

TÈCNICA DE VISUALITZACIÓ DE SUPERFÍCIES MICROSCÒPIQUES ADAPTADA PER A LA IDENTIFICACIÓ D'ALIMENTS D'ORIGEN VEGETAL I ESCATES DE PÈLS DE MAMÍFERS

David Clúa Samper

*Departament de Zootècnia
Escola Universitària d'Enginyeria
Tècnica Agrícola de Barcelona*

Manel Fabregat García

Biòleg

RESUM

Aquesta tècnica ens permet visualitzar superfícies microscòpiques d'una forma ràpida i econòmica, per la qual cosa pot ésser molt vàlida en aplicacions que requereixin rapidesa, senzillesa i gran quantitat de preparacions.

Es fa un breu comentari d'algunes tècniques emprades fins ara en la visualització de superfícies, tot i fent esment de la seva com-

plexitat i/o dels seus inconvenients. S'exposa la tècnica emprada per nosaltres adaptada concretament a la identificació de partícules d'aliments d'origen vegetal així com també a la visualització i classificació de les escates dels pèls de gossos. Els resultats indiquen que la present tècnica pot ésser un valúos complement en el camp de la microscòpia de pinsos.

RESUMEN

Esta técnica permite visualizar superficies microscópicas de forma fácil y económica, por lo que puede ser de gran ayuda en aquellas aplicaciones que requieran rapidez, simplicidad y gran número de preparaciones. Se hace un breve comentario de algunas técnicas utilizadas hasta ahora para la visualización de superficies, citando su complejidad y/o sus inconvenientes. Se expone la técnica

utilizada por nosotros adaptada concretamente a la identificación de partículas de alimentos de origen vegetal y también a la visualización y clasificación de las escamas de los pelos de perro. Los resultados indican que esta técnica puede ser un valioso complemento en el campo de la microscopia de piensos.

ABSTRACT

An easy and economical way for microscopic surfaces observation is allowed by this technique. It can help out in situations where rapidity, simplicity and great number of preparations are required. A brief comment of some surfaces observation techniques

used till now is made. The technique used by us specifically adapted for vegetal particles feed observation, as well as for hair dog scales classification is described. The results indicate that this technique may be a new complementary tool in feed microscopy field.

1.— INTRODUCCIÓ

Per a la visualització de superfícies hi ha diferents mètodes o tècniques: des de les de gran complexitat i sofisticació (microscopi electrònic) fins a les més senzilles (com les que utilitzen pel·lícula fotogràfica, gelatina, silicona, etc.).

Pel que fa a les primeres no hi ha cap dubte que proporcionen una gran resolució i una perfecta qualitat d'imatge, però tenen l'inconvenient de no estar a l'abast de tothom.

Entre les segones cal citar la tècnica de SCHOROEDER modificada al Departament de Zoologia de la U.B. (G.A. LLORENTE y A. MONTORI, 1981), que consisteix bàsicament en confeccionar un motlle de la superfície a estudiar amb gelatina estovada d'una pel·lí-

cula fotogràfica. Aquesta tècnica té l'inconvenient que la preparació no és permanent, ja que el tipus de material emprat (gelatina) es fa malbé molt ràpidament.

Cal esmentar també la tècnica de goma de silicona utilitzada per obtenir impressions de les superfícies de les fulles dels vegetals vius, per tal d'estudiar la distribució i les característiques dels estomes (B.S. MEYER, D.B. ANDERSON y C.A. SWANSON, 1955). Aquesta tècnica requereix la preparació prèvia d'una barreja de la goma de silicona amb un catalitzador, que s'aplica sobre el teixit viu per tal d'obtenir un motlle de la superfície de la fulla una vegada s'ha endurit el producte.

Després de l'obtenció d'aquesta impressió primària s'ha d'obtenir una segona impressió mitjançant l'aplicació d'una capa de laca d'ungles que, un cop endurida, s'ha de separar i col·locar sobre una porta de vidre. Després d'afegir-hi una o dues gotes d'aigua destil·lada ja està a punt d'examinar-se al microscopi.

Una variant per obtenir rèpliques de l'epidermis per tal d'estudiar els estomes (SLAVIK, 1974) consisteix en aplicar damunt la fulla una capa fina d'una barreja d'un compost sòlid transparent amb un dissolvent volàtil. Un cop evaporat el dissolvent es treu amb facilitat la capa fina solidificada que és un negatiu de l'epidermis.

Pel que fa a la utilització de l'esmalt d'ungles per visualitzar els estomes, fou PAZOU-REK (1962) (citat per SLAVIK, 1974) el primer a utilitzar aquest mètode concret i comprovar la seva efectivitat. Més tard, el mètode ha estat utilitzat també per LIN *et. al.* (1984) i YAMAMOTO *et. al.* (1984), però sempre aplicat a l'estudi dels estomes o a l'estudi comparatiu de la morfologia de les fulles, fotosíntesi y conductància foliar en vegetals vius.

En aquesta mateixa línia està la tècnica

emprada pel Departament de Fisiologia Vegetal de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona, en la qual també s'ha utilitzat l'esmalt d'ungles transparent per a l'obtenció de rèpliques epidèrmiques de les fulles de garri i llentiscle.

La tècnica emprada per nosaltres fou utilitzada per la Dra. Joëlle PRUDHOMME (1979) en la seva tesi doctoral per l'estudi de les escates de pèl de gat persa i comunicada a M. FABREGAT pel Director de l'esmentada tesi (Dr. QUEINNEC) per tal de poder dur a terme un estudi sistemàtic de les escates de la cutícula dels pèls dels gossos (1985).

Donat que en aquells moments s'estava iniciant una línia de treball sobre microscopia de pinsos al Departament de Zootècnia de la E.U.E.T.A. de Barcelona, es cregué interessant de veure les possibilitats d'aquesta tècnica en l'estudi sistemàtic de les superfícies de les partícules dels aliments pel bestiar mitjançant llur identificació microscòpica. Fou en aquest sentit quan s'adaptà la tècnica emprada per PRUDHOMME per tal d'ésser aplicada en el camp dels pinsos compostos.

2.— MATERIAL I MÈTODES

S'ha utilitzat un microscopi binocular amb dispositiu automàtic per microfotografia. Cal dir, però, que en cas de no tenir necessitat de guardar les empremtes fotografiades, és suficient la utilització d'un microscopi compost que permeti augments de 100X, 200X, 300X i 400X. S'han utilitzat també els estris normals i necessaris per qualsevol tècnica microscòpica (pinces, bisturi, agulles emmanegades, portaobjectes, plaques de Petri, etc.) així com acetona i laca d'ungles per tal d'acondicionar i preparar les mostres a visualitzar.

Procediment

La tècnica consisteix bàsicament en els següents punts:

1. Deshidratació de la mostra amb acetona. Introduir les partícules a estudiar en acetona continguda en una placa de Petri durant un temps aproximat d'1 a 2 minuts. Cal evitar que hi estiguin massa temps, ja que una deshidratació excessiva pot deformar les estructures vegetals.
2. Acondicionament dels portaobjectes. Els portaobjectes a utilitzar han d'estar intro-

duïts prèviament en acetona, s'han d'escórrer i sense deixar que s'assequin es pinten amb una fina capa de laca d'ungles transparent. La superfície de laca dependrà del nombre de partícules que es vulguin col·locar en cada portaobjecte. Es aconsellable reservar el terç esquerra del portaobjecte per fer-hi les anotacions adients.

3. Col·locar ràpidament la mostra a estudiar sobre la capa de laca i deixar assecar. Segons el tipus de laca emprada i de les condicions ambientals pot variar el temps d'assecat. Caldrà establir en cada cas quin és el temps òptim.
4. Eliminació de la mostra i obtenció de

l'empremta. Aixecar una punta de la partícula amb l'ajuda d'una agulla emmanegada i arrencar-la sense por de fer malbé la preparació. Si el procés d'acondicionament i enduriment ha estat correcte s'obtindrà una empremta nítida de la superfície que ha estat en contacte amb la laca.

5. Visualització al microscopi. Sense necessitat de posar cap tipus de cobreobjecte es pot examinar directament al microscopi l'empremta deixada per la mostra. En alguns casos es pot utilitzar el contrast de fases encara que no és imprescindible, ja que la qualitat de la imatge es prou bona per una observació normal.

3.— RESULTATS I CONCLUSIONS

Pel que fa a l'aplicació d'aquesta tècnica per a la visualització de la superfície microscòpica de partícules d'aliments d'origen vegetal utilitzats per a l'alimentació dels animals, hem pogut comprovar la seva validesa, donat que la resolució assolida de l'epidermis de diferents productes ens donà una informació suficient per la seva identificació. Els resultats obtinguts indiquen que la

present tècnica pot ésser de gran ajuda per als tècnics de Control de Qualitat de les fàbriques de pinsos compostos, donat que, en certs casos, pot aportar una valuosa informació complementària a les observacions microscòpiques directes. S'inclouen algunes de les microfotografies obtingudes amb aquesta tècnica (fotos 1 a 6).

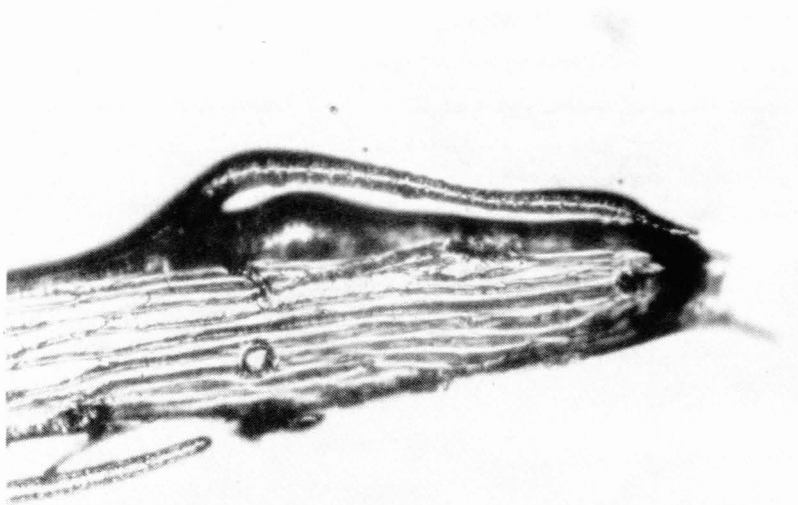


Foto 1.— Microfotografia de l'empremta d'una partícula de fulla d'alfals en la qual es pot apreciar amb detall un característic pèl berrugós ($\times 125$).

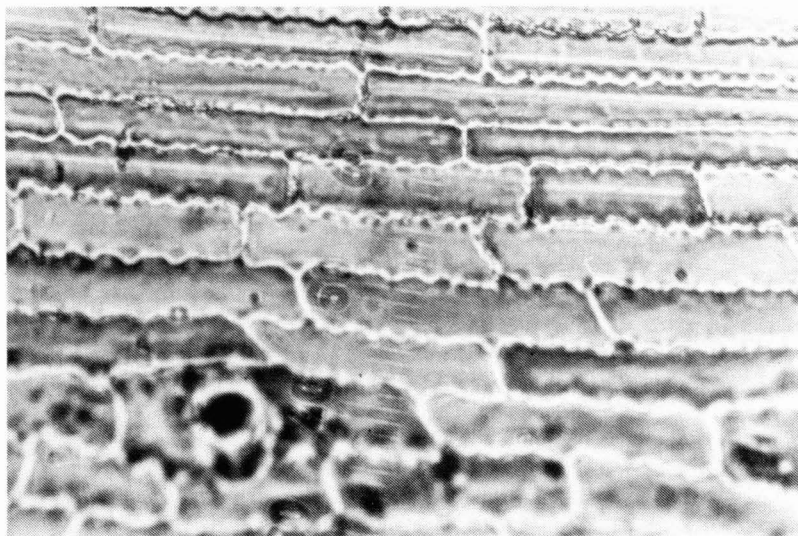


Foto 2.— Microfotografia de l'empremta de l'epidermis d'una partícula de canya (*Arundo donax*) ($\times 200$).

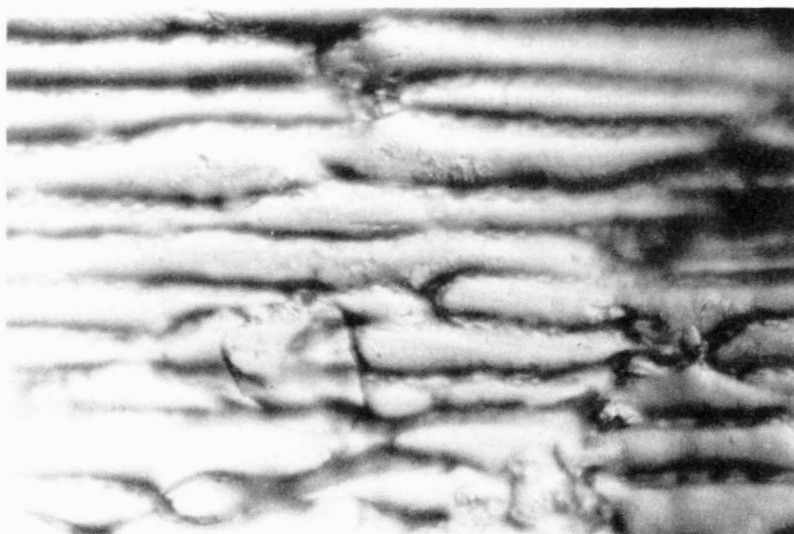


Foto 3.— Microfotografia de l'empremta d'una partícula de palla de blat obtinguda amb contrast de fase ($\times 200$).

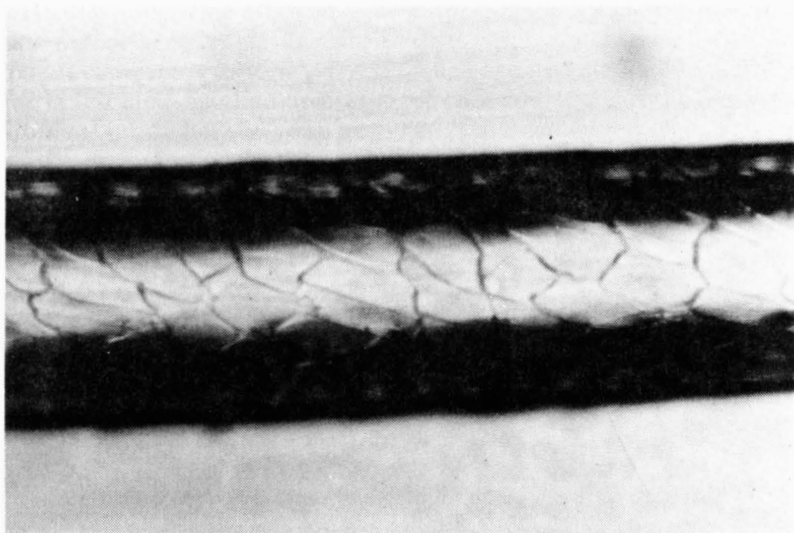


Foto 4.— Microfotografia de l'empremta d'un pèl de gos Pastor Alemany ($\times 200$).

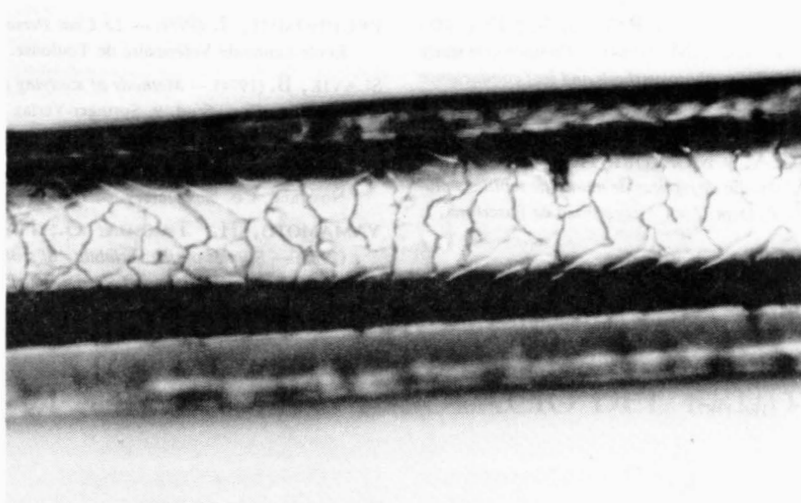


Foto 5.— Microfotografia de l'empremta d'un pèl de gos Rought Collie ($\times 200$).

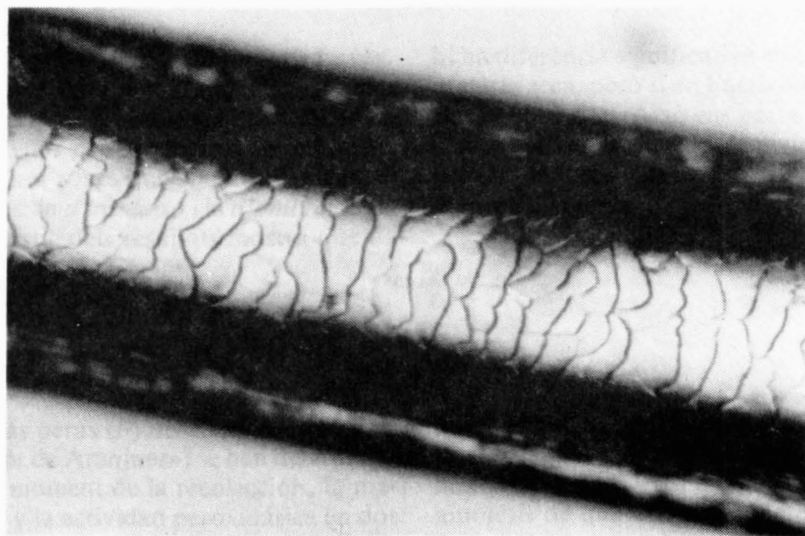


Foto 6.— Microfotografia de l'empremta d'un pèl de gos Doberman ($\times 200$).

4.— BIBLIOGRAFIA

- LIN, T.S.; CRANE, J.C.; RYUGO, K.; POLITO, V.S.; DE JONG, T.M. (1984).— *Comparative study of leaf morphology, photosynthesis and leaf conductance in selected Pistacia species*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 109 (3), pp. 325-330.
- LLORENTE, G.A. y MONTORI, A. (1981).— *Método rápido de obtención de réplicas de mudas de reptiles y plumas de aves*. P. Dept. Zool. Universidad de Barcelona, 7: 73-76.
- MEYER, B.S.; ANDERSON, D.B. y SWANSON, C.A. (1955).— *Laboratory Plant Physiology*. 3rd. Ed. D. Van Nostrand Co., Inc., Princeton, New Jersey. p. 46.
- NORTH, C. (1956).— *A technique for measuring structural features of plant epidermis using cellulose acetate films*. Nature 187: 1186-1187.
- PRUDHOMME, J. (1979).— *Le Chat Persan*. Thèse Doct. Ecole nationale Vétérinaire de Toulouse.
- SLAVIK, B. (1974).— *Methods of studying plant and water relations*. Ecol. Stud. 9. Springer-Verlag. Berlin. 450 p.
- WITHAM, F.H.; BLUYDES, D.F. y DEVLIN, R.M. (1971).— *Experiments in plant physiology*. Edit. V. Van Nostrand, Co. New Jersey. p. 103-107.
- YAMAMOTO, H.; TAKEDA, G.; NAKAJIMA, T. (1985).— *Studies on the variability of stomatal density in soybean cultivars*. Japan. J. Crop. Sci., 54 (2), 127-133.