



## Il contributo della microscopia elettronica nel comprendere gli eventi di senescenza cellulare

PROGETTO ALCOTRA ESSICA

Formazione sulle tecniche di essiccazione,  
sanitizzazione e confezionamento delle  
erbe aromatiche

Venerdì 7 Febbraio 2020

Raffaella Balestrini



UOS, Torino  
c/o DBIOS  
Viale Mattioli 25, 10125 Torino

## Microscopio ottico



Si usa luce visibile ( $\lambda = 300-700\text{nm}$ ) per illuminare gli oggetti e lenti in vetro convergenti per elaborare l'immagine e renderla visibile all'occhio in forma ingrandita

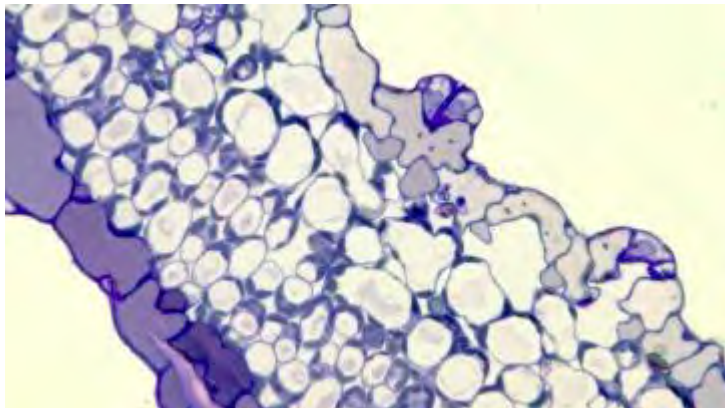
## Microscopio elettronico a trasmissione



Gli elettroni passano attraverso il campione quindi le sezioni devono essere molto sottili e i mezzi di contrasto elettrondensi

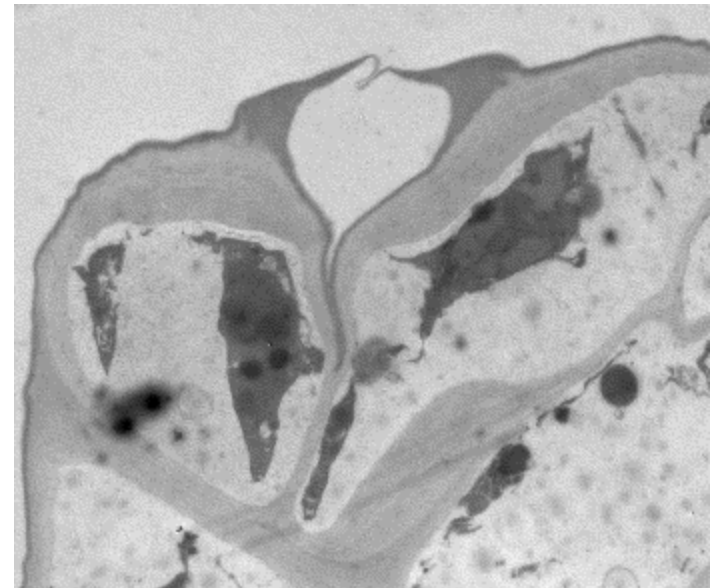
## Microscopio ottico

L'immagine fornita è visibile  
all'occhio umano e può  
essere colorata



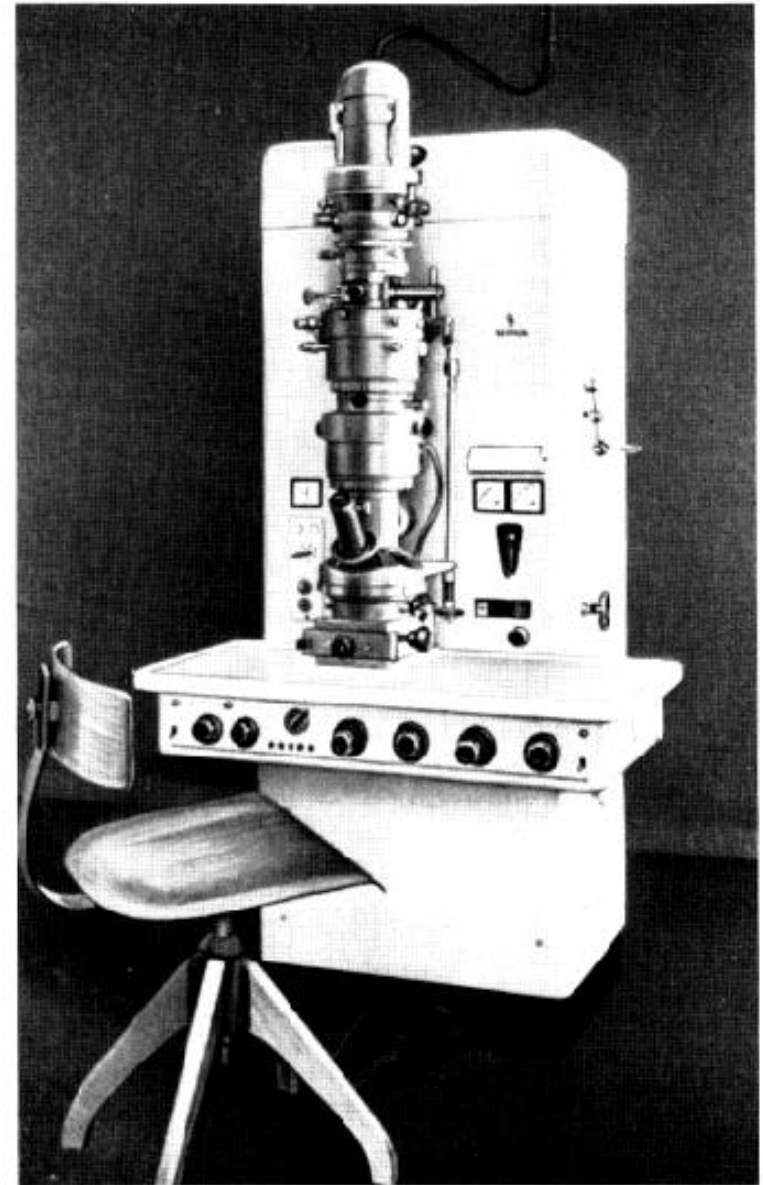
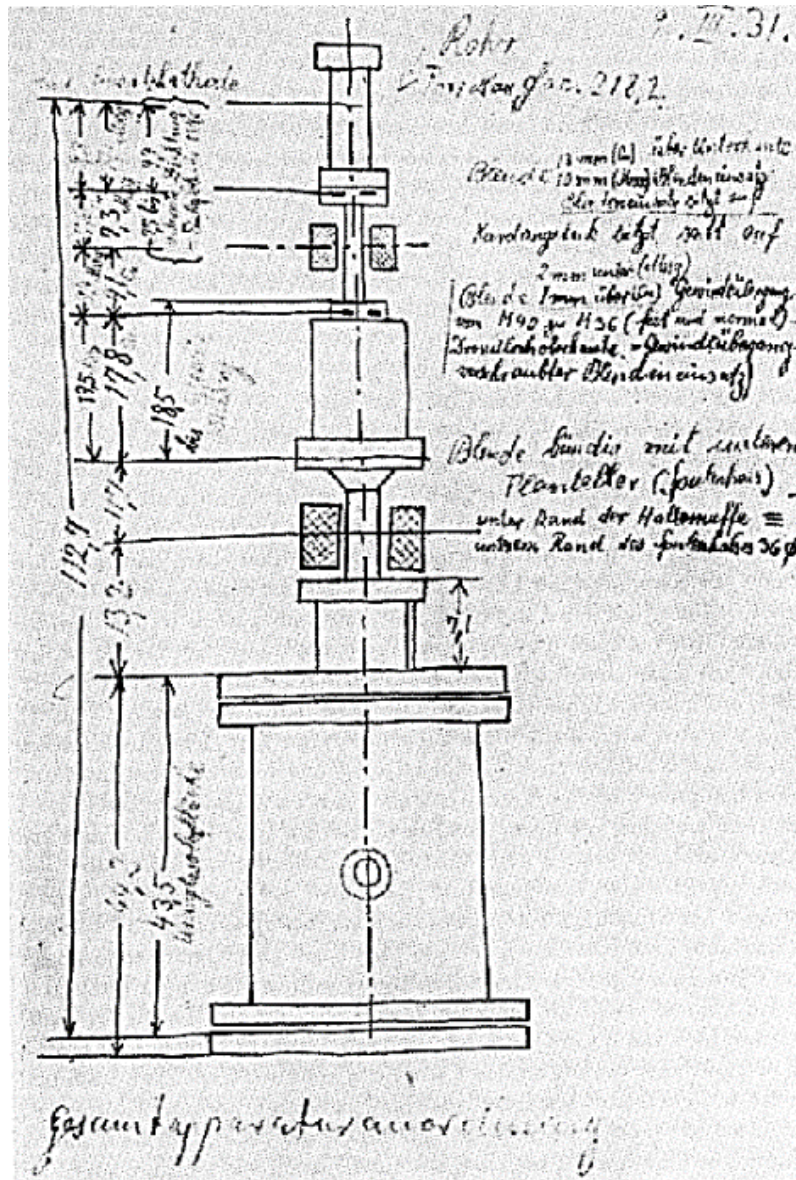
## Microscopio elettronico a trasmissione

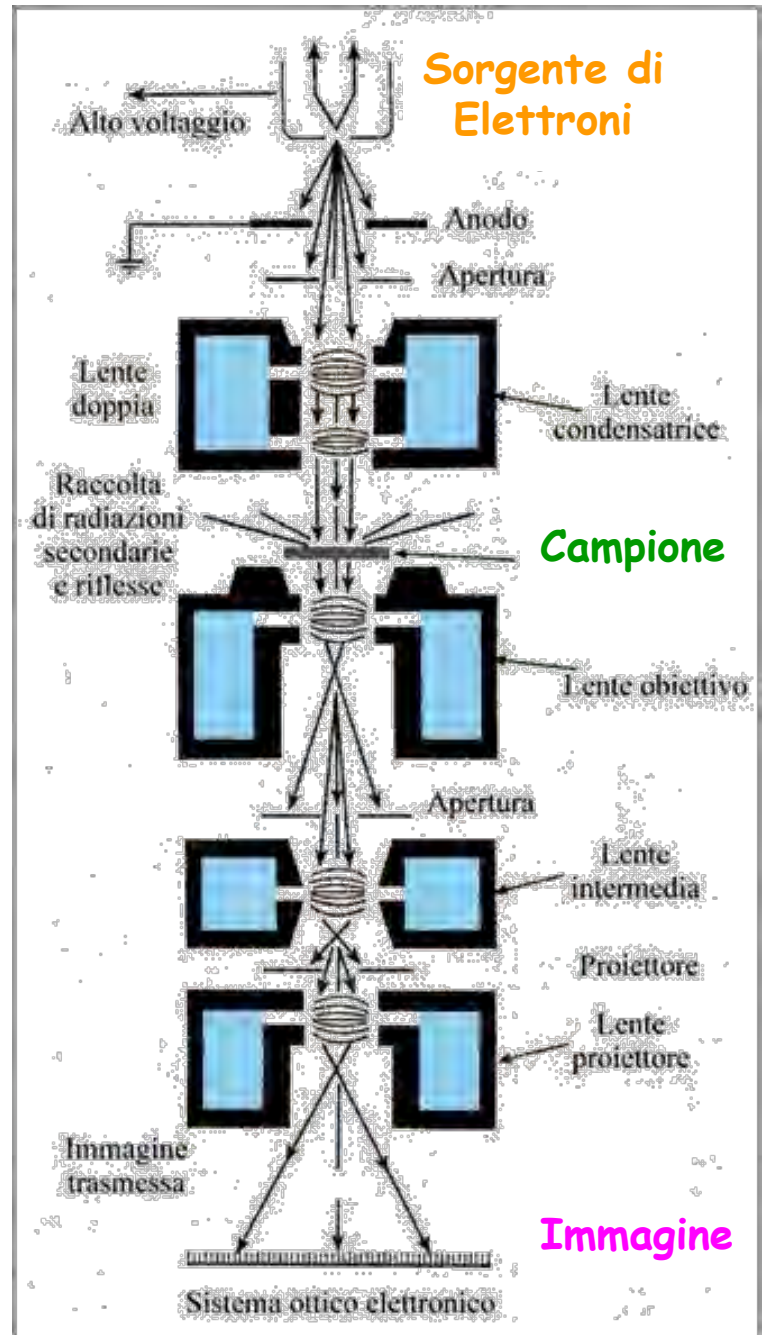
Non si ottiene  
un'immagine  
direttamente visibile  
all'occhio umano:  
schermo fluorescente





# Il primo TEM è stato progettato da Ernst Ruska nel 1931







# Microscopio Elettronico a Trasmissione TEM

Il fascio di elettroni si muove nel vuoto che è  
**INCOMPATIBILE CON LA VITA!**

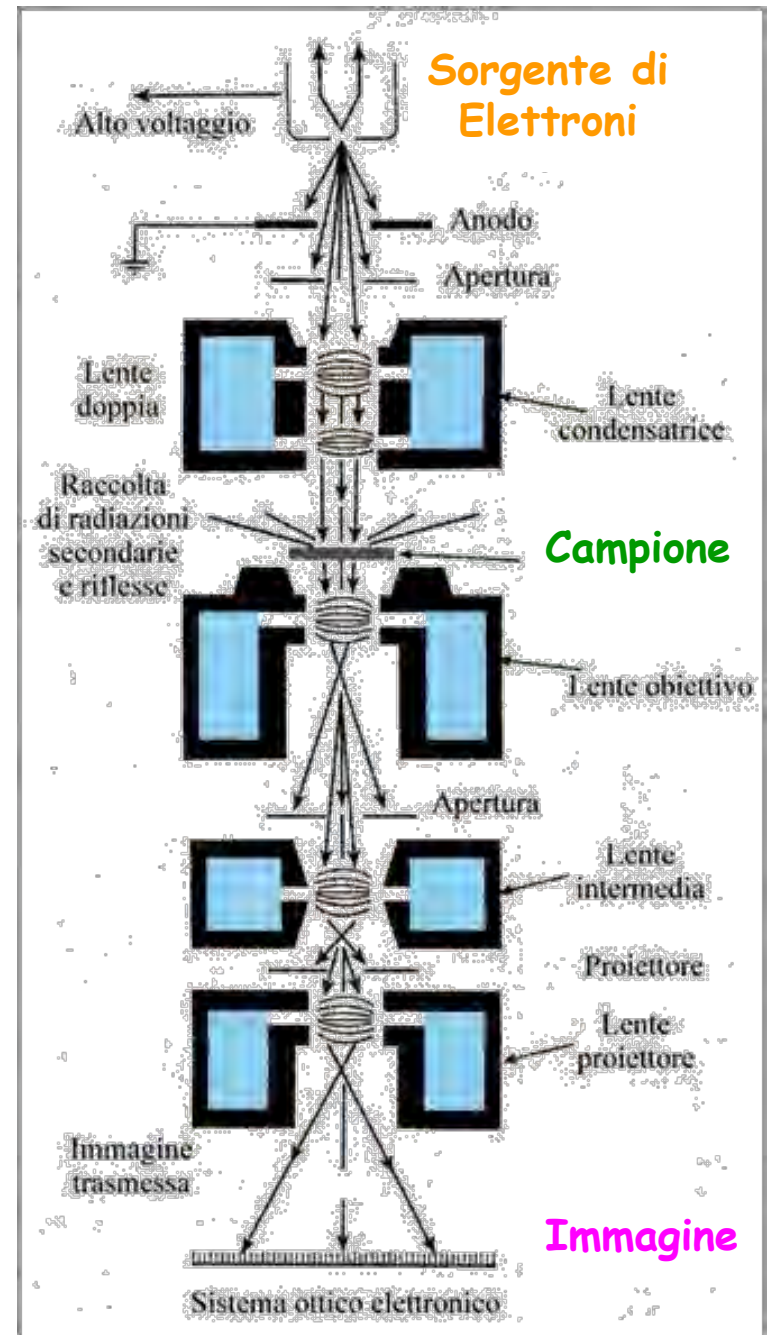
Uso di lenti elettromagnetiche: Nella lente  
elettromagnetica variando l'intensità della corrente  
varia la distanza focale (ingrandimento)

Non si ottiene un'immagine direttamente  
visibile all'occhio umano: schermo  
fluorescente

Il campione deve essere sufficientemente sottile  
da permettere agli elettroni di attraversarlo  
Spessore ottimale 70nm

...sempre

Sezionamento all'ultramicrotomo



# Problematiche...

Il fascio di elettroni può attraversare solo materiale di spessore molto ridotto

- il tessuto deve essere sezionato mediante speciali apparecchi, detti microtomi ed ultramicrotomi

La maggioranza dei tessuti biologici sono molli

- prima del taglio, il tessuto deve essere indurito
  - Fissazione
  - Inclusione

I tessuti sono normalmente quasi incolori e privi di contrasto

- prima dell'osservazione al microscopio, il tessuto deve essere contrastato



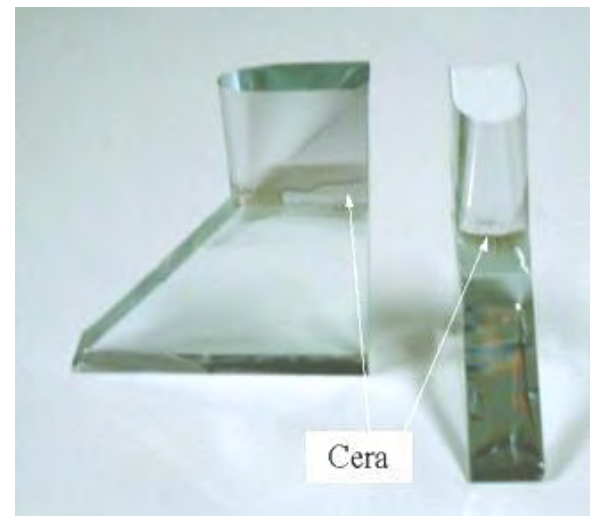
# Preparazione dei campioni



# L'ultramicrotomo

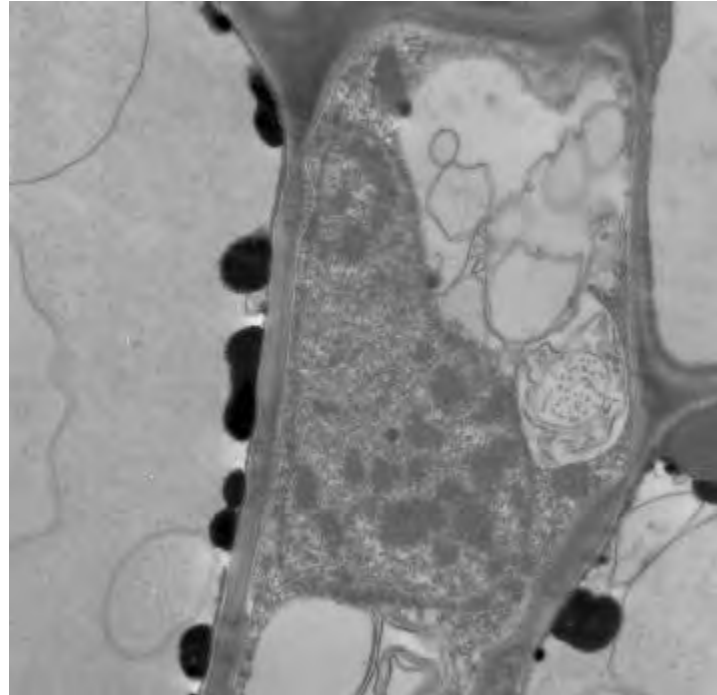
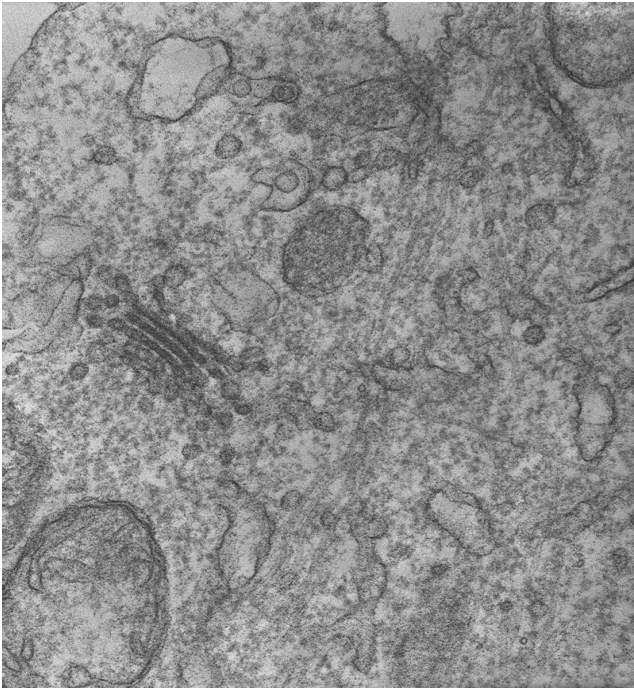


Permette di ottenere sezioni semifini (spessore di  $1\ \mu\text{m}$ ) adatte all'osservazione al microscopio ottico e fini (spessore  $70\ \text{nm}$ ) adatte all'osservazione al microscopio elettronico a trasmissione



# Contrasto delle sezioni

Le sezioni vengono contrastate con sali di metalli pesanti come acetato di uranile e citrato di piombo



## Unità di misura usate in microscopia

In microscopia ottica: il micrometro ( $\mu\text{m}$ )

$$1 \mu\text{m} = 0,001 \text{ mm} = 1/1000 \text{ di mm} = 10^{-6} \text{ m}$$

(Molti biologi indicano ancora il micrometro col vecchio termine «micron» ( $\mu$ ))

In microscopia elettronica: il nanometro (nm)

$$1 \text{ nm} = 0,001 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ mm} = 10^{-9} \text{ m}$$

(Molti biologi indicano ancora il nanometro col vecchio termine «millimicron» ( $\text{m}\mu$ ))

Un'altra unità di misura usata in microscopia elettronica è l'Ångstrom (Å)

$$1 \text{ Å} = 0,1 \text{ nm} = 10^{-4} \mu\text{m}$$

## Potere di risoluzione<sup>1</sup>

Microscopio ottico: obiettivo debole:  $1 \mu\text{m}$  circa

obiettivo medio:  $0,6\text{-}0,8 \mu\text{m}$

valori massimi:  $0,2\text{-}0,4 \mu\text{m}$

Microscopio elettronico: meno di  $10 \text{ Å}$

## Dimensioni delle cellule e suoi componenti





# Ultrastructural Analyses of Senescence Associated Dismantling of Chloroplasts Revisited

Maria Mulisch and Karin Krupinska\*  
*Institute of Botany, Central Microscopy, University of Kiel,  
Olshausenstraße 40, 24098 Kiel, Germany*

## Ultrastructural Studies on the Natural Leaf Senescence of *Cinnamomum camphora*

JIANBO CAO<sup>1,2</sup>, YANTUN SONG<sup>1</sup>, HUA WU<sup>3</sup>, LIHONG QIN<sup>2</sup>, LIHUA HU<sup>2</sup>, AND RONG HAO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan, China

<sup>2</sup>Public Laboratory of Electron Microscopy, Huazhong Agricultural University, Wuhan, China

<sup>3</sup>Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan, China

## SiYGL2 Is Involved in the Regulation of Leaf Senescence and Photosystem II Efficiency in *Setaria italica* (L.) P. Beauv.

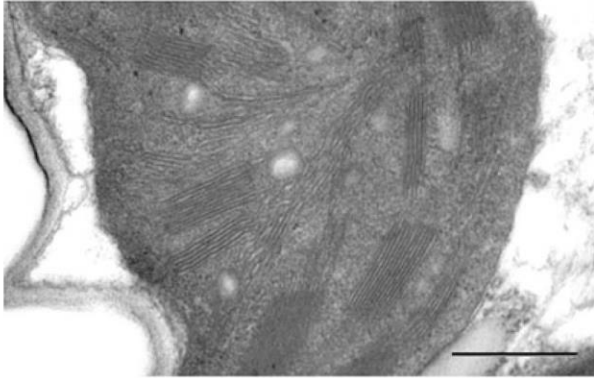
Shuo Zhang, Hui Zhi, Wen Li, Jianguo Shan, Chanjuan Tang, Guanqing Jia, Sha Tang  
and Xianmin Diao\*

*Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China*

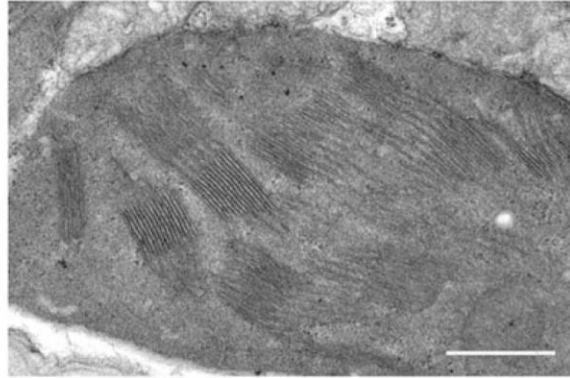
Durante la senescenza fogliare, i cloroplasti si trasformano in gerontoplasti coinvolgendo tipici cambiamenti strutturali che sono stati rivelati tramite la microscopia elettronica a trasmissione da più di 30 anni.

Questi cambiamenti avvengono a livello del Sistema di membrane presente nel cloroplasto (tilacoidi) che si degradano in modo progressivo. In parallelo, aumenta il numero di plastoglobuli nel cloroplasto.

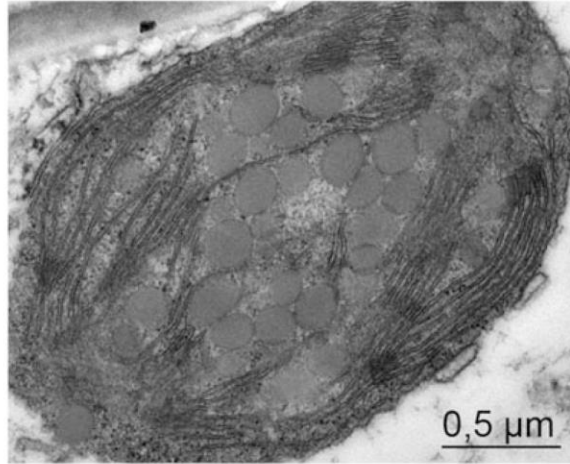
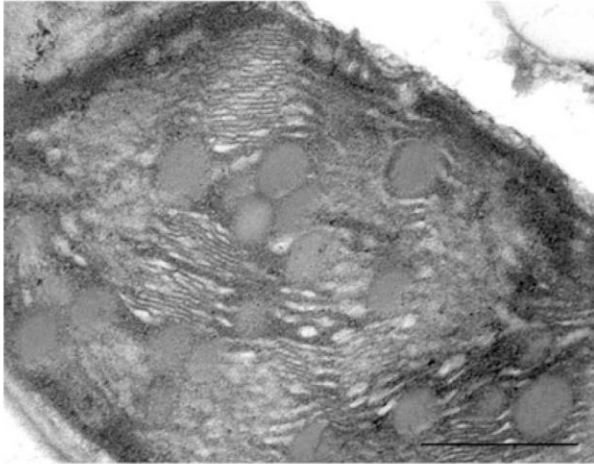
cv. Carina



cv. Lomerit

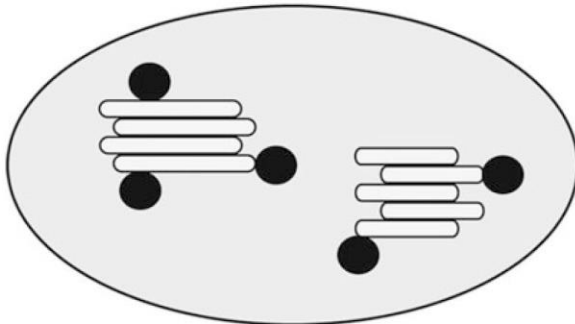


Cloroplasti prima della senescenza

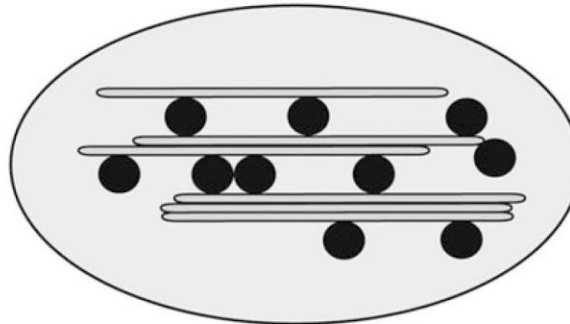


Cloroplasti in una foglia senescente

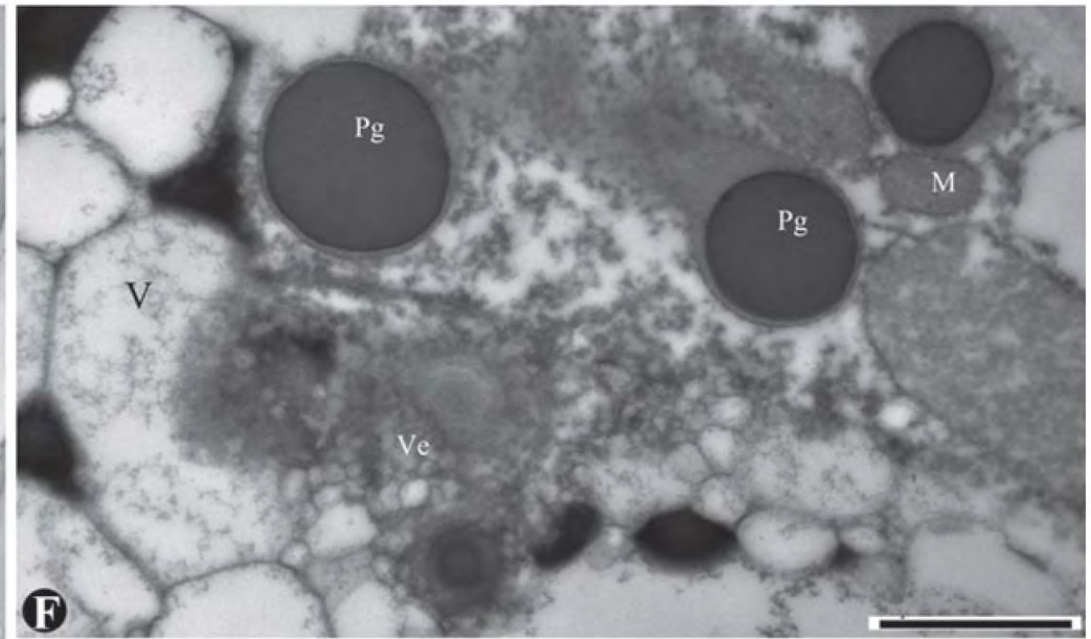
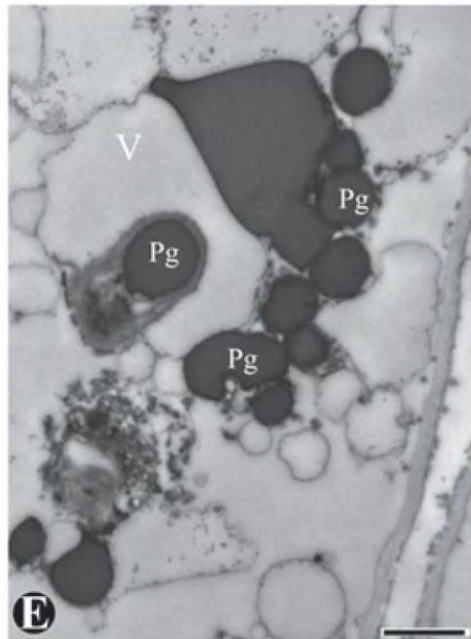
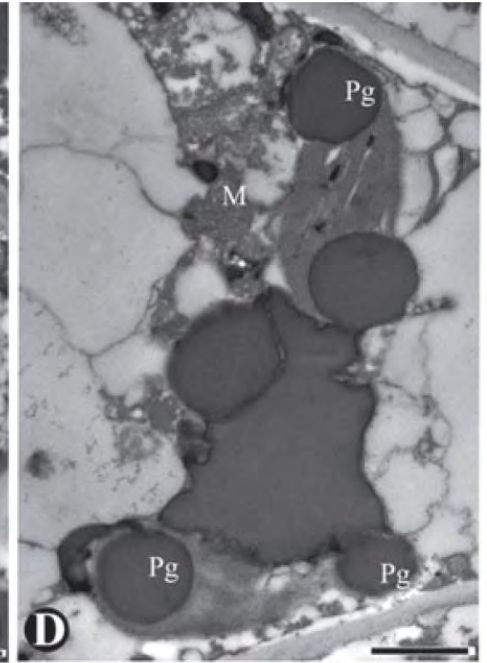
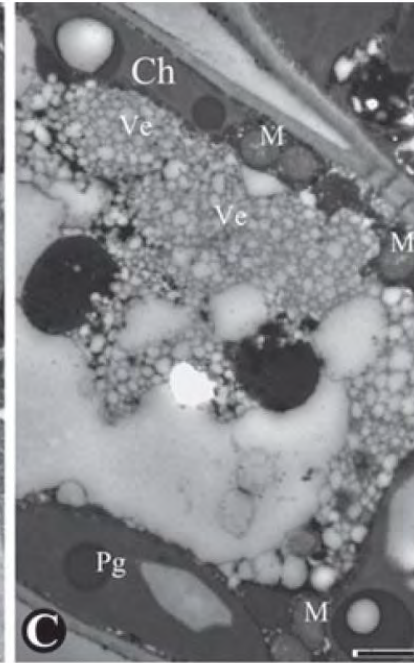
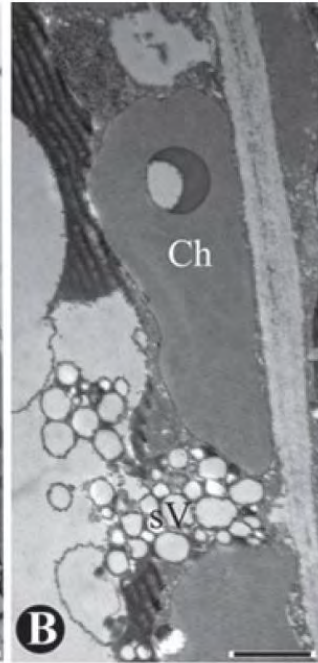
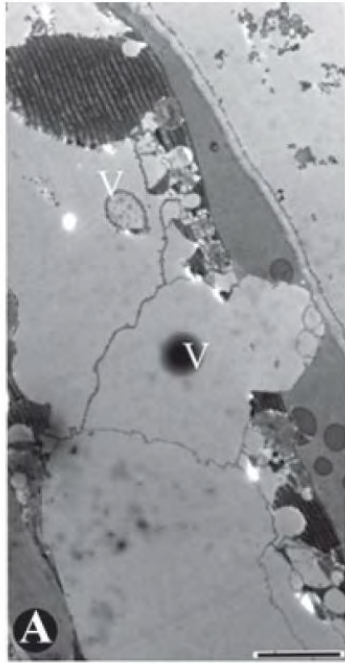
type 1



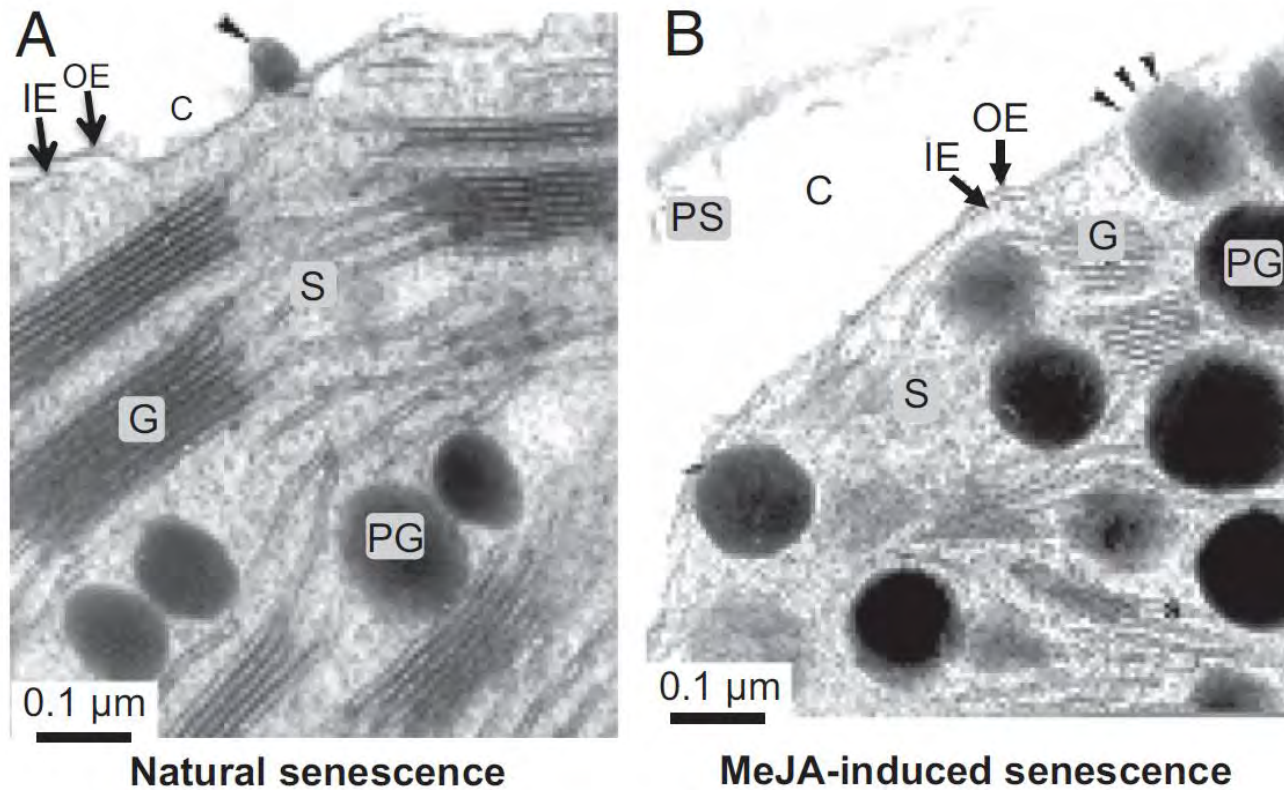
type 2











**Fig. 1.** Plastid leakage during natural senescence (A) and MeJA-induced leaf senescence (B). Scale bars are indicated. Arrowheads indicate extrusion sites of organic matter from chloroplasts. C, cytosol; G, grana thylakoids; IE, inner plastid envelope membrane; OE, outer plastid envelope membrane; PG, plastoglobules; PS, protoplasmic stream; S, stroma.



**MALVA**

**MENTA**

**MELISSA**

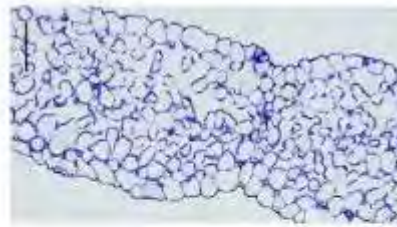
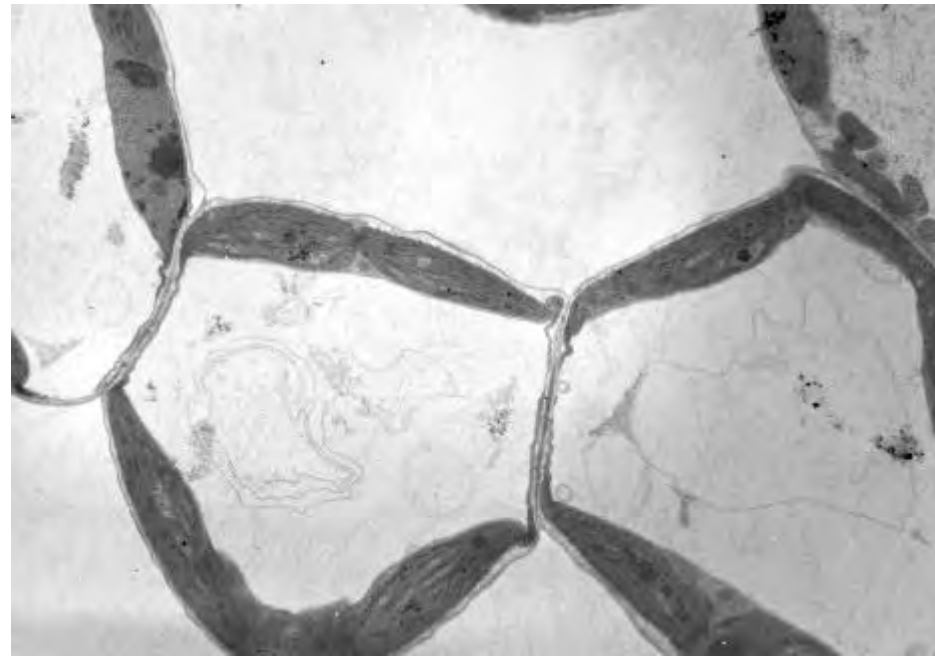
**SANTOREGGIA**

Raffaella Balestrini  
Antonella Faccio

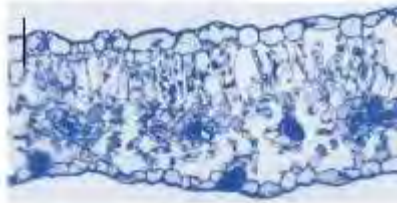
**FRESCA**  
**ESSICCAZIONE TRADIZIONALE**  
**ESSICCAZIONE A FREDDO**



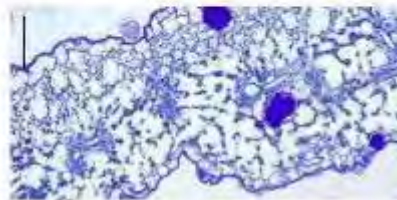
# MALVA



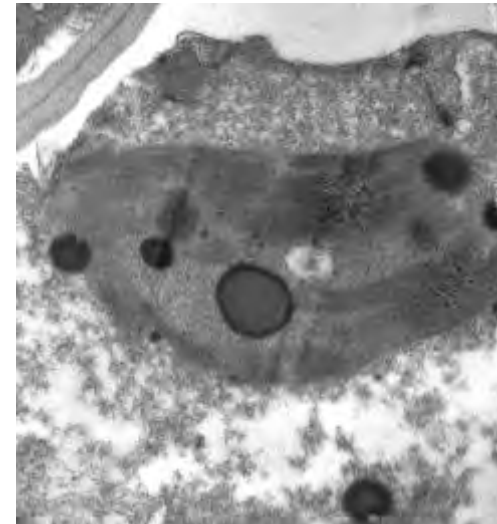
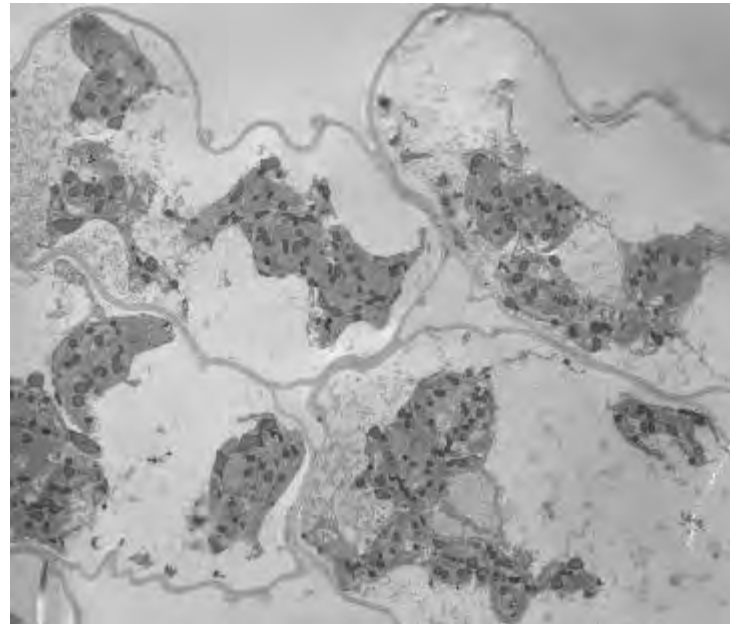
FRESCO



TRADIZIONALE



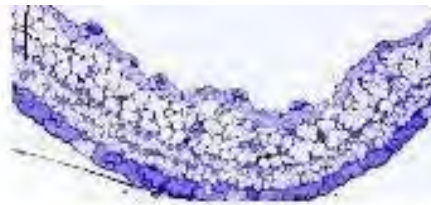
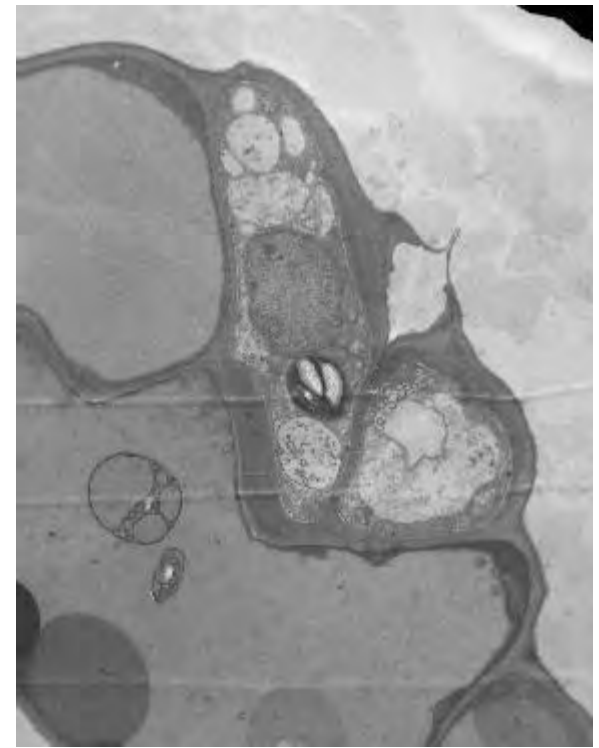
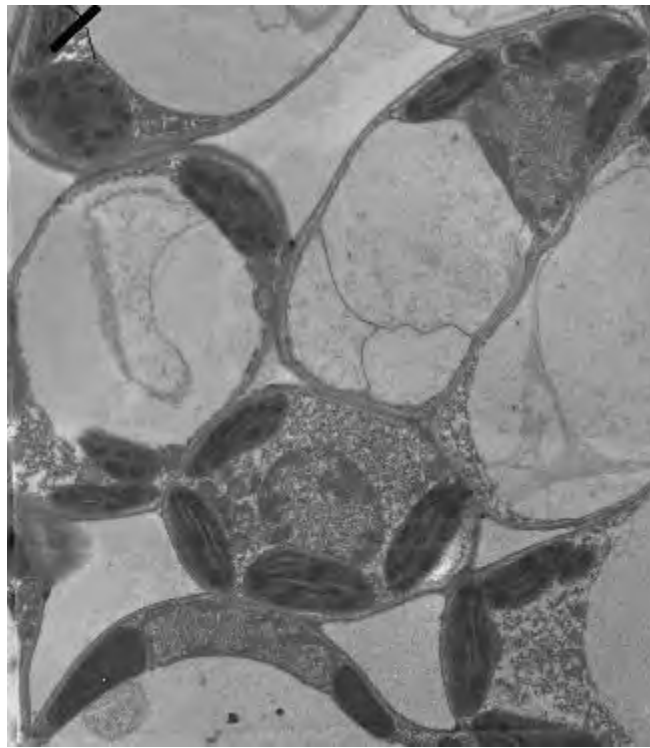
A FREDDO



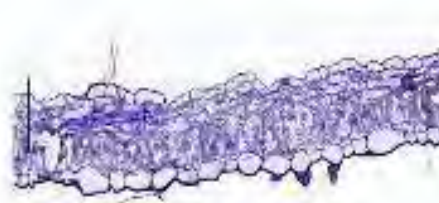
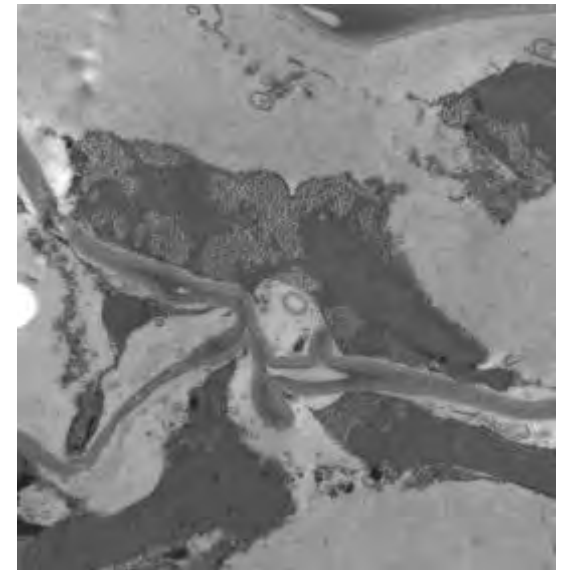
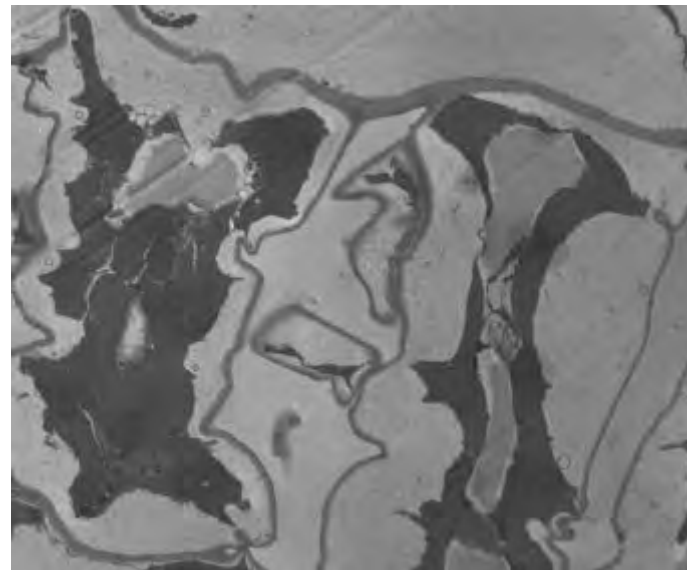




# MELISSA



FRESCO



TRADIZIONALE

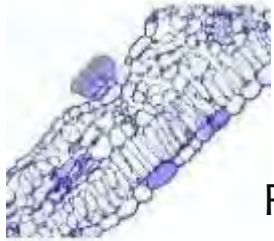


A FREDDO





# MENTA



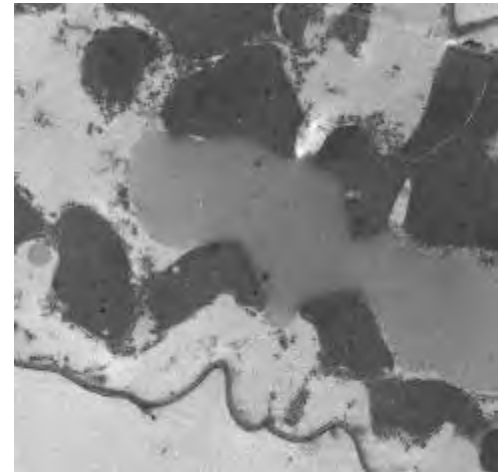
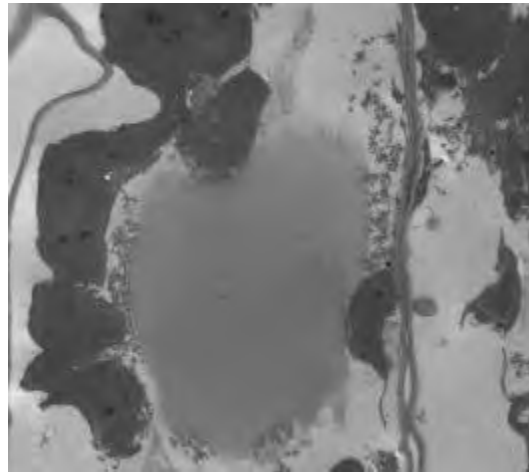
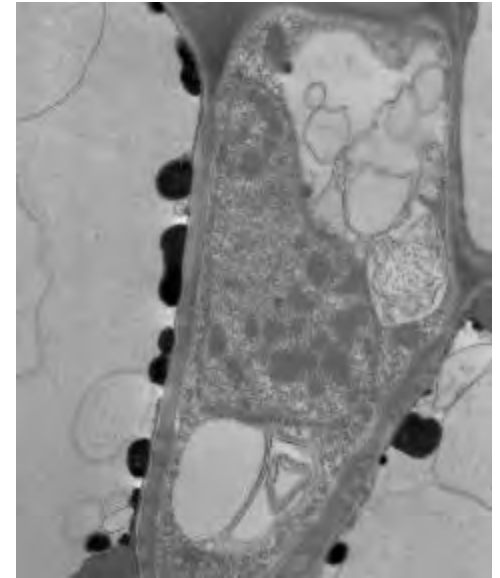
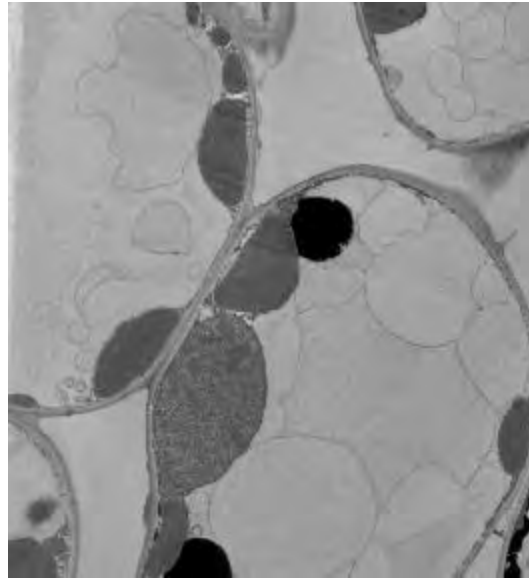
FRESCO



TRADIZIONALE



A FREDDO





SANTOREGGIA

