de fase. (Vegeu els esquemes de la pàgina anterior).

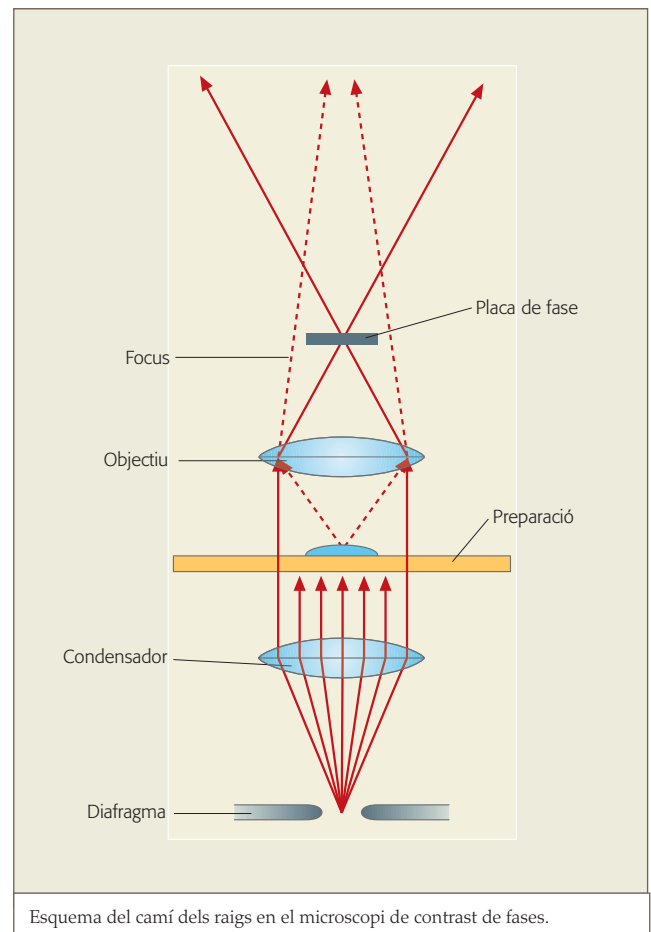
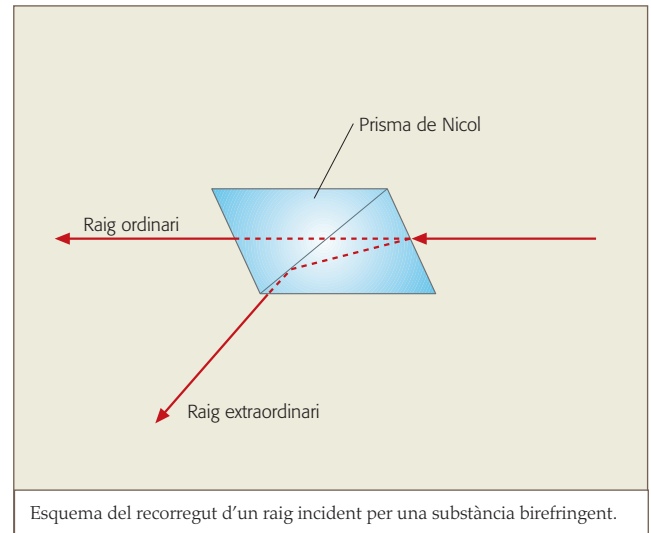
Dues ones poden arribar en fase o desfasades a la mateixa preparació, la qual cosa implica sumar-ne o restar-ne l'amplitud i, per tant, augmentar-ne o disminuir-ne, respectivament, la intensitat.

Un material és molt transparent perquè absorbeix molt poc, és a dir, no es redueix l'amplitud d'ona; però les ones que el travessen experimenten un desfasament.

El microscopi de contrast de fases transforma les diferències de fase (invisibles per l'ull humà) en diferències d'amplitud (perceptibles com a diferències d'intensitat), intercalant una placa de fase en l'objectiu.

La placa de fase modifica la fase de les ones disperses per la preparació, de manera que l'observador veu la imatge contrastada. Això és degut al fet que la interferència entre les ones disperses i les no disperses es manifesta com a diferències d'intensitat, ja que s'han sumat o restat les fases de les diferents ones.

El **microscopi de contrast interferencial** es basa en el mateix fenomen anterior: fenòmens d'interferència a fi de transformar les diferències de fase en diferències d'amplitud. No fa servir, però, plaques de fase. En aquest cas se separen les radiacions provinents del condensador, de manera que un feix travessi la preparació i l'altre no. En recombinar-se, els dos feixos lluminosos poden estar en fase o no. Així s'augmenta o es disminueix l'amplitud de l'ona resultant i, alhora, la preparació queda contrastada i es fa visible.



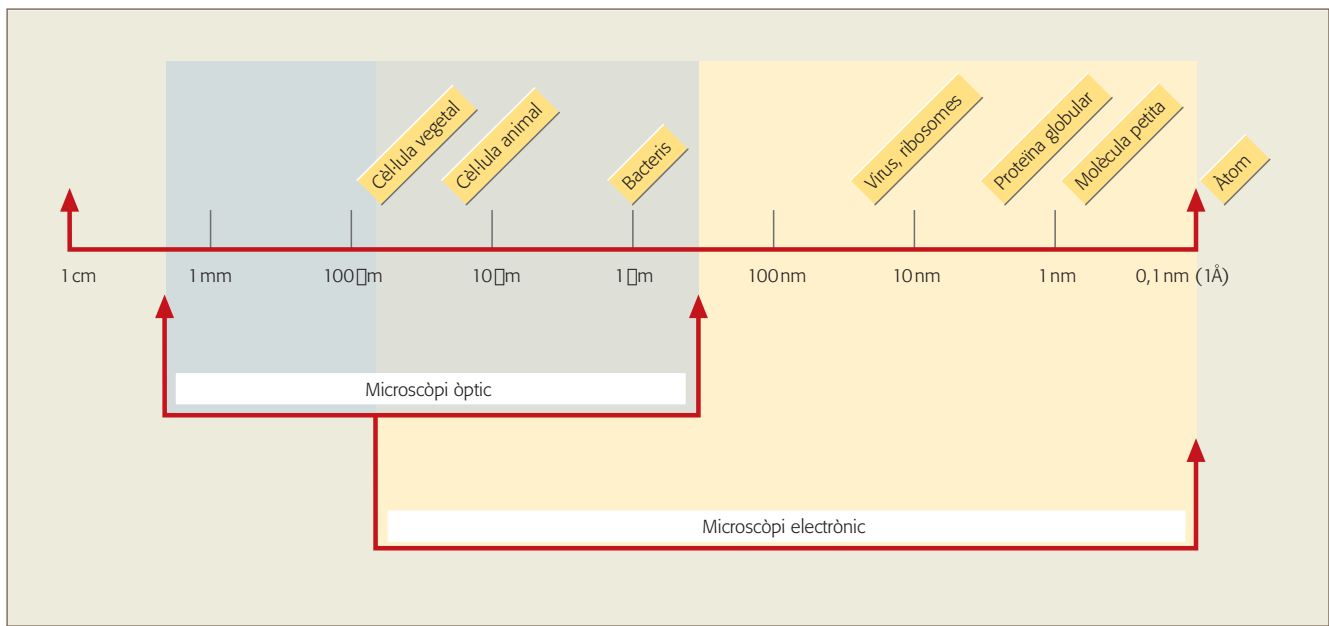
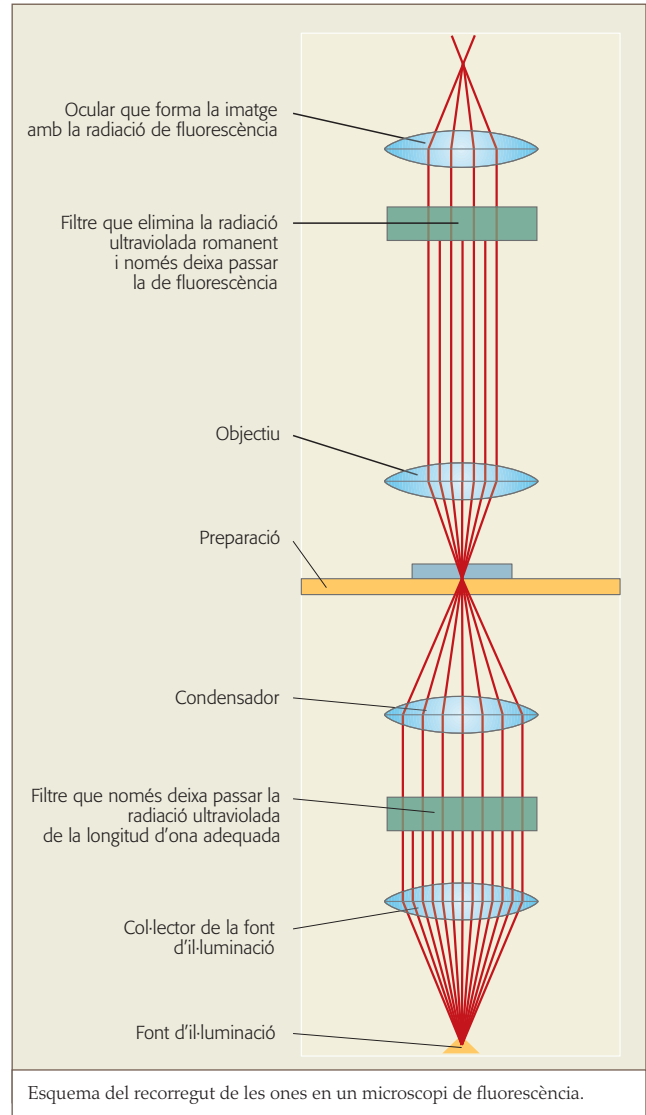
El **microscopi de fluorescència** serveix per poder observar aquelles substàncies que són fluorescents de manera natural o que tenen fluorescència perquè ha estat provocada per mitjà de colorants.

Aquest microscopi té una font lluminosa de radiació d'ona curta (normalment, 3.500\AA), que en incidir sobre la preparació genera l'emissió de radiacions de longitud d'ona més llarga i, per tant, visibles. Per exemple, si la il·luminació és amb llum blava, la llum de fluorescència serà de color verd roig.

Per treballar amb una longitud d'ona més curta, cal substituir les lents del condensador, dels objectius, del portaobjectes i del cobreobjectes, que generalment són de vidre, per unes altres de quars, ja que el vidre és opac a les radiacions ultraviolades i el quars no. Tot això encareix bastant aquests microscopis.

Si el material no és fluorescent, s'hi poden afegir substàncies colorants (anomenades *fluorocroms*), que són fluorescents. Els fluorocroms s'utilitzen per tenyir preparacions vives, perquè presenten l'avantatge de diluir-se molt més que els colorants convencionals. També s'ha demostrat que són molt específics, de manera que es pot reconèixer una substància concreta pel tipus de fluorescència que emet amb un determinat fluorocrom. Malgrat que és una tècnica moderna, Koch ja va fer servir colorants d'anilina el 1882 per tenyir microorganismes, i així va poder identificar els bacteris de la tuberculosi i el còlera.

Parlem de *fluorescència de posició* o *d'estructura* quan ens referim a la distinció dels objectes fluorescents respecte del fons, o a la distinció d'estructures a partir del color emès per fluorescència.



Comparació del poder de resolució del microscopi electrònic i del microscopi òptic.

El **microscopi confocal** va ser inventat el 1955 per Marvin Minsky, però no es va comercialitzar fins al 1988. Aquest microscopi és, de fet, un microscopi òptic, si bé es diferencia del convencional pel sistema òptic, la tècnica d'il·luminació i la recollida de la llum procedent de la mostra.

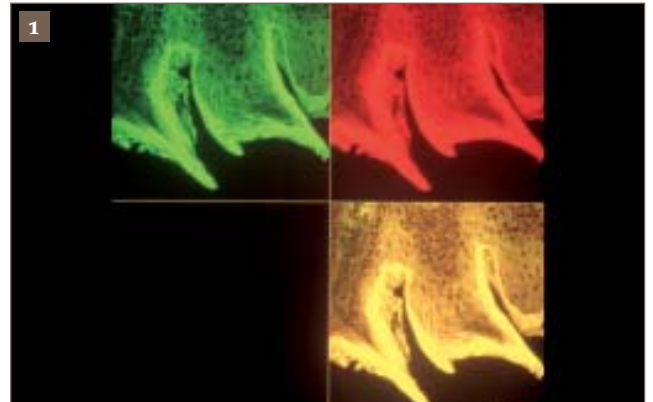
El microscopi confocal es basa en la tècnica de fer passar el feix lluminós per un objectiu que generi una radiació bicònica, i aconseguir d'aquesta manera que el focus del feix il·lumini una superfície molt petita de la mostra (aproximadament 200×200 nm); així s'intenta eliminar al màxim la dispersió lluminosa. Paral·lelament, la llum provinent de la mostra és captada íntegrament per l'ocular, amb la qual cosa s'aprofita tota la radiació reflectida i, per tant, s'aconsegueix veure el punt enfocat nítidament. El feix lluminós recorre la mostra (que pot ser de 200 micres), sigui per desplaçament mecànic de l'objecte que s'ha d'observar o bé per desplaçament del feix lluminós. Per mitjà d'un ordinador, es pot reconstruir una imatge tridimensional a partir de cada secció òptica de la mostra. És com si s'hagués seccionat la mostra a diferents nivells, però en aquest cas la dissecció es duu a terme mitjançant un feix lluminós i no amb un micròtom.

El sistema de la microscòpia confocal ha estat molt valuós per descobrir l'estructura del sistema nerviós, i ara es fa servir

tant per observar embrions com per observar cèl·lules o nuclis cel·lulars. Actualment hi ha dotzenes de tipus diferents de microscopis confocals: els més usats per a la reconstrucció tridimensional són els microscopis confocals de fluorescència.

3.2 Microscòpia electrònica

La microscòpia electrònica neix com una de les aplicacions de la teoria quàntica, en què per primera vegada s'anuncia que tota partícula en moviment s'associa sempre a una ona. De fet, l'ona esdevé visible quan la velocitat de les partícules és molt elevada.



2

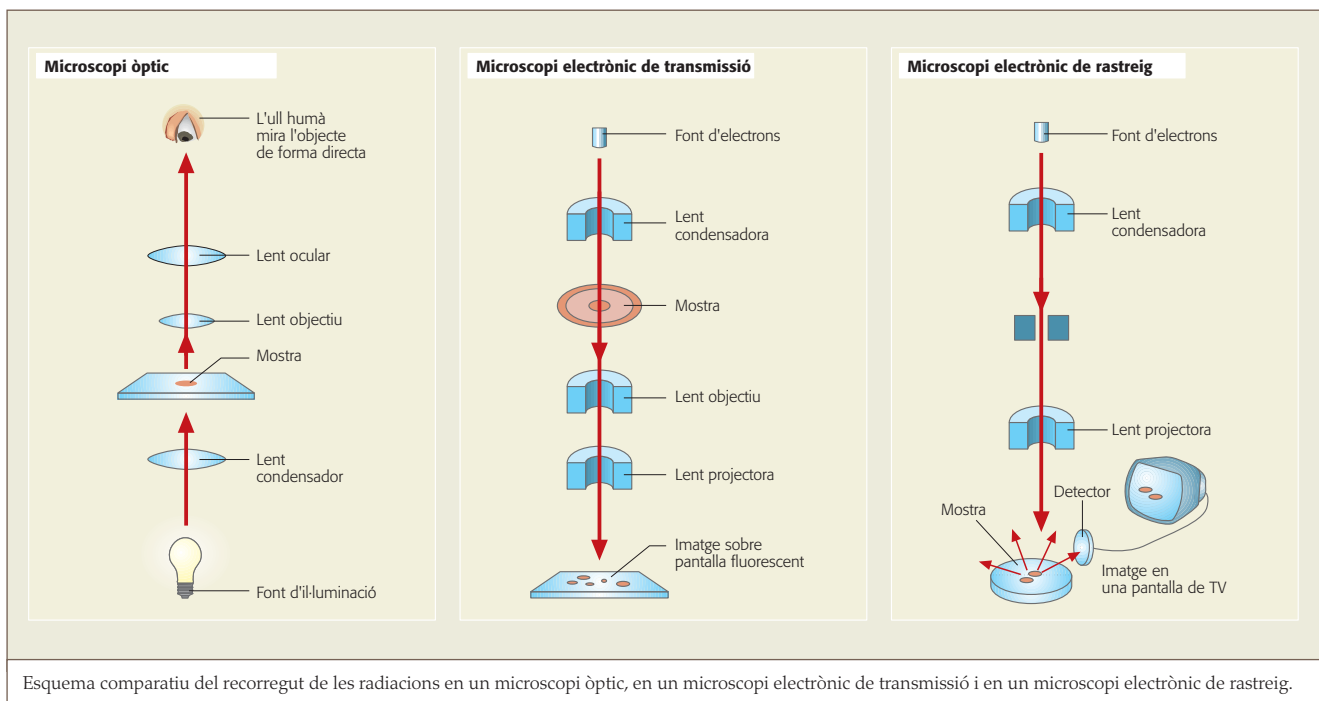
a

b

c

1) Papil·les linguals vistes amb un microscopi confocal. 2) Microscopis de recerca: microscopi òptic de recerca (a), microscopi electrònic de transmissió (b), microscopi electrònic de rastreig (c).

[69]



Els electrons són les partícules que es mouen i aconseguen una velocitat igual a la tercera part de la velocitat de la llum. La longitud de l'ona associada pot arribar a ser de 0,5 nm, i el poder de resolució, de 20 nm. Així, doncs, en augmentar la velocitat de la partícula, disminueix la longitud d'ona de l'ona associada i augmenta el poder de resolució.

Els microscopis electrònics contenen, bàsicament, els mateixos elements que els microscopis òptics, però el material de què estan fets és del tot diferent.

La font d'il·luminació consisteix en un feix d'electrons accelerats, que s'aconsegueixen mitjançant una diferència de potencial en el mateix microscopi. Les lents poden ser electrostàtiques o electromagnètiques i generen, respectivament, un camp elèctric o un camp magnètic per on es mouen els electrons. D'aquesta manera, aquests provoquen un flux electrònic que incidirà sobre la mostra. Els electrons viatgen en el buit. Pel que fa a la nomenclatura, és la mateixa en les lents condensadores i en les lents objectius, encara que no estiguin fetes ni de vidre, ni de quars ni de fluorita.

Hi ha diversos tipus de microscopis electrònics, que no descriurem perquè no s'han inclòs en els objectius del curs. Els principals són: microscopis de projecció puntual o microscopis d'ombra, microscopis de transmissió, microscopis de reflexió i microscopis de rastreig (en anglès, *scanning*), microscopis de transmissió i rastreig, i microscopis d'emissió.

De totes maneres, els més usats són els **microscopis de transmissió** i els **de rastreig**. La diferència bàsica entre tots dos tipus és que el de transmissió permet una major resolució de les imatges, de manera que la mostra s'ha de

seccionar en talls fins per poder-la observar i, per això, les imatges sempre són planes. En canvi, el de rastreig té un poder de resolució més petit, la qual cosa permet l'observació tridimensional de les mostres.

3.3 Microscopis que funcionen amb altres tipus d'ones

El **microscopi de radiació infraroja** és un tipus de microscopi que es fa servir per observar superfícies mitjançant la reflexió. La font d'il·luminació són les radiacions de longitud d'ona compreses entre 76.000 nm i 100.000 nm, és a dir, les de l'infraroig proper, ja que les de longitud d'ona més llarga no poden impressionar plaques fotogràfiques ni es poden recollir ni fer visibles les imatges. Malgrat que el poder de resolució és més petit a causa del tipus de font d'il·luminació, aquests microscopis són útils per observar superfícies reflectores metàl·liques, papers i fustes, i també per detectar impureses en els teixits vegetals.

Els **microscopis de radiació ultraviolada** treballen generalment amb radiacions de longitud d'ona compresa entre 24.000 nm i 40.000 nm. L'interès d'aquests microscopis està en el fet que permeten observar preparacions vitals, ja que molts òrgans cel·lulars —malgrat que són transparents a les radiacions visibles— absorbeixen la llum ultraviolada. A diferència dels microscopis de fluorescència, les preparacions no són fluorescentes. En aquests microscopis, els objectius han de ser de quars o de fluorita, i això els encareix molt. Per poder veure les imatges s'utilitzen plaques fotogràfiques, pantalles fluorescentes o sistemes de televisió complementaris. Aquests microscopis es van idear per augmentar el poder

de resolució de l'aparell, però en aquest aspecte ja han quedat superats pels electrònics.

Els **microscopis de raigs X o Röntgen** treballen amb radiació electromagnètica de longitud d'ona compresa entre 1.000 nm i 100 nm. Aquesta longitud d'ona curta permet augmentar el poder de resolució de l'aparell. L'ús principal d'aquest microscopi és la formació d'imatges per projecció a partir d'una emissió puntual d'aquestes radiacions. El més corrent és observar l'ombra de l'objecte en una pantalla quan és il·luminat per mitjà d'una font emissora de raigs X. Aquesta tècnica permet observar el perfil de l'objecte i també l'interior, ja que els raigs X tenen un gran poder de penetració.



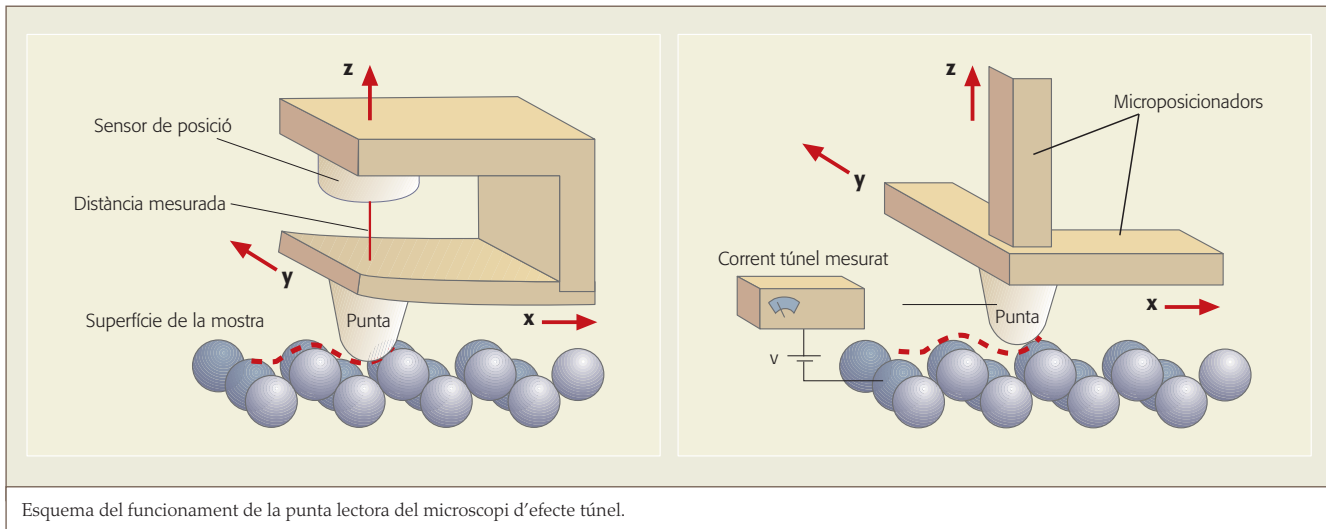
Microscopi electrònic de transmissió.

El **microscopi acústic** utilitza els ultrasons com a font d'il·luminació. Els ultrasons són radiacions mecàniques (no electromagnètiques) i necessiten un suport material per poder-se transmetre. Els microscopis acústics neixen gràcies al fet que s'han pogut obtenir ultrasons de freqüència aproximada d'1 gigahertz (mil milions d'oscil·lacions per segon), mesura que correspon a una longitud d'ona de micròmetres. La longitud d'ona s'aproxima a la de la llum visible i, per tant, el microscopi acústic té un poder de resolució semblant al del microscopi òptic. Els ultrasons ja s'havien fet servir per observar imatges en la detecció de cossos submarins, característiques estructurals de materials i òrgans interns del cos humà. Les ones reflectides per l'objecte que es vol observar són codificades en forma de senyals elèctrics i llavors s'amplien sobre una pantalla de televisió. Aquests microscopis són útils per estudiar mostres biològiques vives que no estan tenyides. Fins ara s'han observat limfòcits, fibroblasts i cromosomes, i s'espera que es podran observar directament les estructures internes de les cèl·lules.

El **microscopi d'efecte túnel** (*Scanning Tunnel Microscope*) va ser inventat per Gerd Binnig i Heinrich Rohrer el 1982. Aquest descobriment els va permetre guanyar el premi Nobel de Física del 1986. El microscopi d'efecte túnel neix com a microscopi d'alta resolució per resoldre estructures superficials que amb el microscopi electrònic no es podien resoldre, ja que els electrons, com que tenen molta energia, penetren a l'interior de la mostra i, per tant, resulta difícil obtenir imatges de superfície. El fonament físic d'aquest microscopi es basa en l'efecte quàntic (el corrent túnel), segons el qual es crea una diferència de potencial entre una punta metàl·lica molt fina i la mostra. La sonda és molt a prop de la superfície de la mostra —a menys d'un nanòmetre—, encara que no l'arriba a tocar. La imatge que se n'obté és tridimensional. Amb aquest microscopi s'han estudiat molt bé els cristalls de silici i d'or. Pel que fa a les mostres biològiques, es poden observar directament sense destruir-les. Així, s'ha visualitzat la superfície de l'ADN i s'han vist una sèrie de zig-zagues corresponents a l'estructura helicoidal d'aquesta substància; també s'ha pogut confirmar que el cap del virus 29 mesura $4.000 \times 3.000 \times 2.000$ nm.



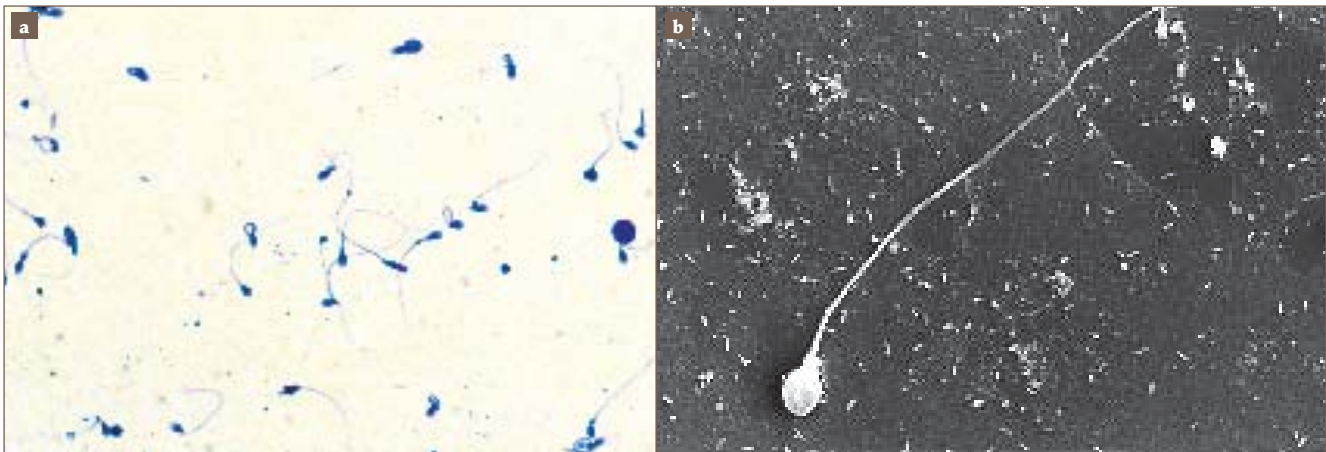
Imatges de grans de pol·len obtingudes per mitjà de plans successius amb un microscopi confocal.



El **microscopi de força atòmica** (*Atomic Force Microscope*) també el va inventar Gerd Binnig i és posterior al microscopi d'efecte túnel. El fonament físic consisteix a fer passar una sonda (monocristall amb la punta constituïda per un sol àtom) a través de la superfície de la mostra que es vol observar: però, en aquest cas, la punta de la sonda està en contacte amb la mostra. El desplaçament vertical de la punta, aleshores, és el que ens permet cartografiar topogràficament la superfície de la mostra.

Tant el microscopi d'efecte túnel com el de força atòmica han permès observar proteïnes (aproximadament una vintena), diversos ADN i altres molècules.

Sens dubte, l'avantatge que ofereixen respecte a la resta de microscopis és que permeten treballar a l'aire o en immersió (oli, aigua o solució fisiològica) i no cal un buit gaire gran. El microscopi d'efecte túnel és més adequat per a materials conductors o semiconductors.



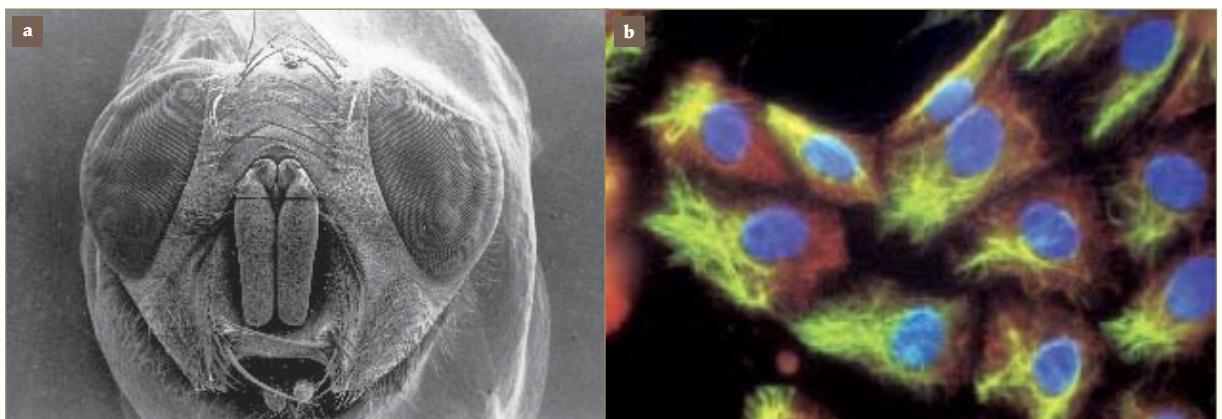
Espermatozoides de conill vistos amb un microscopi òptic (a), amb un microscopi electrònic de transmissió (b) i amb un microscopi electrònic de rastreig (c).

ACTIVITATS

- 5 A partir de la taula de la pàgina següent, digues quins microscopis són els més adequats per observar: un àtom d'urani, una proteïna, el moviment dels cilis d'un ciliat, un protozou tenyit amb fluorocroms i una diatomea.
- 6 Observa un microscopi del teu centre:
 - a) Fes una descripció, amb dibuix inclòs, del microscopi.
 - b) Comenta la funció de cadascun dels elements del microscopi.
 - c) Com pots tenir una idea aproximada dels augments amb què observes l'objecte?

RESUM DE LES CARACTERÍSTIQUES DELS MICROSCOPIS

Microscopi	Resolució màxima	Imatge	Focus lluminós	Observacions
Microscopi òptic	200 nm	Bidimensional	Llum visible, 400-700 nm	Vitals/mortes
Microscopi de polarització	200 nm	Bidimensional	Llum visible, 400-700 nm	Ordenació interna, anisòtrops/vitals
Microscopi de contrast de fases	300 nm	Bidimensional	Llum visible, 400-700 nm	Vitals sense tenyir
M. de contrast interferencial	300 nm	Bidimensional	Llum visible, 400-700 nm	Vitals sense tenyir
Microscopi de fluorescència	350 nm	Bidimensional	Ona curta, 350 nm	Fluorescents o tenyides (fluorocroms)
M. electrònic de transmissió	0,2-2 nm	Bidimensional	Flux d'electrons, 0,005 nm	Mortes, ultraestructura
M. electrònic de rastreig	10-20 nm	Tridimensional	Flux d'electrons, 0,005 nm	Mortes, superficials, cèl·lules senceres
Microscopi de radiació infraroja	750 nm	Bidimensional	760-1.000 nm	Superficials
Microscopi d'ultraviolats	240 nm	Bidimensional	240-400 nm	Vitals/orgànuls cel·lulars
Microscopi de raigs X o Röntgen	20-100 nm	Bidimensional	10-10 ⁻⁷ nm	
Microscopi acústic	200 nm	Bidimensional	So de freqüència 1 milió d'hertz	Vitals sense tenyir
Microscopi confocal		Tridimensional	Llum visible, 400-700 nm	
Microscopi d'efecte túnel	0,5 nm	Tridimensional	Diferència potencial	Mortes
Microscopi de força atòmica	0,5 nm	Tridimensional	Diferència potencial	Mortes



Cap de mosca vist al microscopi electrònic de rastreig (a) i fibroblasts vistos al microscopi de fluorescència (b).

4. Teoria cel·lular: visió històrica

Com ja has estudiat abans, Robert Hooke va fer servir per primera vegada el concepte de *cel·lula* al segle XVII per descriure els diferents espais que va observar en un tall de suro per mitjà d'un microscopi. Aquests espais es delimitaven per una estructura rígida i tenien l'interior buit. Hooke va anomenar cada petit espai *cel·lula*, que és el diminutiu de *cel·la* ('habitació').

Fins al segle XIX es va avançar ben poc en aquest camp. Per aquesta raó, dins la comunitat científica les teories més acceptades per explicar la constitució estructural dels éssers vius eren les fibrillaristes, que consideraven la fibra la unitat estructural bàsica.

El 1838, el botànic alemany Matthias Schleiden, després d'observar moltes estructures vegetals, va arribar a la conclusió que tots els teixits vegetals s'organitzaven en cèl·lules. El 1839, Theodor Schwann va arribar a la mateixa conclusió pel que fa als teixits animals. A partir d'aquest moment es va poder formular el primer enunciat de la teoria cel·lular, que deia:

Tots els éssers vius, animals o plantes, estan constituïts per cèl·lules.

Més tard, el 1858, Rudolf Virchow va ampliar el concepte de teoria cel·lular en afirmar que:

Una cèl·lula només es pot formar a partir d'una altra cèl·lula preexistent.

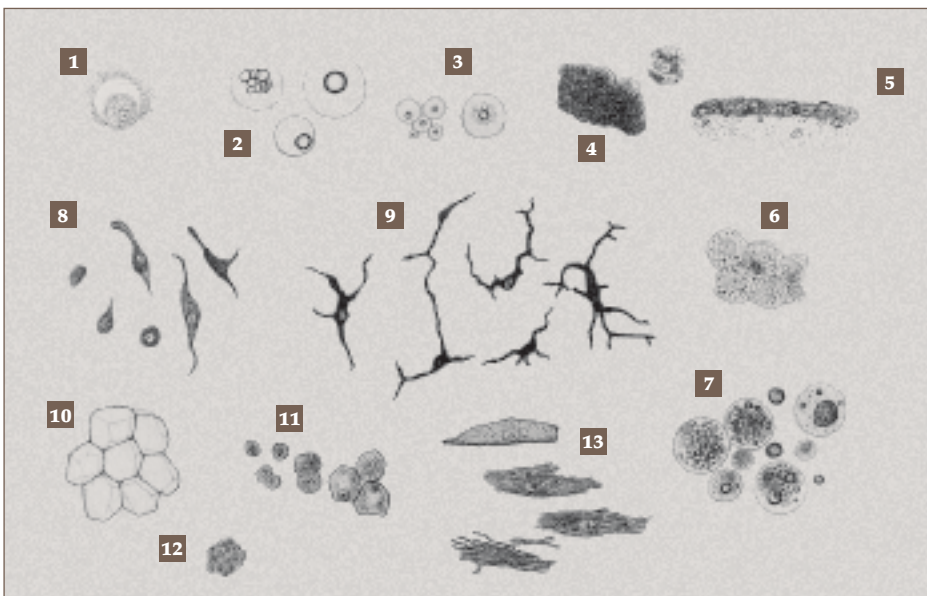
D'aquesta manera, la cèl·lula va passar de ser una unitat estàtica, és a dir, sense funcions, a ser una unitat que com a mínim tenia la funció de fabricar altres cèl·lules.

Omnis cellula e cellula (frase llatina que podem traduir per 'tota cèl·lula prové d'una altra cèl·lula') és la paràfrasi d'una altra sentència de William Harvey, que diu així: *Omne vivum ex ovo* ('tot ésser viu prové d'un ou').

Després d'aquesta formulació i de les posteriors observacions i estudis cel·lulars, la teoria actual defensa que la cèl·lula és la unitat estructural, funcional i genètica de tot ésser viu; és a dir, la cèl·lula és la part més petita de tot ésser viu (**unitat estructural**) que és capaç de nodrir-se, reproduir-se i relacionar-se (**unitat funcional**). A més a més, des del punt de vista evolutiu, les cèl·lules actuals provenen de les primeres cèl·lules que van aparèixer a la Terra, probablement fa més de 3.500 milions d'anys (**unitat genètica**).

El 1861, Bruke completà la teoria cel·lular en considerar que la cèl·lula és l'organització més elemental que pot tenir vida. La teoria cel·lular implica que, malgrat la gran diversitat morfològica, totes les cèl·lules presenten una mínima estructura bàsica formada per:

- Un **embolcall**, que separa o comunica la cèl·lula de l'exterior i que regula l'intercanvi amb l'entorn (membrana).
- El **contingut cel·lular**, en què es duen a terme tots els processos químics (citoplasma).
- El **material hereditari** (ADN), que codifica tota la informació genètica. L'estructura bàsica de l'ADN és comuna en tots els éssers vius i es troba al *nucli* o *nucleoide*.



Transformació de cèl·lules durant el creixement de l'organisme de: 1-7: embrió de pollastre 8-9: cua de capròs 10-13: canó de ploma de corb.



Portada del primer número de la primera revista de citologia, publicada el 1858.

5. Tipus de cèl·lules

Com ja saps, hi ha dos tipus d'organitzacions cel·lulars: el de la cèl·lula procariota i el de la cèl·lula eucariota.

El nom de *cèl·lula procariota* significa, literalment, 'cèl·lula abans de tenir nucli' (de *pro*, 'abans', i *karyon*, 'cor' o 'nucli') i el nom de *cèl·lula eucariota* vol dir 'cèl·lula amb nucli veritable' (d'*eu*, 'veritable' o 'vertader').

En la **cèl·lula procariota**, les molècules d'ADN es troben en una regió del citoplasma anomenada nucleoide i no estan envoltades per una membrana nuclear ni constitueixen cromosomes típics. A més, tenen el citoplasma sense compartimentar, o sigui, sense espais fixos separats per membranes, de manera que cada espai fa una funció. Recorda que presenten organització procariota tots els éssers del regne de les moneres.

La **cèl·lula eucariota** es caracteritza pel fet de tenir un embolcall membranós (membrana nuclear) que separa el material genètic de la resta del citoplasma. Aquest embolcall, juntament amb el contingut, constitueix el nucli cel·lular. Una altra característica d'aquest tipus de cèl·lula és que el citoplasma es troba compartimentat en espais separats per membranes. Cada espai forma un orgànel cel·lular, que, a més, desenvolupa una funció específica.

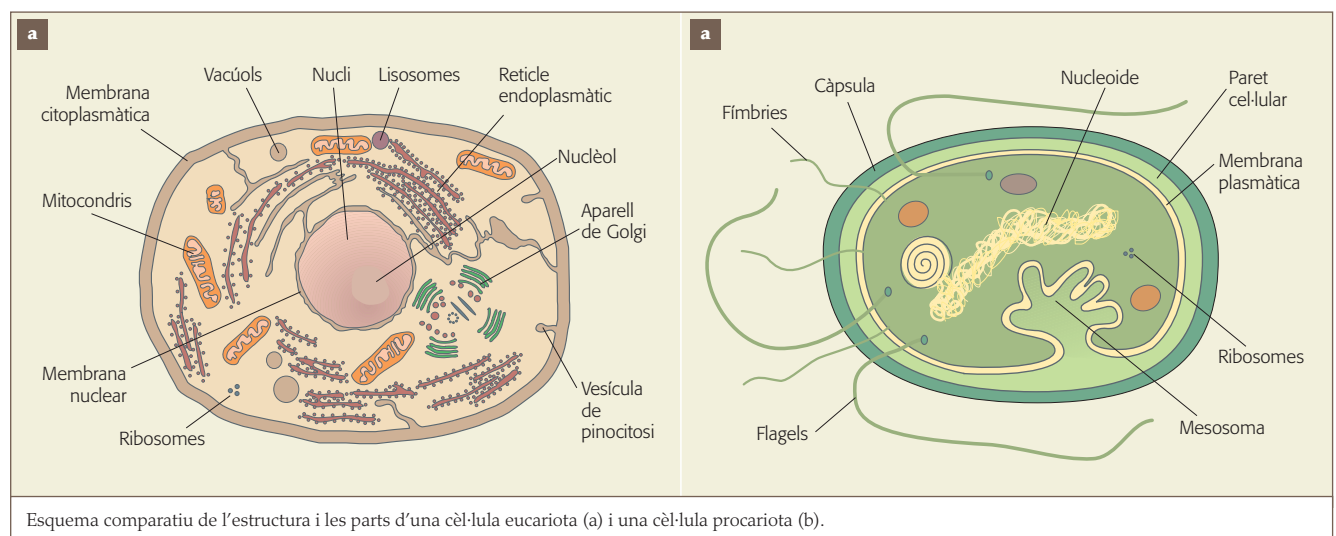
Recorda que estan constituïts per cèl·lules eucariotes tots els éssers vius que formen part dels regnes dels protists, dels fongs, dels animals i de les plantes. Tradicionalment s'han diferenciat dos tipus de cèl·lules eucariotes: la cèl·lula eucariota vegetal i la cèl·lula eucariota animal.

La **cèl·lula eucariota vegetal** correspon al model de cèl·lula de tots els éssers del regne vegetal i es caracteritza perquè, a més de la membrana citoplasmàtica, té un altre embolcall extern anomenat *paret cel·lular* de comportament rígid, que generalment és de naturalesa cel·lulòsica. El citoplasma d'aquesta cèl·lula conté uns orgànuls especials anomenats *plasts* (com els cloroplasts), que són exclusius de les cèl·lules vegetals. La forma d'aquestes cèl·lules és preferentment poligonal i fixa i té les reserves glucídiques en forma de midó.

En canvi, la **cèl·lula eucariota animal** correspon al model de cèl·lula de tots els éssers del regne animal i no presenta ni paret cel·lular ni plasts. La forma és variable, però preferentment arrodonida. Les reserves de glucídics són en forma de glicogen.

Aquests dos tipus d'organització de la cèl·lula eucariota no inclouen totes les realitats cel·lulars que existeixen en els eucariotes. Així, per exemple, els éssers del regne dels fongs presenten característiques de cèl·lula vegetal, i característiques de cèl·lula animal. Com a cèl·lula vegetal tenen una paret cel·lular externa a la membrana, que no és de cel·lulosa, sinó de quitina, i els vacúols també estan molt desenvolupats. Com a cèl·lula animal, no tenen plasts i el principal glucíd de reserva és el glicogen.

Fisiològicament, no sempre és fàcil establir una frontera entre la cèl·lula vegetal i la cèl·lula animal; per exemple, l'euglena en presència de llum solar fa fotosíntesi i, per tant, es comporta com una cèl·lula vegetal, però si no disposa de llum solar es comporta fisiològicament com una cèl·lula animal.



ACTIVITATS

- 7 Prepara una taula comparativa entre la cèl·lula procariota i l'eucariota amb les dades del text.

6. Forma i grandària cel·lulars

Com ja hem dit, les cèl·lules són els constituents bàsics de tots els éssers vius, però no totes les d'un organisme són idèntiques. Cada cèl·lula s'ha especialitzat en funció determinada i això sovint ha comportat una morfologia cel·lular particular.

En el cos humà trobem cèl·lules de formes molt variades com per exemple:

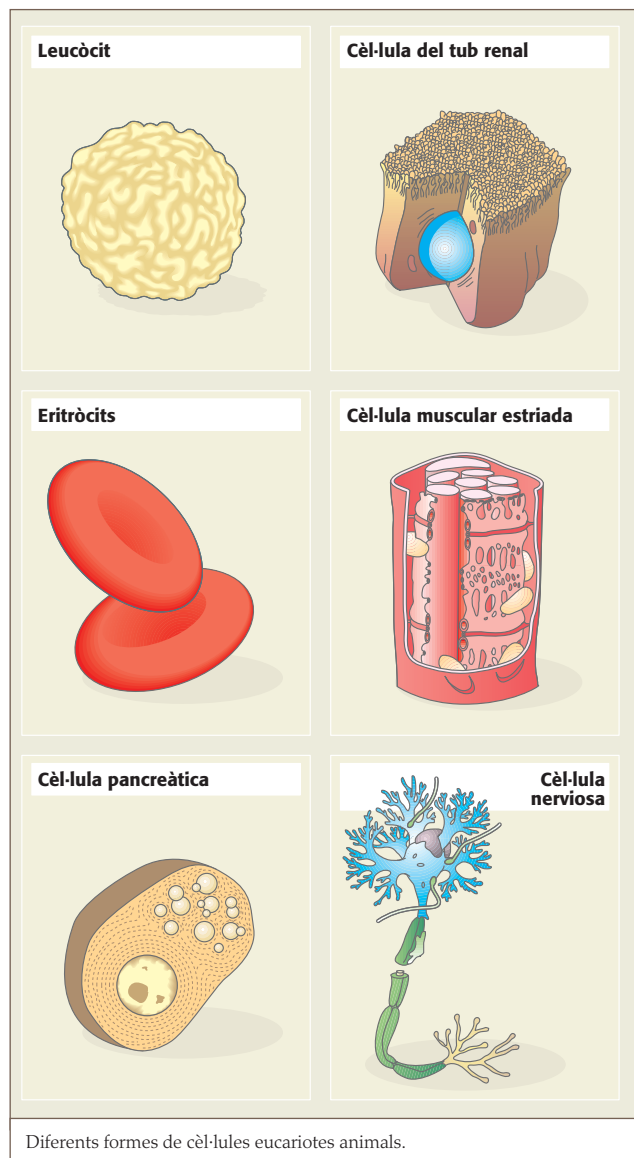
- esfèriques (limfòcits)
- cèl·lules estrellades (neurones, cèl·lules òssies)
- cèl·lules allargades (cèl·lules musculars)
- cèl·lules flagel·lades (espermatozoides)
- cèl·lules amb pols diferents (cèl·lules intestinals)

Aquesta especialització cel·lular també és present en les cèl·lules d'un organisme vegetal. Així, trobem:

- cèl·lules allargades conductores de saba (vasos llenyosos i vasos liberians)
- cèl·lules prismàtiques (parènquima)
- cèl·lules amb lignina (paret cel·lular)

Recorda, a més, la gran varietat de formes dels organismes unicel·lulars, que ja has estudiat en cursos anteriors.

Pel que fa a la mida, descobrim així mateix una gran diversitat. En general, les cèl·lules procariotes són més petites –al voltant de $3\ \mu\text{m}$ – que les eucariotes –al voltant de $15\ \mu\text{m}$. No obstant això, en ambdós grups trobem espècies que s'allunyen d'aquestes mesures; per exemple, entre els procariotes hi ha micoplasmes; que mesuren al voltant de $0,3\ \mu\text{m}$, i *Beggiatoa*, al voltant de $20\ \mu\text{m}$; entre les eucariotes, les cèl·lules musculars de l'ascàride del cavall (cuc intestinal) fan $1,5\ \text{cm}$ moltes neurones tenen axons de metres de longitud, els eritròcits (cèl·lules sanguínies) dels mamífers fan $7\ \mu\text{m}$, etc.



EQUIVALÈNCIES D'UNITATS

$$1\ \text{cm} = 1/100\ \text{m}$$

$$1\ \text{mm} = 1/1.000\ \text{m} = 1/10\ \text{cm}$$

$$1\ \text{micròmetre} = 1\ \text{micra} = 1\ \text{micró} (\mu\text{m}) = 1/1.000.000\ \text{m} = 1/10.000\ \text{cm}$$

$$1\ \text{nanòmetre} (\text{nm}) = 1/1.000.000.000\ \text{m} = 1/10.000.000\ \text{cm}$$

$$1\ \text{àngstrom} (\text{Å}) = 1/10.000.000.000\ \text{m} = 1/1.000.000.000\ \text{cm}$$

$$1\ \text{m} = 10^2\ \text{cm} = 10^3\ \text{mm} = 10^6\ \mu\text{m} = 10^9\ \text{nm} = 10^{10}\ \text{Å}$$

ACTIVITATS

- 8** Amb l'ajut de textos d'histologia, resumeix la forma i la mida de les cèl·lules dels diferents teixits animals.

MIDES

Cèl·lules de plantes superiors	Tubs laticífers d'euforbiàcies Fibres de <i>Boehmeria nivea</i> Fibres d' <i>Urtica dioica</i> Fibres de <i>Linum usitatissimum</i> Pèls seminals de <i>Gossypium</i> (l) Traqueïdes de <i>Musa</i> Traqueïdes de <i>Pinus sylvestris</i> (l) Fibres de <i>Vinca minor</i> (l) Parènquima medul·lar de <i>Sambucus</i> Cèl·lules epidèrmiques de <i>Rosa</i>	diversos metres 250-550 mm 50-75 mm 40-65 mm 50-75 mm 8-10 mm 2-4,5 mm 1-2 mm 0,2 mm 0,04 mm
Cèl·lules d'algues	Cèl·lules internodals de <i>Chara</i> <i>Acetabularia</i> <i>Chlamydomonas</i>	40-100 mm 50-60 mm 0,02 mm
Cèl·lules de bacteris	<i>Thiospirillum jenense</i> (l) <i>Escherichia coli</i> (l) <i>Micrococcus</i> (d)	0,08 mm 0,003 mm 0,0005 mm
Estructures cel·lulars	Cloroplasts de cormòfits (d) Dictiosomes Mitocondris Diàmetre d'un flagel d'eucariota Diàmetre d'un flagel de bacteri	4-0,8 µm 0,2-5,5 µm 0,5-1,5 µm 200 nm 12-15 nm
Virus	Mosaic del tabac Bacteriòfag Influença (d) Virus de la malaltia del tubercle de la patata (l) Virus de la boca i de les ungles	280 nm 250 nm 120 nm 50 nm 10 nm
Estructures cel·lulars ultramicroscòpiques	Filament de cromosoma (d) Doble membrana del reticle endoplasmàtic o cisternes del reticle endoplasmàtic (d) Ribosoma (d) Nucleosoma (d)	100-200 nm 25-30 nm 10-15 nm 10-11 nm
Molècules orgàniques	Hemoglobina Clorofil·la (l) Hèlix d'ADN Glucosa (l) Àtom de H (d)	6,4 nm 3,5 nm 2,5 nm 0,7 nm 0,1 nm
	Límit del poder de resolució del microscopi òptic Límit del poder de resolució del microscopi d'ultraviolats Límit del poder de resolució del microscopi electrònic	200 nm 240 nm 0,2 nm

l = longitud
d = diàmetre

VOCABULARI

Fibroblast. Cèl·lula del teixit conjuntiu formadora de fibres.

Índex de refracció. Quocient entre la velocitat de la radiació en el buit i la velocitat en el medi considerat. Com més gran és l'índex, més baixa és la velocitat.

Limfòcit. Tipus de glòbul blanc que intervé en els processos immunitaris.

Longitud d'ona. Distància mínima entre dos punts que es troben en el mateix estat de vibració en un moviment ondulatori.

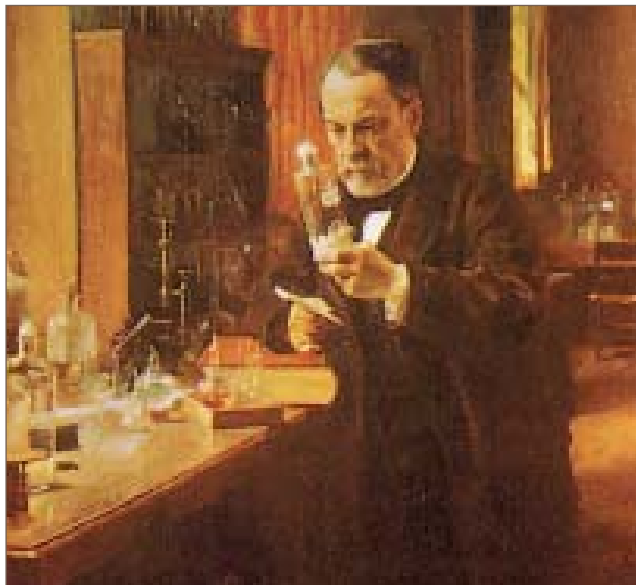
Parènquima. Teixit vegetal format per cèl·lules vives, polièdriques, grosses i sense lignificar. Generalment té funció assimiladora i emmagatzemadora, entre d'altres.

LECTURA

Laboratori científic

Durant la primera meitat del segle XIX van canviar profundament les condicions de la investigació. Aquesta es va institucionalitzar i el mecenatge es va substituir pels recursos col·lectius. La majoria dels savis van ser, posteriorment, professionals de la investigació, llevat d'algunes excepcions (Thuret, Hofmeister...). Aquesta evolució s'inicià a partir del 1750: es crearen càtedres de ciències a les universitats alemanyes (Göttingen, 1759) i es desenvolupà l'ensenyament superior a França durant la Revolució. Però el vincle institucional entre la investigació i l'ensenyament, vincle que comportà la instal·lació d'un laboratori per a la càtedra universitària, no es va desenvolupar fins al període 1800-1850, també a les universitats alemanyes. Els científics anglesos que es mostraren reticents a seguir aquesta evolució per por de perdre la llibertat trobaren, després, dificultats a causa de la falta de mitjans materials.

La multiplicació de laboratoris va permetre un desenvolupament ràpid dels instruments, en particular, del microscopi. La construcció de microscopis passà a ser patrimoni de tallers especialitzats dirigits per òptics amb formació teòrica, que treballaven conjuntament amb les universitats. Els microscopis de lents acromàtiques es comercialitzaren a partir del 1825; si bé aquestes lents ja s'utilitzaven en els telescopis astronòmics des de feia més de cinquanta anys, el primer microscopi d'aquest tipus el va construir, el 1791, a Anglaterra, un oficial de cavalleria. La correcció de l'aberració esfèrica en les lents aplanètiques, la va inventar Lister cap al 1830 i es va estendre amb gran rapidesa. Cap a l'any 1840,



Pasteur al seu laboratori.

el poder de resolució dels microscopis que més s'utilitzaven als laboratoris era al voltant d'1 micra, magnitud que permet una primera exploració del domini citològic.

Posteriorment, les característiques tècniques dels instruments es definiran d'una manera objectiva (augment, camp, poder de resolució, importància de l'aberració...), i el maneig correcte exigirà un aprenentatge idèntic per a tots els usuaris.

Paral·lelament al desenvolupament dels mitjans hi ha un canvi en l'ambient intel·lectual. Al començament del segle XX s'observa un interès renovat pel món viu. Això és evident sobretot a Alemanya, on aquest interès s'estimula encara més amb la moda de la filosofia de la naturalesa, la qual marcà no només la literatura, sinó també la medicina i la biologia. L'actitud d'admiració per tot el que és viu augmenta l'interès pels estudis microscòpics. D'altra banda, la filosofia de la naturalesa ha donat noves orientacions al pensament científic: recerca de semblances fonamentals en la naturalesa per construir marcs generals d'explicació, i recerca d'una explicació dels éssers vius basada en el concepte d'interacció dins d'un tot.

La moda del microscopi és anterior als perfeccionaments aconseguits a partir del 1820. Diversos savis notables, Dutrochet i Purkinje, per exemple, van començar les seves investigacions amb un microscopi simple. L'aparició de nous microscopis va suscitar a vegades un entusiasme desbordant. Henle i Schwann, alumnes del gran fisiòleg J. Müller, els van adquirir amb el propi sou d'ajudants; Purkinje donava classes de microscòpia a domicili. Per contra, el microscopi també tenia detractors, principalment entre la classe mèdica. Però mentre que aquests publicaven pamflets, la nova generació de citòlegs multiplicava els treballs originals i els descobriments. Abans del 1810, hi havia una publicació d'anatomia vegetal cada vint anys; després del 1840, cada país disposava d'una o diverses publicacions periòdiques que recollien puntualment els nous textos relatius a aquest camp.

Els savis de l'època estaven poc especialitzats, els treballs de Purkinje, per exemple, es refereixen a l'antera, a l'ull i a l'ou de pollastre. L'interès va recaure en la forma, no per un esgotament disciplinari, sinó per la dificultat de basar un estudi experimental sobre una matèria viva que a penes era coneguda.

A. GIORDAN [et al.],
Conceptes de Biologia 2. La teoria cel·lular

resum

La citologia neix al segle XVII amb l'ús de lents d'augment i no assoleix la categoria de ciència fins al segle XIX.

A mesura que s'han perfeccionat els sistemes òptics d'observació, s'han pogut superar les barreres que limitaven els investigadors i s'ha progressat en el coneixement de l'organització cel·lular.

A partir de la tercera dècada del segle XX, la microscòpia troba noves fórmules per augmentar el poder de resolució utilitzant altres tipus d'ones (microscopi electrònic, microscopi de raigs X, microscopi acústic, etc.).

Cada tipus de microscopi requereix unes tècniques diferents de preparació de mostres. Cal triar el microscopi més adequat segons l'objecte que es vol observar, que no ha de ser necessàriament la darrera novetat tecnològica.

Tots els avenços tecnològics han corroborat la teoria cel·lular acabada d'establir durant el segle XIX: la cèl·lula és la unitat estructural, funcional i genètica de tots els éssers vius.

Malgrat la diversitat de formes i grandàries de les cèl·lules, s'han establert només dos tipus d'organitzacions cel·lulars: la cèl·lula procariota i la cèl·lula eucariota.

→ Defineix les següents paraules del text ressaltades en negreta al llarg de la unitat:

■ **poder de resolució, aberració esfèrica, aberració cromàtica, objectiu apocromàtic, teoria cel·lular, difracció, llum polaritzada, birefringència, unitat estructural, unitat funcional, unitat genètica, cèl·lula eucariota, cèl·lula procariota**



Grans de pol·len vistos al microscopi electrònic de rastreig.

autoavaluació

- 1 Quina finalitat té la fixació del material en la preparació de mostres?
- 2 Qui va ser el primer científic a descriure organismes unicel·lulars?
- 3 Quina condició han de complir les mostres que volem observar al microscopi òptic quan s'intercalen entre l'objectiu i la font lluminosa?
- 4 Com s'han de preparar les mostres per poder observar-les al microscopi electrònic? Hi ha alguna diferència entre les mostres per al microscopi electrònic de transmissió i per al de rastreig?
- 5 Explica la diferència bàsica que hi ha entre el microscopi electrònic de transmissió i el de rastreig.
- 6 Explica breument en què consisteix la teoria cel·lular.
- 7 Digues si és vertader (V) o fals (F):
 - La forma cel·lular més freqüent és l'esfèrica.
 - Totes les cèl·lules tenen membrana nuclear.
 - Les cèl·lules eucariotes sempre són més grans que les procariotes.
 - Tots els fongs estan formats per cèl·lules.
 - El microscopi electrònic de transmissió i el microscopi electrònic de rastreig fan servir el flux d'electrons per obtenir imatges.
 - El regne de les moneres té una organització procariota.
 - Les cèl·lules eucariotes i les procariotes tenen material genètic.
 - La congelació de les mostres serveix com a mètode d'inclusió i de fixació.
 - El microscopi de fluorescència té un poder de resolució més alt que el microscopi electrònic.
 - La cèl·lula eucariota vegetal té membrana citoplasmàtica i paret cel·lular.