



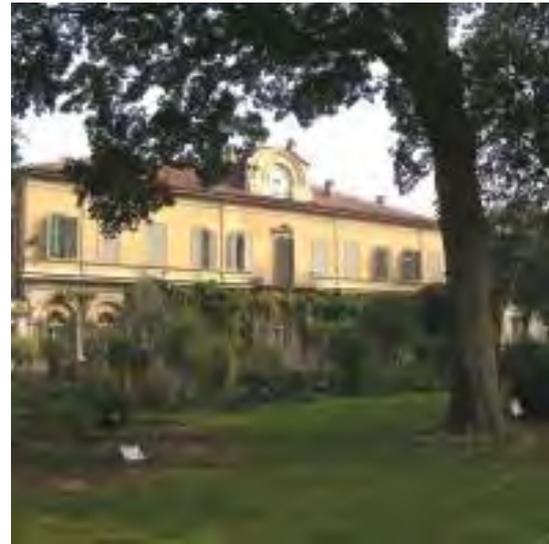
Il contributo della microscopia elettronica nel comprendere gli eventi di senescenza cellulare

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

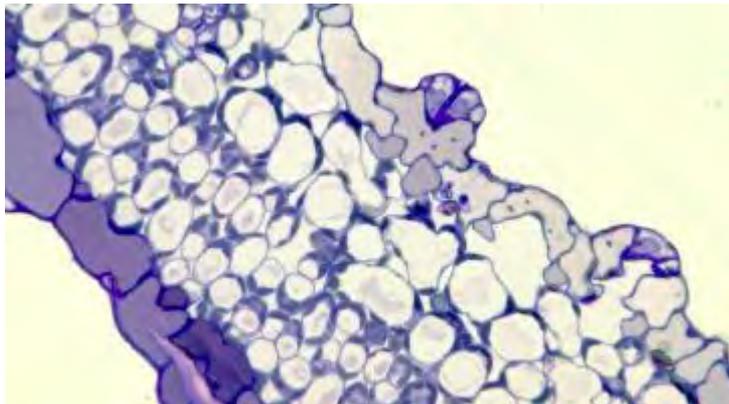
Microscopio elettronico a trasmissione



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

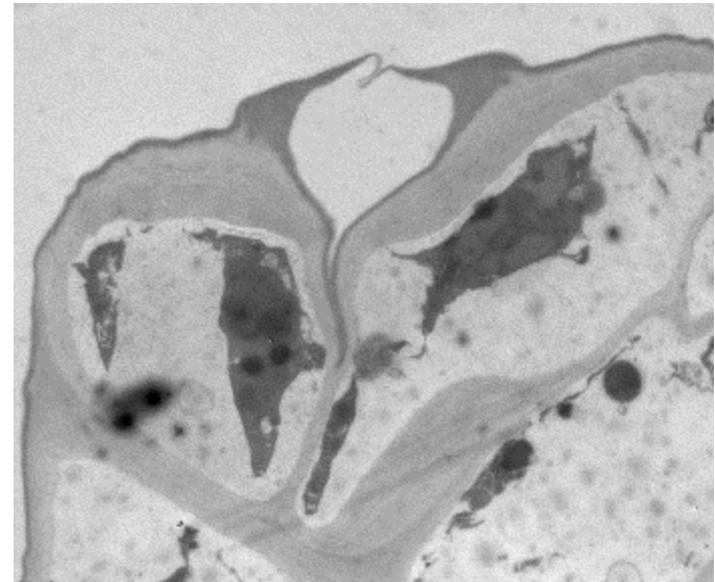
Microscopio ottico

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

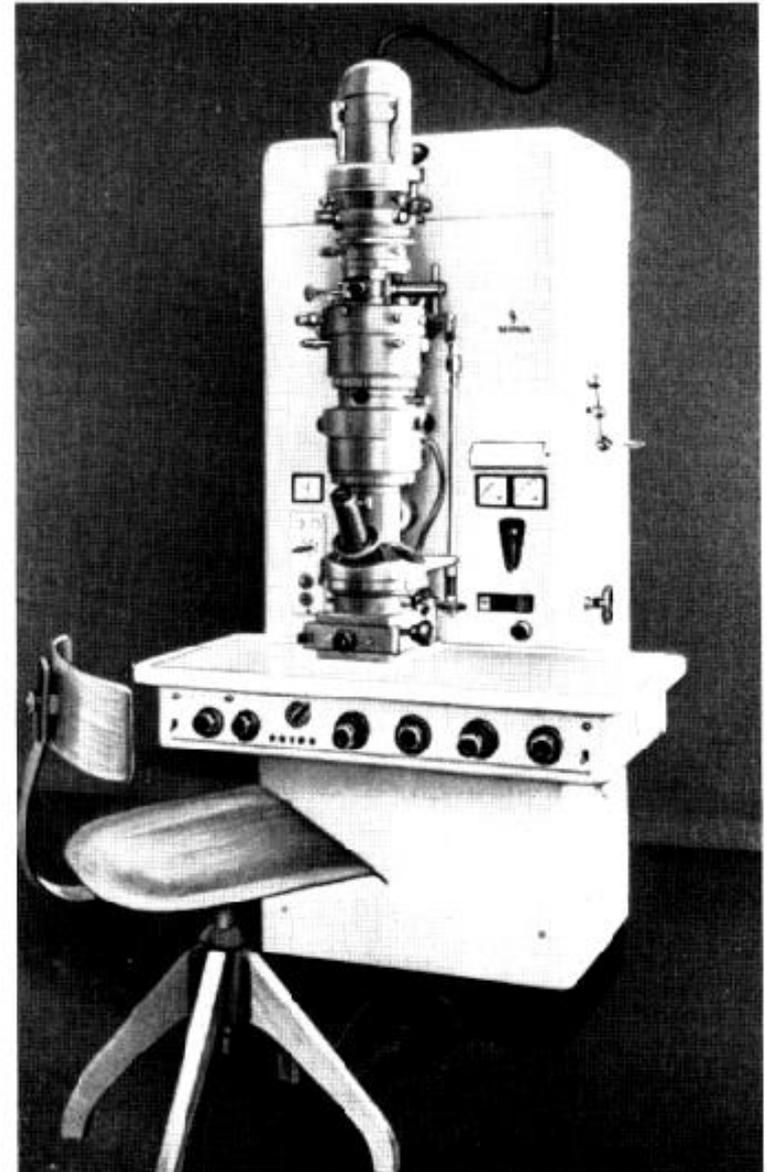
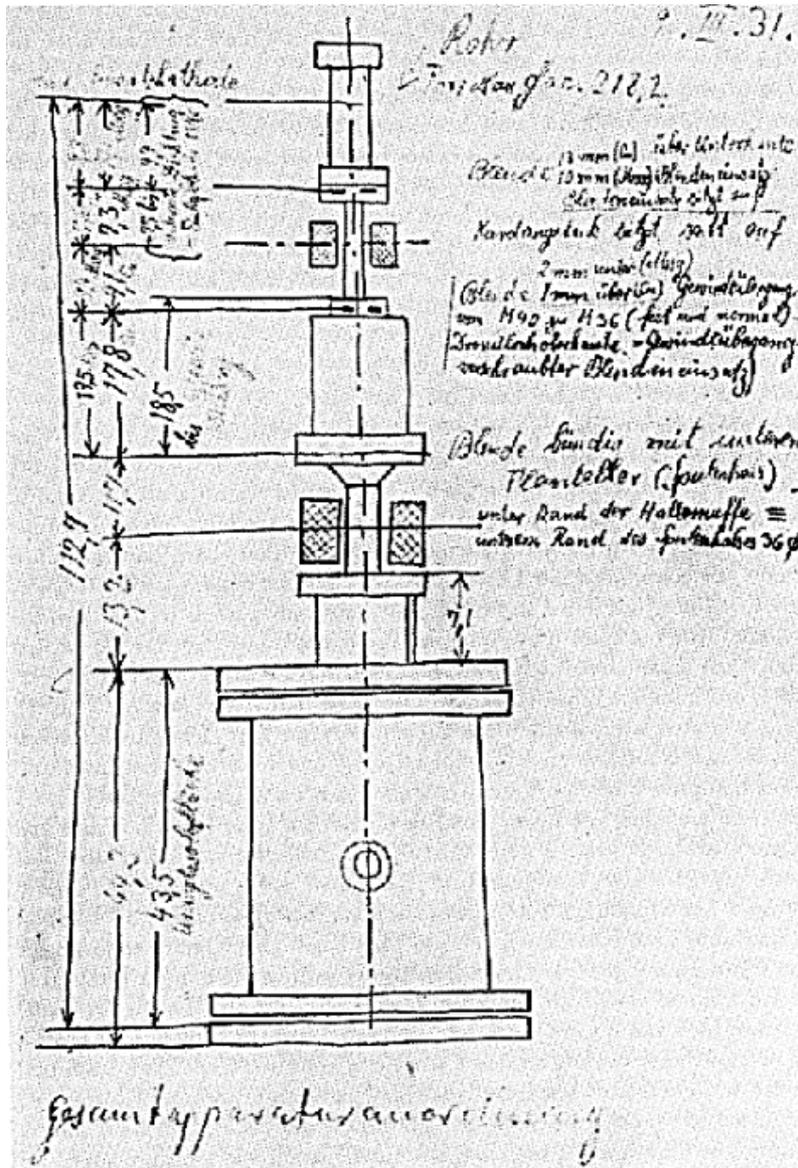


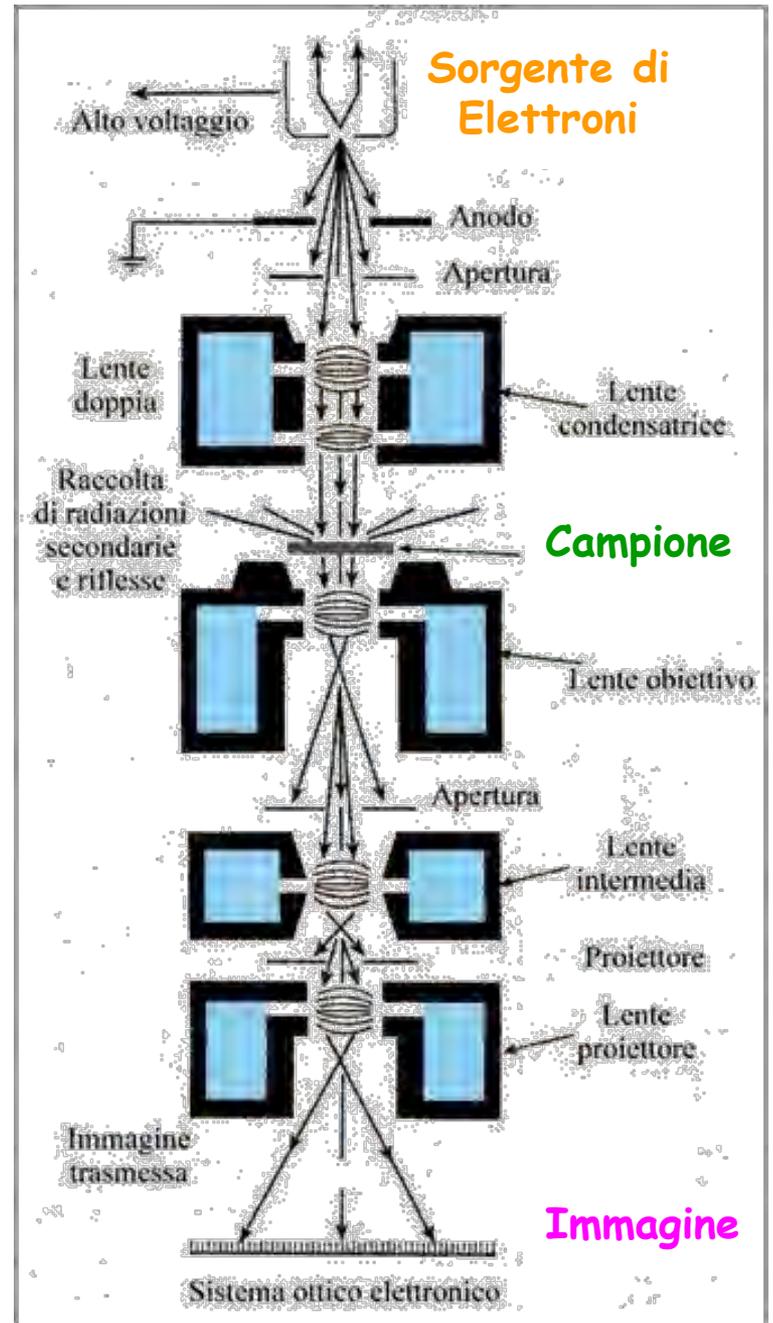
Microscopio elettronico a trasmissione

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!

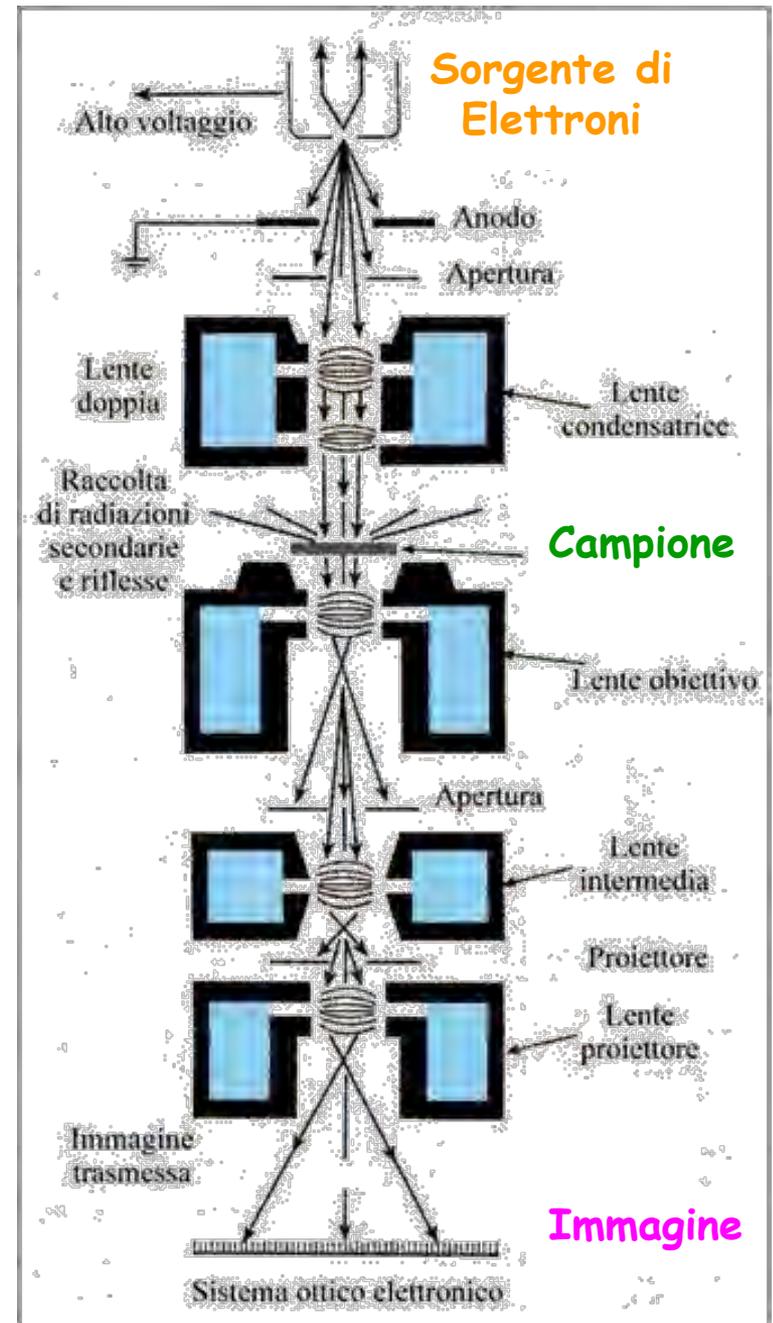
Uso di lenti elettromagnetiche: Nella lente
elettromagnetica variando l'intensità della corrente
varia la distanza focale (ingrandimento)

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

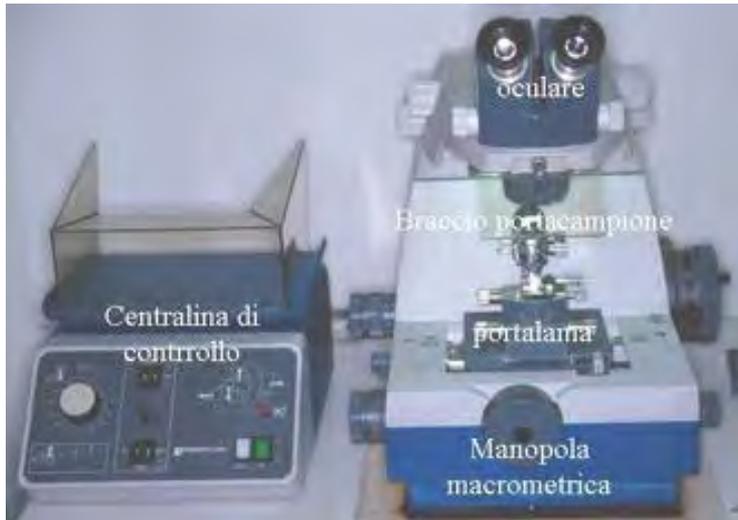
I tessuti sono normalmente quasi incolori e privi di contrasto

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

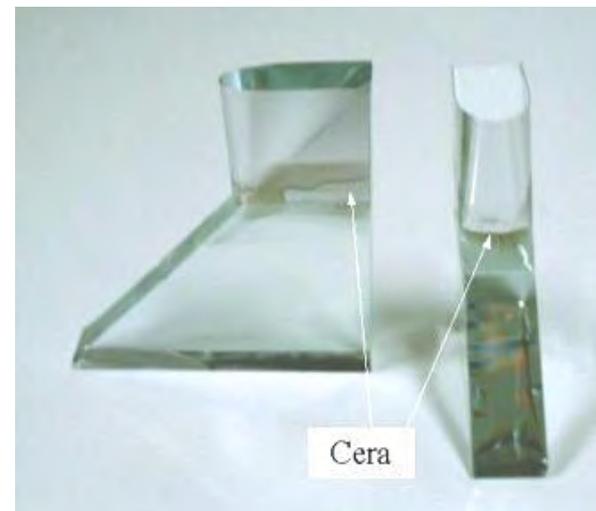
Preparazione dei campioni



L'ultramicrotomo

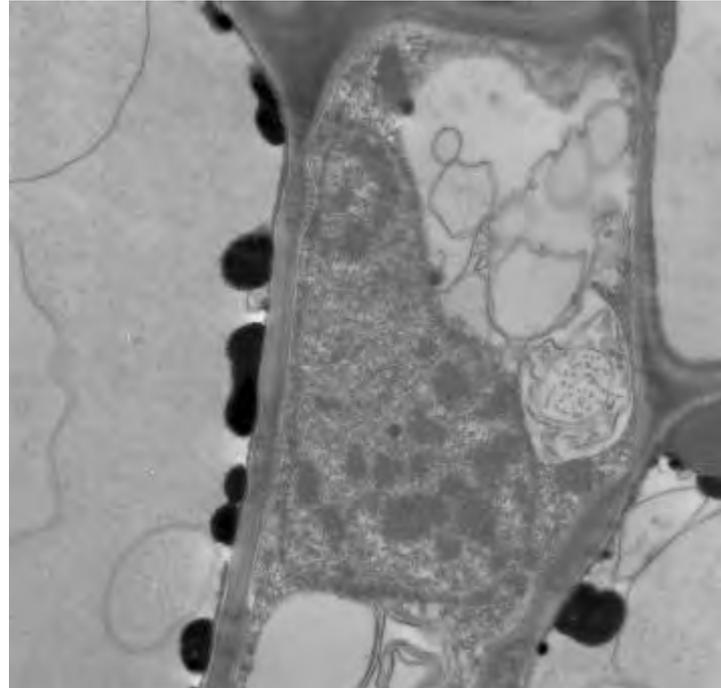
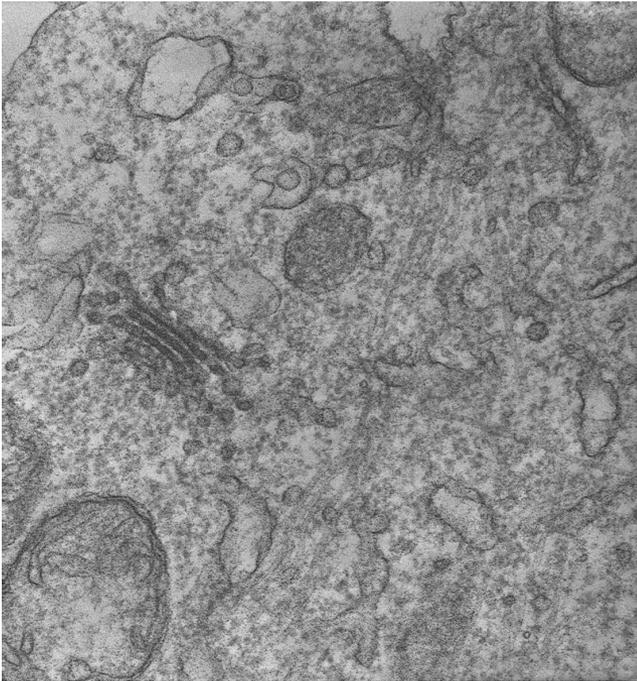


Permette di ottenere sezioni semifini (spessore di $1\ \mu\text{m}$) adatte all'osservazione al microscopio ottico e fini (spessore $70\ \text{nm}$) adatte all'osservazione al microscopio elettronico a trasmissione



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 (μm)

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

(Molti biologi indicano ancora il micrometro col vecchio termine «micron» (μ))

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 risoluzione¹

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 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^{1,2}, YANTUN SONG¹, HUA WU³, LIHONG QIN², LIHUA HU², AND RONG HAO¹

¹College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan, China

²Public Laboratory of Electron Microscopy, Huazhong Agricultural University, Wuhan, China

³Key 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.

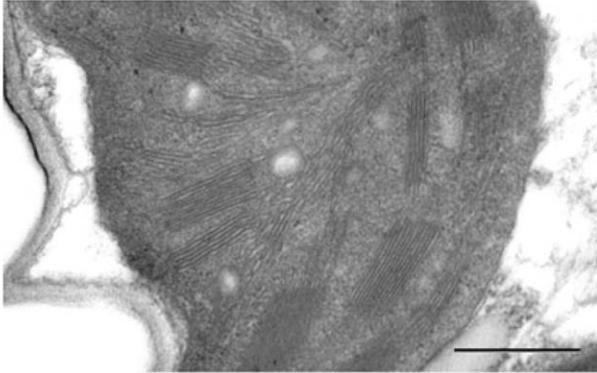
Shuo Zhang, Hui Zhi, Wen Li, Jianguo Shan, Chanjuan Tang, Guanqing Jia, Sha Tang
and Xianmin Diao*

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

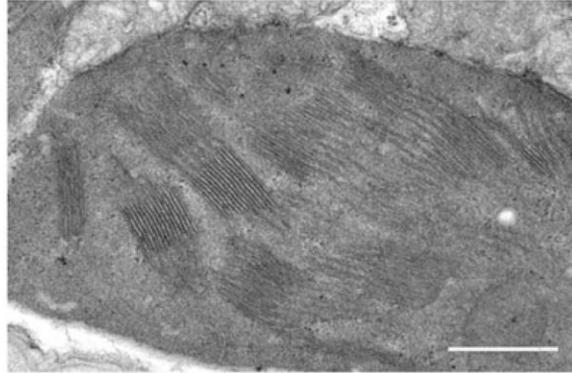
Durante la senescenza fogliare, i cloroplasti si trasformano in gerontoplasti coinvolgendo tipici cambiamenti strutturali che sono stati rivelati tramite la microscopia elettronica a trasmissione da più di 30 anni.

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.

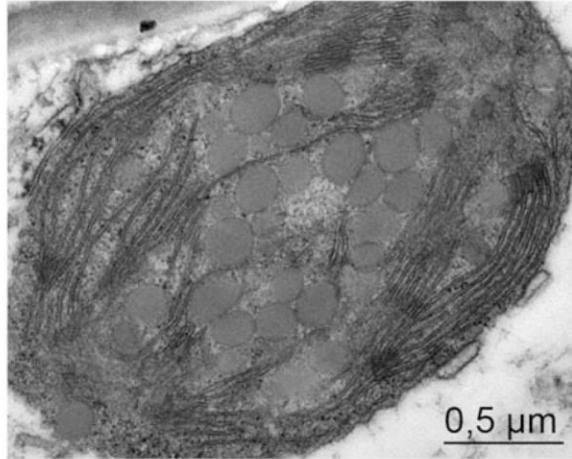
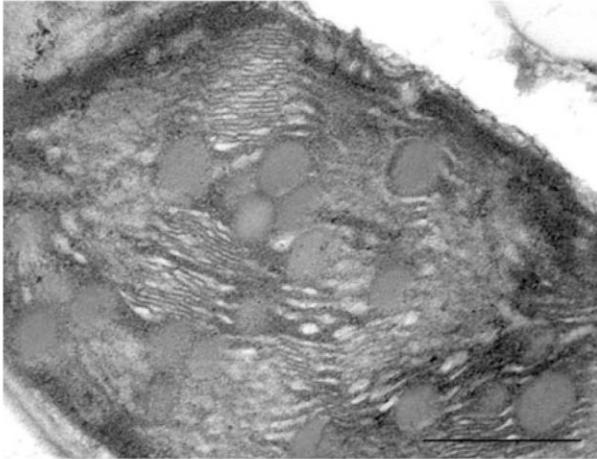
cv. Carina



cv. Lomerit

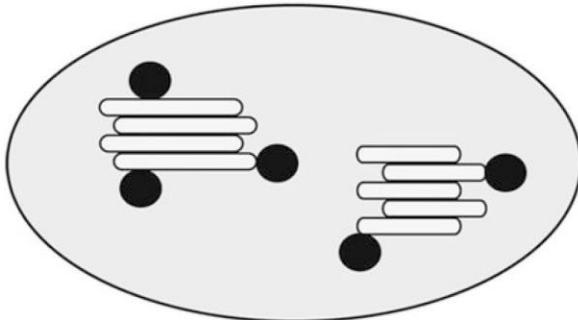


Cloroplasti prima della senescenza

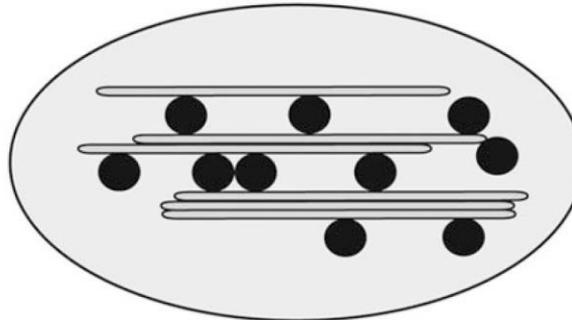


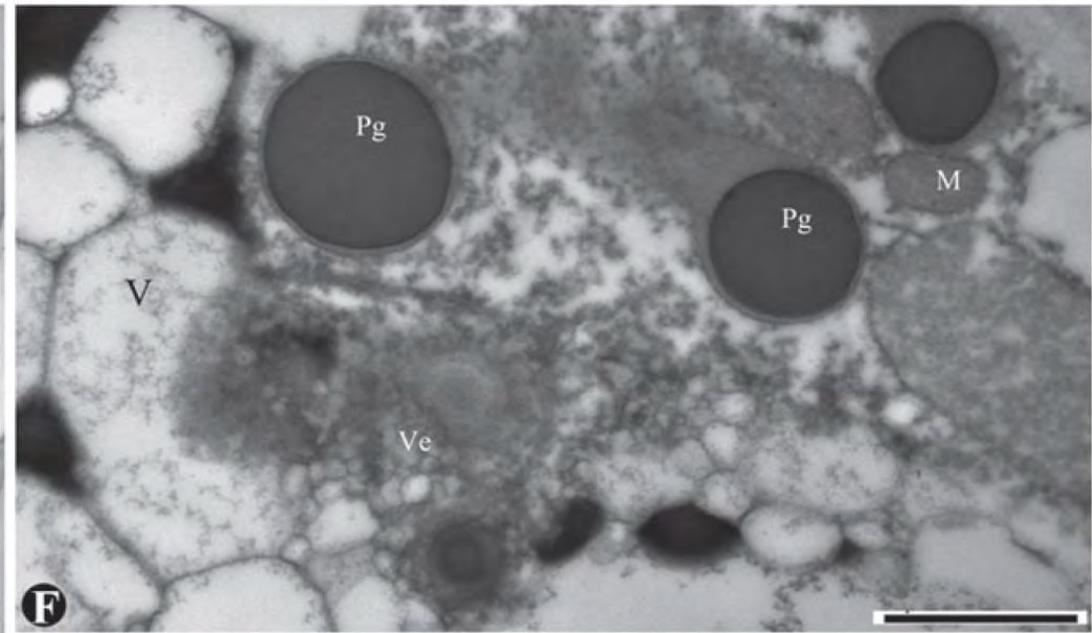
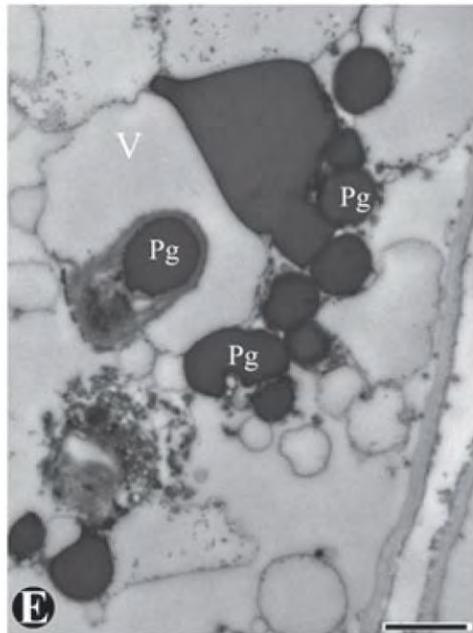
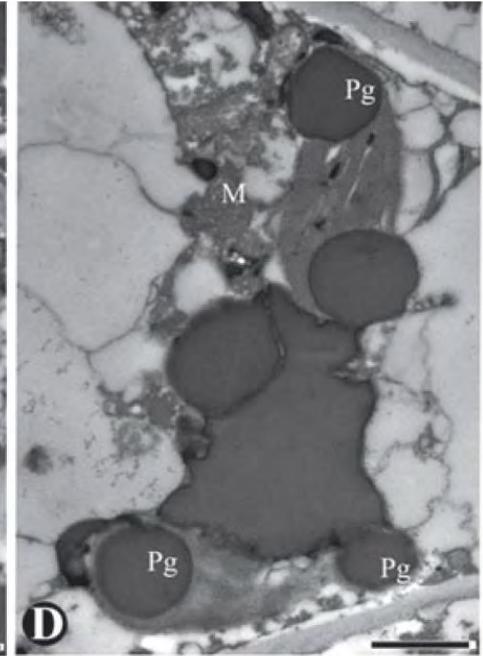
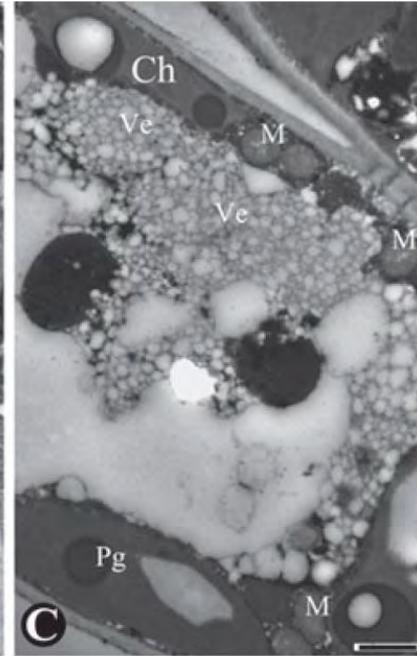
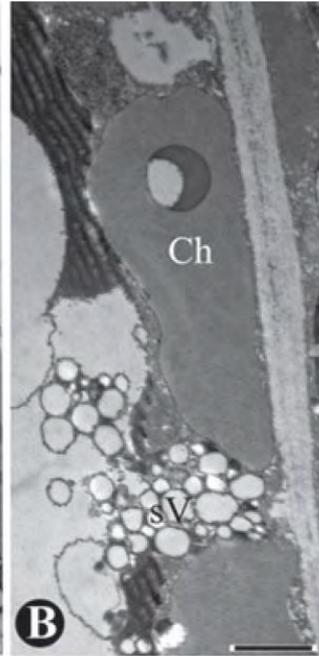
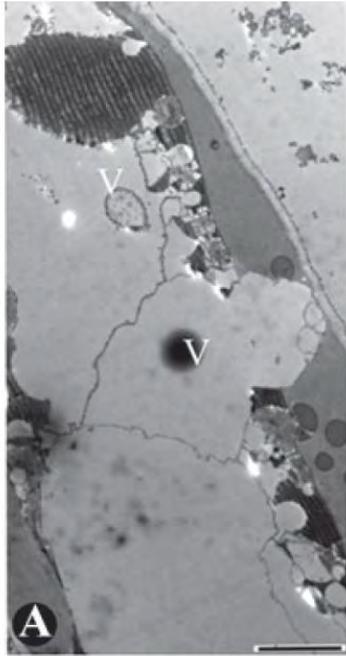
Cloroplasti in una foglia senescente

type 1



type 2





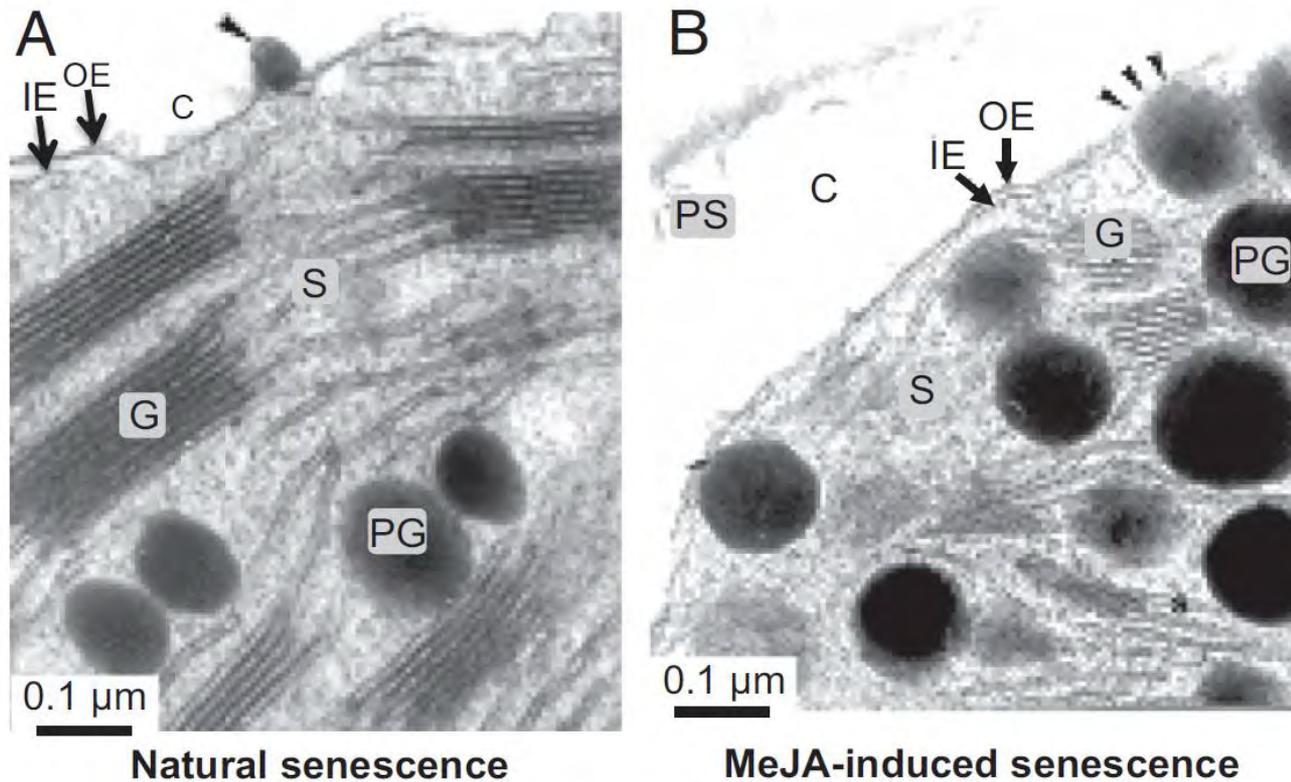


Fig. 1. Plastid leakage during natural senescence (A) and MeJA-induced leaf senescence (B). Scale bars are indicated. Arrowheads indicate extrusion sites of organic matter from chloroplasts. C, cytosol; G, grana thylakoids; IE, inner plastid envelope membrane; OE, outer plastid envelope membrane; PG,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



MALVA

MENTA

MELISSA

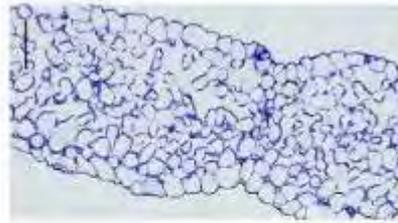
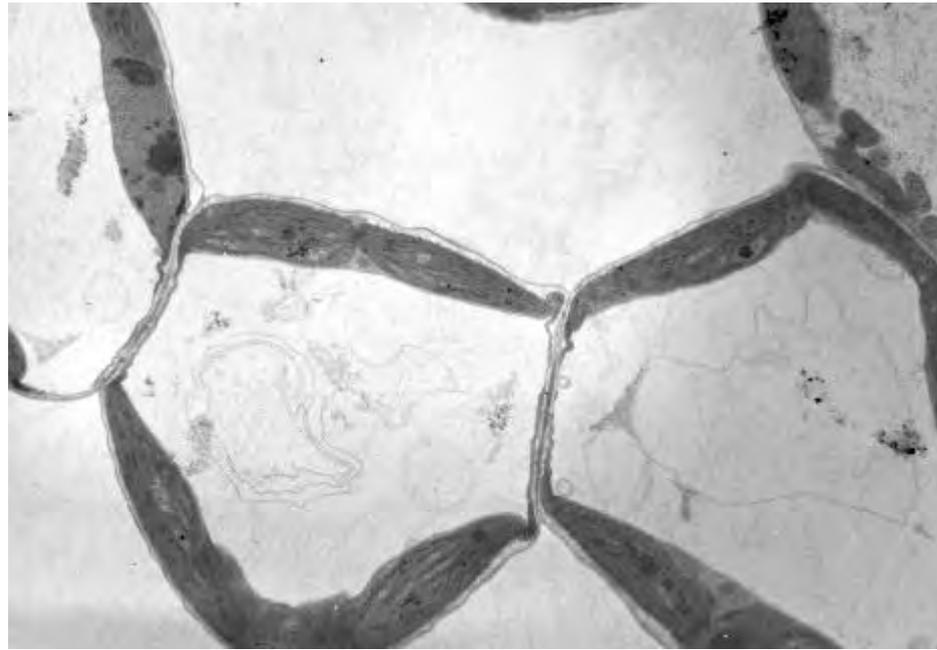
SANTOREGGIA

Raffaella Balestrini
Antonella Faccio

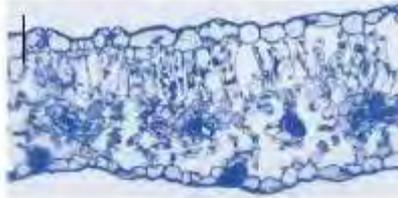
FRESCA
ESSICCAZIONE TRADIZIONALE
ESSICCAZIONE A FREDDO



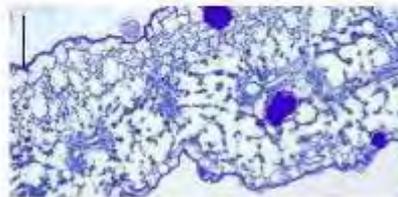
MALVA



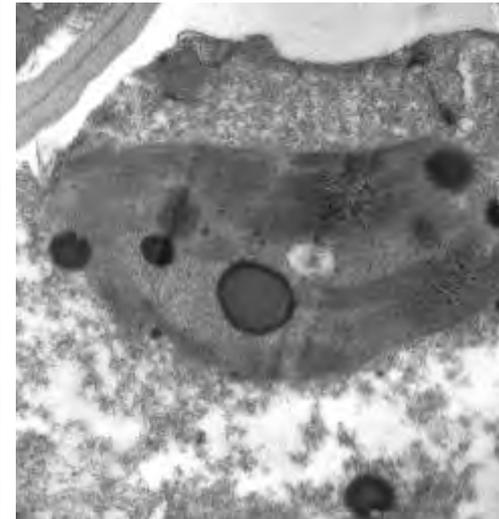
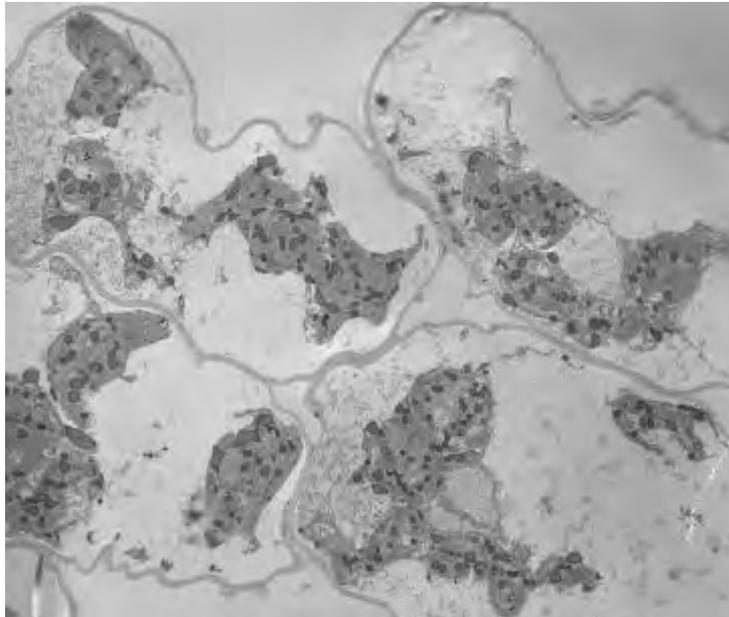
FRESCO



TRADIZIONALE

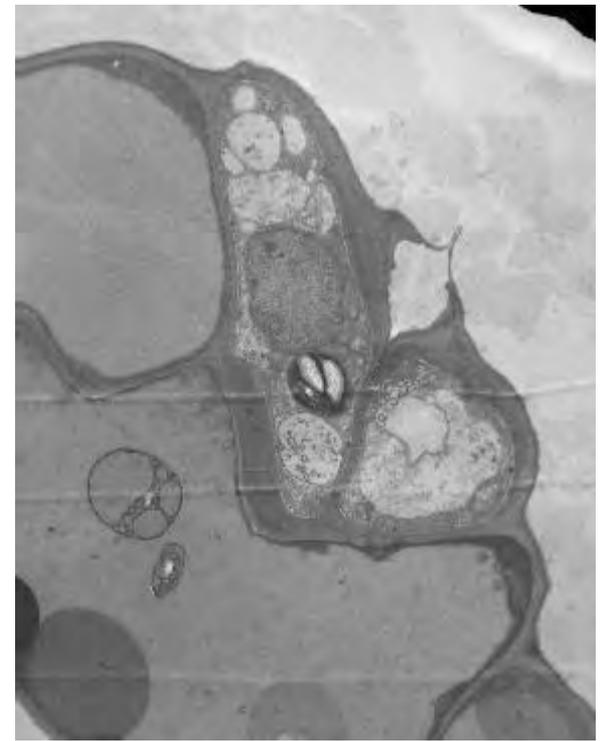
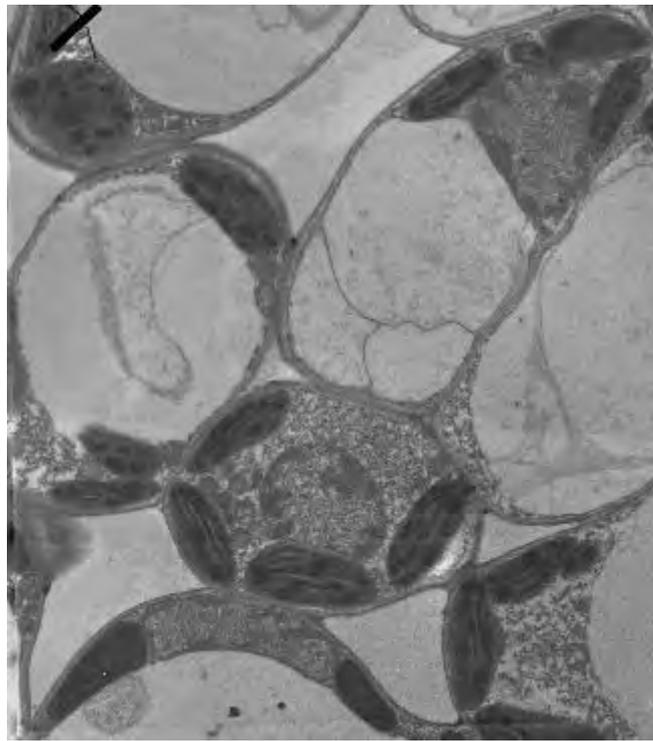


A FREDDO

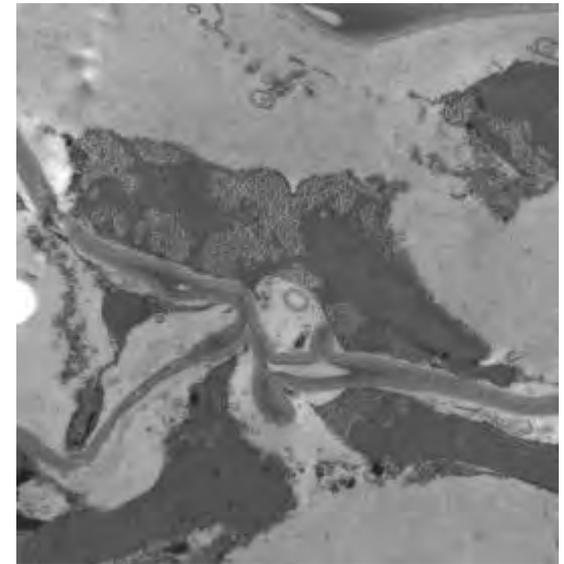
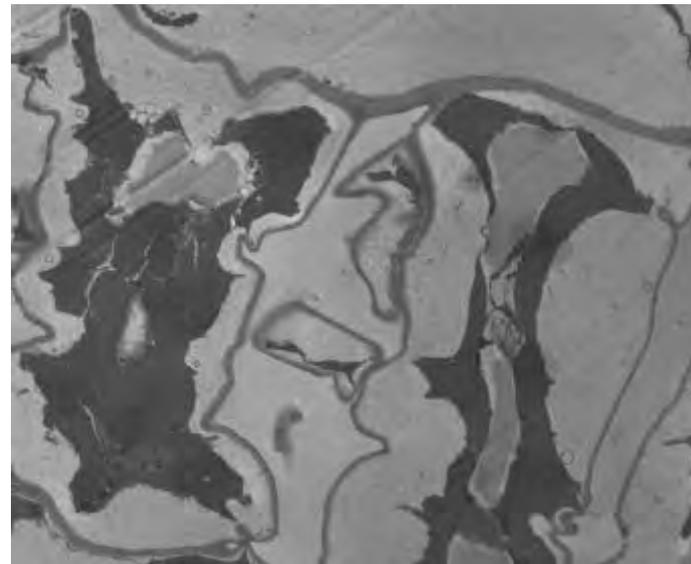




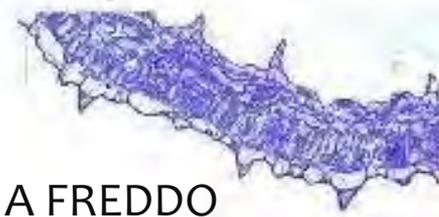
MELISSA



FRESCO



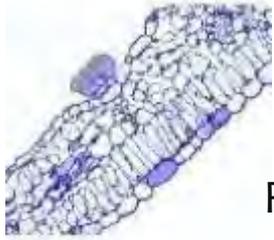
TRADIZIONALE



A FREDDO



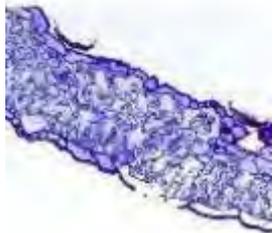
MENTA



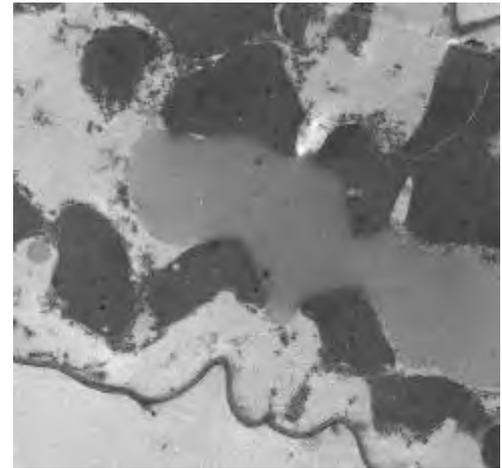
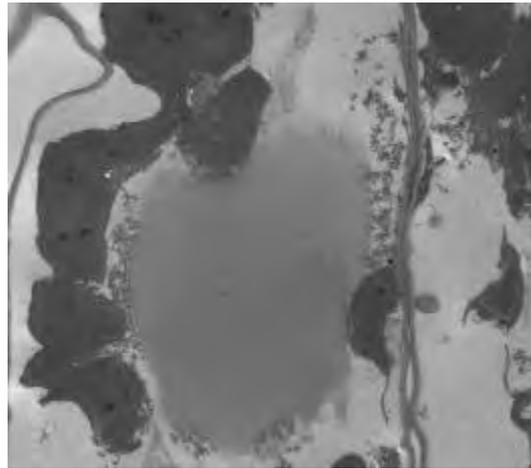
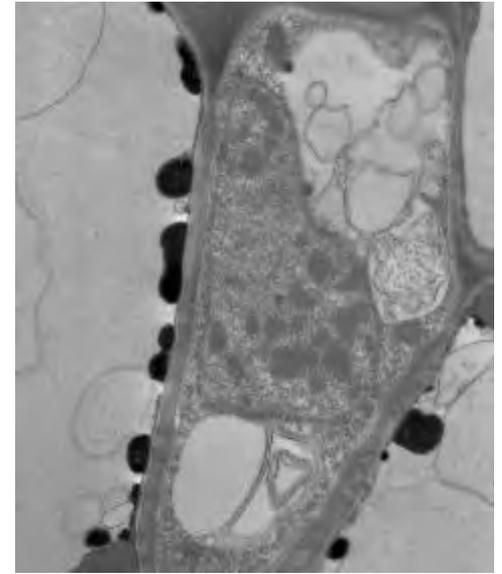
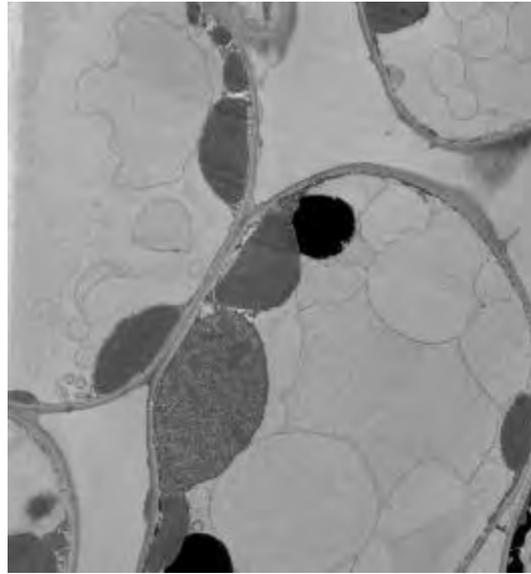
FRESCO



TRADIZIONALE



A FREDDO





SANTOREGGIA

