

LA SALICÒRNIA: UN ESTUDI MICROSCÒPIC

Sara Padrell i Sánchez

Aquest article és un resum del treball de recerca de segon de batxillerat, del mateix títol, realitzat al curs 2004-05 a l'IES Gabriel Ferrater de Reus, amb la tutoria dels professors Josep Maria Llorc Planchadell i Albert Pujol Codina. Fou distingit amb un premi CIRIT 2006 de foment de l'esperit científic del jovent convocat pel Departament d'Universitats, recerca i societat de la informació de la Generalitat de Catalunya. El treball conté nombroses imatges (més de 1.000) en color que per raons presupostàries no s'han pogut editar.

Introducció

Per començar el meu treball de recerca de batxillerat em vaig qüestionar que volia investigar i per què ho volia investigar, així doncs, us exposaré abans que res la resposta a aquestes preguntes.

El meu treball de recerca consisteix en la investigació microscòpica d'una planta en concret: La Salicòrnia (*Arthrocnemum fruticosum*). Consisteix també, en veure si els factors ambientals, com la salinitat o la pluviometria, d'una zona determinada com els "Els salats i els Muntanyans" de Torredembarra es veuen reflectits en la visió microscòpica d'aquesta planta. Per a poder comentar millor les observacions, la meua intenció és comparar-les amb les estructures generals que descriuen els llibres. També he fet un petit estudi de la Campaneta de mar per a poder comparar les imatges de la Salicòrnia amb imatges d'una altra planta que visqui al mateix hàbitat però amb una estructura totalment diferent.

Vaig escollir aquest tema perquè sempre m'ha cridat l'atenció tot el món cel·lular, volia dur a terme alguna investigació que estigués estretament relacionada amb el microscopi i per tant amb la cèl·lula. Per aquesta raó, el meu tutor em va proposar aquest tema, el qual em permetia entrar en el fascinant món de la cèl·lula i a l'hora m'incitava a conèixer un paratge poc comú en els nostres paisatges: "Els Salats i els Muntanyans" de Torredembarra, una platja estrictament natural, sense estar alterada per l'acció humana.

Vaig partir de les hipòtesis inicials següents:

1. Ja que estudio una planta que es troba en un medi amb una salinitat molt elevada, no seria estrany trobar alguns cristalls de sal entre les observacions microscòpiques.

2. Espero trobar els teixits i la morfologia descrita en la bibliografia, però potser amb algunes variacions produïdes per les particularitats del medi en el que es troba.

Descripció general: els Salats i els Muntanyans

El litoral de Torredembarra és una zona amb platges compresa entre el nord de Torredembarra i Creixell, amb una extensió d'uns 10 km i una amplada de 200 m entre el mar i la via del tren. Aquesta zona de platges i aiguamolls s'anomena "Els Salats i els Muntanyans". És una de les platges que cal destacar, ja que és una de les poques que conserva la seva fauna i vegetació sense haver patit cap alteració per la mà de l'home. Gaudeix de les seves característiques dunes (muntanyans) tocant a la línia de mar junt amb els seus aiguamolls (salats) poblats d'innumerables espècies, ja siguin microscòpiques o una mica més grans com la gran quantitat d'espècies d'aus que s'aprofiten dels esmentats aiguamolls.

Una altra particularitat d'aquests aiguamolls respecte els altres és que la major part de l'aigua que els constitueix prové de la filtració de l'aigua del mar a través de la sorra de la platja i de l'aigua que entra directament als aiguamolls amb la pujada del nivell del mar, aquests dos factors són decisius a l'hora de determinar la composició de l'aigua dels aiguamolls ja que observarem que és salada, i d'aquí que s'hagi adquirit el nom de "Salats".

Les diverses condicions ambientals que hi podem trobar permeten l'establiment de nombroses comunitats vegetals especialitzades en la colonització de medis molt rigorosos. Aquesta gran diversitat de condicions ambientals ens fa possible l'estudi de les estratègies i adaptacions que presenten els vegetals per a fer front a les condicions desfavorables.

L'ambient

Les condicions de vent han afavorit l'aparició de tot un seguit de dunes paral·leles a la línia de mar, que deixen en alguns punts una comunicació de l'espai reredunar amb el mar, originant-se extensions que resten cobertes d'aigua salobre durant la major part de l'any. Això permet que es produeixi una successió de comunitats vegetals que va variant segons varien les condicions.

Bàsicament podem distingir en el litoral de Torredembarra dos tipus de vegetació ben diferenciada, una la vegetació adaptada a les condicions mòbils, eixutes i amb poques substàncies nutritives de les dunes, és la vegetació psamòfila. L'altre tipus de vegetació és la que trobem a les zones d'aigües salabroses, sotmesa a forts canvis de salinitat, és la vegetació halòfila. Entre una i altra, s'estableixen diferents comunitats que van adaptant-se a les variacions de les condicions. De fet, podem establir de mar cap a terra, els següents ambients:

– *Zona de platja*: textura de sòl arenosa; s'extén de mar fins al peu de les dunes; és una zona sense vegetació.

– *Dunes*: textura de sòl arenosa; gran porositat i com a conseqüència escassa capacitat de retenir aigua ja que els porus són molt grans. Donada la manca d'aigua hi ha poca capacitat de regular la temperatura, principalment a la superfície, on l'oscil·lació de temperatures durant el dia pot arribar als 20°C. És un medi molt pobre en nutrients. La sorra es comporta com un fluid, per tant inestabilitza el sòl. És una zona afectada per l'aero-sol marí carregat de sals.

– *Reraduna*: el sòl incorpora partícules de tamany llim; hi ha nés capacitat de retenir aigua; és una mica més ric en nutrients. Donat que es troba a sotavent el sòl no és tant mòbil.

– *Jonquera*: sòl més argilós i més salí. Hi ha aigua, però està carregada de sals. La concentració de nutrients és més elevada.

– *Teròfits*: zona amb gran quantitat de sals, que es renten amb la pluja de la primavera permetent l'establiment de plantes amb un cicle màxim de dos mesos. Durant la resta de l'any no hi ha vegetació.

– *Salobrar*: sòl amb molta argila, molt impermeable; bona concentració de nutrients; salinitat molt elevada. Bona part de l'any està coberta d'aigua.

Les adaptacions

Per a fer front a totes aquestes condicions canviants i desfavorables, les plantes han desenvolupat tot un seguit d'adaptacions:

– *Adaptacions de les plantes psamòfiles*: hi ha un gran desenvolupament de la xarxa formada per les arrels per a afavorir la subjecció en un terreny que és mòbil i resistir la força del vent. Al mateix temps aquest potent sistema radicular serveix per a captar la poca aigua i nutrients que

hi ha. Presència de rizomes, arrels que neixen a la base de la tija i creixen horitzontalment fixant el terra i acumulen aigua i nutrients. Degut a la possibilitat de soterrament de les plantes, aquestes incrementen la concentració de clorofil·les si s'ensorren. Les fulles bé són carneses, bé contenen espines o s'han reduït molt. En el cas d'*Ammophila*, les fulles es cargolen sobre sí mateixes reduint notablement la superfície de transpiració. Les adaptacions fenològiques, aquelles que depenen dels factors climàtics, fan que les floracions de les plantes es produeixin principalment a la primavera i tardor, quan hi ha un aport d'aigua suficient i l'evapotranspiració és més reduïda.

– *Adaptacions de les plantes halòfiles*: malgrat ser una zona amb abundant aigua, aquesta no està disponible per a les plantes, ja que porta en solució gran quantitat de sal. Per a resoldre aquest problema les plantes halòfiles concentren el medi intracel·lular més que no pas l'exterior de la planta, es permet així el pas d'aigua cap a l'interior. Aquesta concentració és regulable per la pròpia planta mitjançant tres mecanismes: exclusió de sals per les arrels o per les fulles a través d'un transport actiu, dissolució de les sals dins el medi cel·lular i acumulació de sals en parts que moren i es desprenen.

Distribució en l'espai

La vegetació, en funció de les condicions ambientals i de la seva capacitat per a fer front als problemes que presenten aquestes condicions, serà capaç o no de colonitzar el sòl. La mesura de l'èxit de les plantes es pot fer mitjançant la mesura del recobriment del sòl que efectuen les espècies vegetals. Com més recobriment per part de les plantes, més èxit representa que tenen les espècies per a fer front als problemes que presenta el medi. Podrem constatar que a mesura que ens allunyem del mar el recobriment augmenta, degut a l'enriquiment en nutrients del substrat.

L'èxit que presenta el conjunt de la vegetació en colonitzar un medi determinat, es pot mesurar mitjançant el càlcul de la diversitat d'espècies que hi ha en cada ambient. La diversitat augmenta com més favorables són les condicions del medi, ja que potencialment s'hi poden establir un nombre més elevat d'espècies.

Zona d'aiguamolls

Rere les dunes apareixen els aiguamolls poblats per la planta salicòrnia, la qual admet unas paràmetres de salinitat molt elevats.

Els aiguamolls són llacunes de poca profunditat més o menys permanents d'aigua salada, tot i així, la salinitat dels aiguamolls és inferior a la del mar ja que l'aigua que constitueix els aiguamolls no prové tan sols del mar, sinó que també rep aportacions del nivell freàtic infrajacent i de les pluges.

Si enretirem la capa més superficial de fang que hi ha als aiguamolls podem observar que el color del sòl és negre, això ens indica la presència de gran quantitat de matèria orgànica sotmesa a condicions anòxiques i reductores que poden ocasionar la formació de torba.

Pluviometria

Les pluges són escasses i irregulars. Normalment, el vent responsable de les poques precipitacions que hi ha és el llevant ja que és un vent provinent del Mediterrani i per tant carregat d'humitat que quan topa amb les serralades costaneres es refreda provocant la seva condensació i conseqüentment la seva precipitació. Un altre factor que intervé en la pluviometria són les tamborinades d'estiu, que consisteixen en tempestes molt intenses que descarreguen grans quantitats d'aigua en molt poc temps. Es duen a terme quan un front fred entra en contacte amb l'aire calent i humit de la costa.

La Salicòrnia

La salicòrnia és una planta angiosperma dicotiledònia de la família de les quenopodiàcies, gènere *Arthrocnemum* i el seu nom científic és *Arthrocnemum fruticosum*. També és coneguda amb els noms: salicorn, herba salada, pollet i cirialera herbàcia. La seva forma vital és la de teròfit, és a dir que és una herba anual.

Aquesta planta és pròpia de sòls salins, per tant la podrem trobar a salines i saladers, a qualsevol lloc que tingui una alta concentració de sal. És una planta fàcil de reconèixer ja que l'òrgan que realitza la fotosíntesi són les tiges en lloc de les fulles, per tant podem parlar d'una planta amb tiges fotosintètiques. Seria fals afirmar que aquesta planta no té fulles: estan reduïdes a petites escames però es poden localitzar oposades a l'inici de cada tija, a simple vista no semblen aparents. Les tiges cilíndriques estan articulades en nusos i entrenusos, són carneses i de

color verd, menys al final del seu cicle quan es torna vermellosa. Les flors són molt poc aparents, estan agrupades en grups de tres als nusos de la part superior de les tiges. Forma veritables gespes, generalment als marges del torrents quan arriben al mar o a les vores dels salobrans a llocs esporàdicament inundats per aigües salades. Té un gust salat particular.

Material i mètode

Per a fer els talls

1. Hem agafat uns tres centímetres de longitud de barra de talls i l'hem partit longitudinalment amb la navalla.

2. Hem introduït el material biològic del qual en volem obtenir un tall entre els dos trossos de la barra de talls.

3. Hem comprovat que la pinsa interna de pressió del micròtom i la seva alçada interior es trobés en la seva posició més baixa.

4. Hem col·locat la barra de talls juntament amb el material biològic a l'interior del micròtom de mà.

5. Hem ajustat la barra de talls amb la pinsa interior de pressió per a evitar que el material biològic es mogués.

6. Amb l'ajut de la graduació que el micròtom té a la seva part inferior, hem fet girar el peu del micròtom fins pujar la barra de talls i el material biològic quinze micròmetres.

7. Per a tenir més facilitat a l'hora de fer el tall, hem lubricat la navalla amb alcohol de 96°.

8. Hem desplaçat la navalla per sobre de la superfície del micròtom fins obtenir un tall molt fi del material biològic.

9. En el tall que hem fet, hem obtingut un tall molt fi del material biològic i una làmina de la barra de talls. La làmina de la barra l'hem llençat a la paperera, però el tall del material biològic l'hem introduït, amb l'ajuda d'una llanceta, en una càpsula de petri que anteriorment havíem omplert amb aigua per a evitar la dessecació de les mostres.

10. Tot aquest procés que hem fet entre els passos 6 i 9 els hem repetit diversos cops obtenint varies mostres per a poder escollir les més bones, tenyir-les i observar-les.

Per a preparar la picrofucsina

- 10 cm³ de fucsina àcida a l'1% amb aigua destil·lada:

a) Càlculs:

1. Com que volem obtenir 10 cm³ de fucsina àcida a l'1%, hem calculat quin és l'1% de 10.

$$\frac{10 \times 1}{100} = 0.1$$

b) Procediments:

2. Hem col·locat un rellotge de vidre a sobre d'una balança de precisió.
3. Amb l'ajut d'una espàtula hem anat posant fucsina àcida a sobre del rellotge de vidre fins que la balança ha pesat 0.1g de fucsina àcida.
4. Hem col·locat un embut de vidre a sobre d'una probeta graduada.
5. Amb l'ajut de l'espàtula, hem introduït per l'embut la fucsina àcida a la probeta graduada.
6. Amb l'aigua destil·lada hem rentat el rellotge de vidre intentant que totes les partícules de fucsina àcida que poguéssin haver quedat al rellotge de vidre caiguin a dins la probeta.
7. Hem acabat de reomplir la probeta amb aigua destil·lada fins que la part inferior del menisc ha marcat 10 cm³.

- 100 cm³ d'àcid pícric en solució aquosa saturada:

a) Càlculs:

8. Hem calculat quins han de ser els cm³ totals de picrofucsina si volem obtenir 10 cm³ de fucsina àcida i 100 cm³ d'àcid pícric.

$$10 + 100 = 110$$

b) Procediments:

9. Hem anat tirant àcid pícric per l'embut a la probeta on tenim la fucsina àcida preparada fins que la part inferior del menisc ha marcat 110 cm³.
10. Hem remenat una mica la probeta per a que els dos continguts es barregin bé i per a que la pols de fucsina àcida que hi ha al fons de probeta es desfaci del tot, vigilant que no surti gens de contingut de la probeta.
11. Hem introduït tot el contingut de la probeta en un flascó amb el seu comptagotes i etiqueta corresponents.

Per a preparar l'alcohol 70º i 90º

- Alcohol de 70º:

a) Càlculs:

1. Hem calculat quanta aigua destil·lada hauríem d'afegir a 50 cm³ d'alcohol de 96º per a obtenir alcohol de 70º.

2. Com que l'alcohol de 96º té 96 cm³ d'alcohol pur per cada 100 cm³ de dissolució, hem calculat els cm³ de dissolució que hauríem d'obtenir per a reduir el percentatge d'alcohol pur de 96 a 70.

$$96 \text{ cm}^3 \text{ alcohol pur} \times \frac{100 \text{ cm}^3 \text{ dissolució}}{70 \text{ cm}^3 \text{ alcohol pur}} = 137 \text{ cm}^3 \text{ dissolució}$$

3. Als 100 cm³ d'alcohol de 96º n'hi hem d'afegir 37 per a obtenir alcohol de 70º

4. Però com que no volem obtenir tanta quantitat d'alcohol ho hem reduït tot a la meitat.

$$137 : 2 = 68.5 \text{ cm}^3 \text{ dissolució}$$

b) Procediment:

5. Hem introduït 50 cm³ d'alcohol de 96º en una probeta graduada tenint en compte el menisc i controlant que la part més inferior del menisc marqués exactament 50 cm³.

6. Hem anat tirant aigua destil·lada a la probeta fins que la part més inferior del menisc ha marcat 68.5 cm³.

7. Hem introduït tot el contingut de la probeta en un flascó amb el seu comptagotes corresponent, i per a evitar confusions hem fet una etiqueta per a distingir el seu contingut del de qualsevol altre flascó amb un contingut diferent.

- Alcohol de 90º:

a) Càlculs:

1. Hem calculat quanta aigua destil·lada hauríem d'afegir a 50 cm³ d'alcohol de 96º per a obtenir alcohol de 90º.

2. Com que l'alcohol de 96º té 96 cm³ d'alcohol pur per cada 100 cm³ de dissolució, hem calculat els cm³ de dissolució que hauríem d'obtenir per a reduir el percentatge d'alcohol pur de 96 a 90.

$$96 \text{ cm}^3 \text{ alcohol pur} \times \frac{100 \text{ cm}^3 \text{ dissolució}}{90 \text{ cm}^3 \text{ alcohol pur}} = 106 \text{ cm}^3 \text{ dissolució}$$

3. Als 100 cm³ d'alcohol de 96º n'hi hem d'afegir 6 per a obtenir alcohol de 90º

4. Però com que no volem obtenir tanta quantitat de alcohol ho hem reduït tot a la meitat.

$$106 : 2 = 53 \text{ cm}^3 \text{ dissolució}$$

b) Procediment

5. Hem introduït 50 cm³ d'alcohol de 96º en una probeta graduada tenint en compte el menisc i controlant que la part més inferior del menisc marqués exactament 50 cm³.

6. Hem anat tirant aigua destil·lada a la probeta fins que la part més inferior del menisc ha marcat 53 cm³.

7. Hem introduït tot el contingut de la probeta en un flascó amb el seu comptagotes corresponent, i per a evitar confusions hem fet una etiqueta per a distingir el seu contingut del de qualsevol altre flascó amb un contingut diferent.

Per a fer les tincions:

- Hematoxilina – Eosina:

1. Amb l'ajuda d'una llanceta hem col·locat la mostres que teniem a la càpsula de petri a sobre d'un portaobjectes.

2. Hem absorbit l'excés d'aigua de les mostres amb un paper per a evitar que l'aigua pogués influir en la tinció.

3. Hem col·locat el portaobjectes a sobre del suport de tincions, el qual anteriorment hem omplert d'aigua per a evitar que es tenyeixi el suport en el cas de que caigui tint dintre del suport.

4. Amb un comptagotes hem tirat unes quantes gotes d'hematoxilina a sobre de les mostres controlant que el tint s'absorbís per tota la superfície d'aquestes.

5. Amb l'ajut d'un rellotge digital hem calculat cinc minuts exactes. Per a no descomtar-nos i provocar un sobretinció, hem apuntat l'hora (hora, minuts i segons) en la que hem tirat les gotes i l'hora en la que hem de treure l'excés de tint.

6. Passats els cinc minuts, hem absorbit amb un paper l'excés d'hematoxilina i amb l'ajut d'una llanceta hem introduït les mostres en una càpsula de petri amb aigua corrent per a fer el rentat durant deu minuts.

7. Com ja havíem fet anteriorment, amb l'ajut d'un rellotge digital hem calculat deu minuts. També hem apuntat l'hora en la que hem tirat les mostres a l'aigua i l'hora en la que les hem de treure.

8. Passats els deu minuts, amb l'ajuda d'una llanceta hem tornat a col·locar les mostres a sobre del portaobjectes i hem absorbit amb un paper l'excés d'aigua.

9. Amb un comptagotes hem tirat unes quantes gotes d'eosina a sobre de les mostres controlant que el tint s'absorbís per tota la superfície d'aquestes.

10. Amb l'ajut d'un rellotge digital hem calculat cinc minuts exactes.

11. Passats els cinc minuts, hem absorbit amb un paper l'excés d'eosina.

12. Amb un comptagotes hem tirat alcohol de 70º i hem deixat que actués durant cinc minuts.

13. Passats els cinc minuts hem absorbit amb un paper l'excés de alcohol de 70º.

14. Amb un comptagotes hem tirat alcohol de 90º i hem deixat que actués durant set minuts.

15. Passats els set minuts hem absorbit amb un paper l'excés de alcohol de 90º.

16. Amb un comptagotes hem tirat alcohol de 96º i hem deixat que actués durant set minuts.

17. Passats els set minuts hem absorbit amb un paper l'excés de alcohol de 96º.

- Blau de metilè - Picrofucsina

1. Amb l'ajuda d'una llanceta hem col·locat la mostres que teniem a la càpsula de petri a sobre d'un portaobjectes.

2. Hem absorbit l'excés d'aigua de les mostres amb un paper per a evitar que l'aigua pogués influir en la tinció.

3. Hem col·locat el portaobjectes a sobre del suport de tincions, el qual anteriorment hem omplert d'aigua per a evitar que es tenyeixi el suport en el cas de que caigui tint dintre del suport.

4. Amb un comptagotes hem tirat unes quantes gotes de blau de metilè a sobre de les mostres controlant que el tint s'absorbís per tota la superfície d'aquestes.

5. Amb l'ajut d'un rellotge digital hem calculat cinc minuts exactes. Per a no descomtar-nos i provocar un sobretinció, hem apuntat l'hora (hora,

minuts i segons) en la que hem tirat les gotes i l'hora en la que hem de treure l'excés de tint.

6. Passats els cinc minuts, hem absorbit amb un paper l'excés de blau de metilè i amb l'ajut d'una llanceta hem introduït les mostres en una càpsula de petri amb aigua destil·lada per a fer diversos rentatges fins que no deixi de tenir color.

7. Amb l'ajuda d'una llanceta hem tornat a col·locar les mostres a sobre del portaobjectes i hem absorbit amb un paper l'excés d'aigua.

8. Amb un comptagotes hem tirat unes quantes gotes de picrofucsina a sobre de les mostres controlant que el tint s'absorbís per tota la superfície d'aquestes.

9. Amb l'ajut d'un rellotge digital hem calculat deu minuts exactes.

10. Passats els deu minuts, hem absorbit amb un paper l'excés de picrofucsina.

11. Amb un comptagotes hem tirat alcohol de 90º i hem deixat que actués fins que deixés de tenir color.

12. Hem absorbit amb un paper l'excés de alcohol de 90º.

13. Amb un comptagotes hem tirat alcohol de 96º i hem deixat que actués durant set minuts.

14. Passats els set minuts hem absorbit amb un paper l'excés de alcohol de 96º.

Per a fer les observacions

Hem fet dos tipus d'observacions:

- Mostres sense tenyir:

1. Hem col·locat les mostres que teniem a la càpsula de petri amb aigua a sobre d'un portaobjectes, amb l'ajuda d'una llanceta.

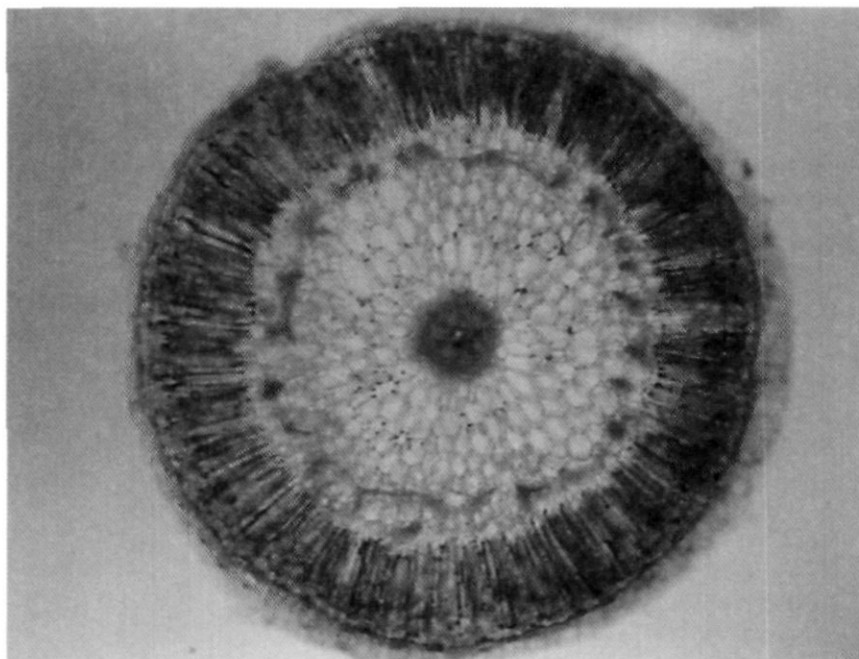
2. Amb un comptagotes hem posat una gota d'aigua a sobre de les mostres.

3. Amb l'ajuda d'una llanceta, hem col·locat un cubreobjectes a sobre de la mostra, però vigilant que no quedin bombolles d'aire entre el portaobjectes i el cubreobjectes.

4. Hem col·locat el portaobjectes a sobre de la platina del microscopi òptic.

5. Hem encès el microscopi i hem activat la funció del microscopi en la que la imatge la podem veure tant pel microscopi com per l'ordinador.

6. Hem encès l'ordinador.



Tall transversal de tija sense tenyir (40 augments)

7. Hem obert el programa de l'ordinador "Motic Images Plus 2.0", un programa que permet capturar les imatges que veus al microscopi.

8. Amb les rodetes d'enfoc del microscopi hem enfocat la imatge de tal manera que es vegi enfocat al monitor de l'ordinador.

9. Quan ja hem escollit la zona que volem fotografiar i ja l'hem enfocat, l'hem capturat.

10. Hem fet els passos 8 i 9 repetidament per a capturar totes les zones de les mostres i amb tots els augments possibles (40x, 100x, 400x i 1000x).

11. Per a poder observar la mostra a 1000x, hem posat una gota d'oli d'immersió a sobre del cubreobjectes, hem anat pujant la platina lentament fins que la gota d'oli d'immersió ha entrat en contacte amb la lent de l'objectiu de 100x ($100x \text{ de l'objectiu} \times 10x \text{ de l'ocular} = 1000x$) i hem dut a terme els passos 8 i 9. Quan hem acabat d'observar les mostres, hem baixat lentament la platina fins que la gota d'oli d'immersió s'ha separat de la lent de l'objectiu i amb molt de compte hem netejat la lent amb un tros de paper.

- Mostres tenyides

1. Hem col·locat les mostres tenyides que teníem a sobre d'un portaobjectes, amb l'ajuda d'una llanceta.

2. Amb un comptagotes, hem posat una gota de glicerina a sobre de les mostres. Hem utilitzat glicerina en lloc d'aigua perquè si utilitzéssim aigua provocariem una nova hidratació de les mostres quan tot just en la tinció les hem deshidratat.

3. Hem deixat reposar dos dies les mostres en glicerina per a permetre que les bombolles d'aire que han quedat a la glicerina surtin a la superfície.

4. Quan hem observat que el nombre de bombolles ha disminuït notablement hem col·locat un cubreobjectes lentament a sobre de les mostres en glicerina amb l'ajuda d'una llanceta per a evitar la nova formació de bombolles d'aire.

5. Hem col·locat el portaobjectes a sobre de la platina del microscopi òptic.

6. Hem encès el microscopi i hem activat la funció del microscopi en la que la imatge la podem veure tant pel microscopi com per l'ordinador.

7. Hem encès l'ordinador.

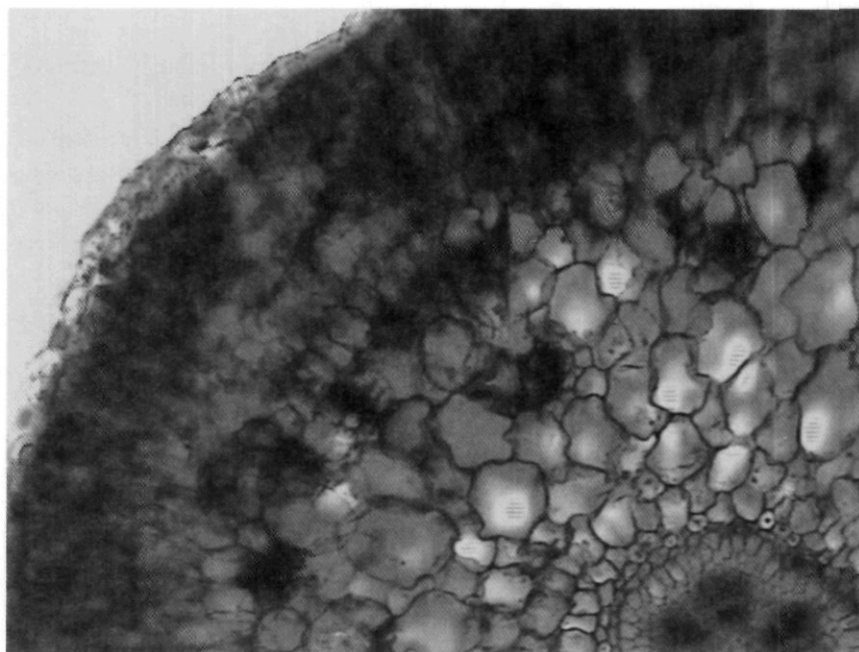
8. Hem obert el programa d'ordinador "Motic Images Plus 2.0", un programa que permet capturar les imatges que veus al microscopi.

9. Amb les rodetes d'enfoc del microscopi hem enfocat la imatge de tal manera que es vegi enfocat al monitor de l'ordinador.

10. Quan ja hem escollit la zona que volem fotografiar i ja l'hem enfocat, l'hem capturat.

11. Hem fet els passos 8 i 9 repetidament per a capturar totes les zones de les mostres i amb tots els augments possibles (40x, 100x, 400x i 1000x).

12. Per a poder observar la mostra a 1000x, hem posat una gota d'oli d'immersió a sobre del cubreobjectes, hem anat pujant la platina lentament fins que la gota d'oli d'immersió ha entrat en contacte amb la lent de l'objectiu de 100x ($100x \text{ de l'objectiu} \times 10x \text{ de l'ocular} = 1000x$) i hem dut a terme els passos 8 i 9. Quan hem acabat d'observar les mostres, hem baixat lentament la platina fins que la gota d'oli d'immersió s'ha separat de la lent de l'objectiu i amb molt de compte hem netejat la lent amb un tros de paper.

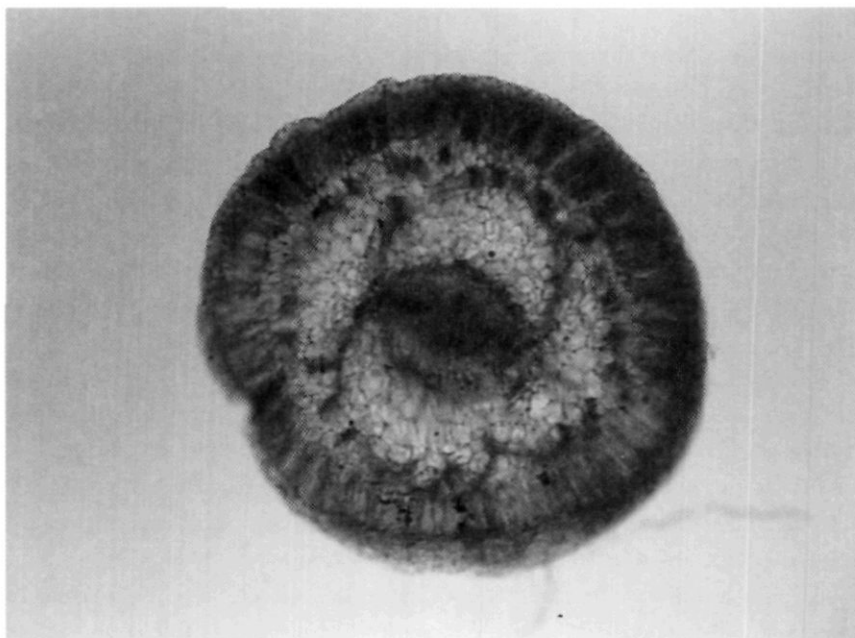


Tall transversal de tija tenyit amb hematoxilina-eocina (100 augments)

Per a fer les preparacions permanents

1. Hem agafat les mostres que teníem preparades en glicerina i que les havíem utilitzat per a fer les observacions i amb esmalt transparent d'ungles hem rodejat tot el cubreobjectes fixant-lo al portaobjectes.

2. Les mostres que teníem preparades en aigua i que les havíem utilitzat per a fer les observacions, els hi hem tret el cubreobjectes, amb un paper els hi hem absorbit l'aigua, amb un comptagotes hem posat una gota de glicerina a sobre de les mostres, hem deixat reposar dos dies les mostres per a permetre que les bombolles d'aire que han quedat a la glicerina surtin a la superfície, quan hem observat que el nombre de bombolles ha disminuït notablement hem col·locat un cubreobjectes lentament a sobre de les mostres en glicerina amb l'ajuda d'una llanceta per a evitar la nova formació de bombolles d'aire i amb esmalt transparent d'ungles hem rodejat tot el cubreobjectes fixant-lo al portaobjectes.



Tall transversal de tija tenyit amb blau de metilè-picrofucsina (40 augments)

Nota:

1. Cal tenir en compte que just després de fer servir cada producte s'ha de tancar per a evitar la seva evaporació o la seva impurificació.
2. Després de cada jornada de treball s'han de rentar tots els estris i eixugar-los per a evitar el seu deteriorament.

Resultats i discussió

A l'hora de fer els talls ens vam trobar amb diversos problemes: les navalles histològiques que acompanyaven el micròtom de mà estaven tan rovellades que no permetien aconseguir un tall prou fi i acurat, hi havia mostres tan primes que eren gairebé impossibles de veure i per tant dificultaven la realització del tall, i era molt difícil aconseguir un tall fi i horit-

zontal. Però vam intentar trobar solució a tots aquests problemes. Vam comprar navalles d'afeitar per a poder fer els talls més acurats i amb més facilitat, i vam provar dues tècniques per a fer els talls i aconseguir fer-los més fins: una consistia en desplaçar horitzontalment la navalla per sobre de la superfície del micròtom, però la navalla era tan fina que no aconseguíem fer cap tall perquè el material biològic era més resistent que la navalla, i l'altra consistia en col·locar la navalla i pressionar verticalment. D'aquesta manera podíem vèncer la resistència del material biològic, tenir més control del tall que estàvem fent i aconseguir uns talls més fins i acurats.

Els resultats obtinguts són 1.335 imatges microscòpiques, de les quals 1.052 imatges pertanyen a la *Salicornia* i 283 imatges pertanyen a la Campaneta de mar. Algunes d'aquestes imatges estan recollides i comentades en un CD annex on estan classificades segons: l'òrgan que s'estudia, el tipus de tall (transversal o longitudinal), la tècnica de tinció utilitzada i els augmentos amb els que la imatge ha estat realitzada.

A les mostres que hem tenyit, podem observar que segons la zona, la mostra és d'un color o un altre. Això és perquè segons la tinció que utilitzem, ens tenyeix els diferents components de les mostres de diferents colors:

- La tècnica de tinció Hematoxilina – Eosina ens tenyeix la cel·lulosa de color blau fort, la lignina de color rosa, i el nucli i els cloroplasts blavosos.

- La tècnica de tinció Blau de metilè – Picrofucsina ens tenyeix la cel·lulosa de color blau, la lignina de color verd, i el nucli i els cloroplasts vermells.

Discussió general

Tija

L'estructura de la tija que hem trobat a les observacions és similar al que descriu la bibliografia sobre l'estructura típica de la tija d'una dicotiledònia, tret d'una diferència: a l'estructura de la tija que descriu la bibliografia no hi apareix parènquima clorofil·lic. En canvi, les tiges de la *Salicornia* tenen parènquima clorofil·lic en palissada. Això és degut a que són tiges fotosintètiques, és a dir que són l'òrgan de la planta que realitza

la major part de la funció fotosintètica, ja que les fulles de la Salicòrnia són tan petites que no poden cobrir totes les necessitats fotosintètiques de la planta.

Hem pogut observar traqueïdes al parènquima en palissada com es descriu a la bibliografia, i concretament a Fahn (1974).

Donat que la planta que hem estudiat viu en una zona amb una salinitat molt elevada, pensem que no seria estrany trobar-hi cristalls de sal. Hem observat unes zones amb aspecte cristal·lí, a l'interior de les cèl·lules del còrtex, que pensem que podrien ser possibles cristalls de sal, però no ho podem afirmar amb rotunditat.

Arrel

L'estructura de l'arrel que hem trobat a les observacions és molt semblant al que descriu la bibliografia sobre l'estructura típica de l'arrel d'una dicotiledònia.

Fahn (1974) diu que l'exodermis pot tenir una o varies capes. Hem vist que l'exodermis de l'arrel de la Salicòrnia en té varies.

Hem observat que, a diferència de la tija, a l'arrel no hi ha una separació entre el xilema i el floema (càmbium), els vasos es troben indiferentment repartits per tot el cilindre vascular.

Tècniques de tinció

Hem pogut comprobar que sense tenyir podem observar molt millor el parènquima clorofil·lic en palissada de la tija, ja que veiem el seu color verd natural donat pels cloroplasts, però altres zones com el còrtex o el cilindre vascular es veuen poc marcades si no les tenyim.

Un avantatge d'obtenir les imatges sense tenyir és que no es perjudica les cèl·lules de la mostra i tot just després de fer el tall encara es poden observar activitats de la cèl·lula com la fotosíntesi (sortida de bombolles d'aire a l'exterior).

A les mostres tenyides amb hematoxilina-eosina hauriem de veure la cel·lulosa de color blau fort, la lignina de color rosa, i els nuclis i els cloroplasts blavosos, però ho veiem tot d'un color rosa intens. Per tant, aquesta tinció no ens ha aportat informació addicional pel que fa a la diferenciació de teixits. Amb aquesta tinció hem perdut la distinció del parènquima clorofil·lic que teniem a les mostres sense tenyir, ja que es veu tot d'un color vermellós, però ens ha servit per a contrastar millor les altres estructures,

com les cèl·lules del còrtex o els diferents components del cilindre vascular (medul·la, xilema i floema).

La tinció amb hematoxilina-eosina la vam fer amb els colorants que teniem al laboratori, però en teoria això no hauria d'influir en la qualitat de la tinció ja que a cap lloc hem vist especificat que els productes esmenats caduquessin.

A les mostres que hem tenyit amb blau de metilè-picrofucsina, hauriem de veure la cel·lulosa de color blau, la lignina de color verd, i els nuclis i els cloroplasts vermells. La tinció amb blau de metilè-picrofucsina ha estat la tècnica que més informació ens ha aportat, ja que els colors que podem veure a les observacions són bastant similars als que descriu la tècnica i per tant sí que ens ha servit per a poder distingir diferents teixits i components.

La picrofucsina la vam fer nosaltres perquè al laboratori no n'hi havia i perquè caduca en poc temps.

Conclusions

Hem fet un estudi microscòpic de la Salicòrnia (*Arthrocnemum fruticosum*) utilitzant diferents tècniques. La realització i l'anàlisi d'aquestes preparacions ens ha permès treure les següents conclusions:

1. Utilitzant el micròtom de mà, és difícil aconseguir un tall totalment horitzontal i prou fi per a observar-lo al microscopi. La millor manera d'obtenir els talls horitzontals és posant la navalla una mica vertical a sobre de la superfície del micròtom i presionar a sobre de la navalla per a tenir el control d'aquesta.

2. Hem fet deu preparacions permanents d'arrel i tija de Salicòrnia, tant en sentit transversal com longitudinal i utilitzant diferents tècniques de tinció.

3. Observant aquestes preparacions, hem obtingut 1.335 imatges, les quals s'adjunten en un CD, classificades segons: l'organ que s'estudia, el tipus de tall (transversal o longitudinal), la tècnica de tinció utilitzada i els augmentos amb els que la imatge ha estat obtinguda.

4. L'estructura de la tija de Salicòrnia que hem observat a les imatges és similar a l'estructura que descriu la bibliografia per a una típica planta dicotiledònia, però amb algunes diferències com l'existència de parènquima clorofil·lic o de traqueides, causades per les adaptacions de la planta.

5. L'estructura de l'arrel de Salicòrnia que hem observat a les imatges és molt semblant a l'estructura que descriu la bibliografia. Fahn (1974) diu que l'exodermis pot tenir una o varies capes i hem vist que l'exodermis de l'arrel de la Salicòrnia en té varies

6. Els factors ambientals de la zona on viu la Salicòrnia, com l'alta salinitat, es poden veure reflectits en alguna de les imatges obtingudes, on hem observat possibles cristalls de sal.

7. El parènquima clorofil·lic s'observa molt millor sense tenyir la mostra.

8. La tècnica de tinció Hematoxilina – Eosina no ens ha servit per a diferenciar teixits, sinó per a marcar estructures.

9. La tècnica de tinció Blau de metilè – Picrofucsina ens ha servit per a diferenciar teixits i components de les estructures.

10. M'ha encantat poder gaudir de les imatges obtingudes a partir de les preparacions fetes per mi.

Bibliografia

- BARUTELL, A.C. i altres, (1988). *Ciencias Naturales. Bachillerato 3*. Ed. Anaya (Madrid)
- DDVV, (1993). *Muntanyans*. informe GEPEC
- DDVV, (1993). *Enciclopedia visual de los seres vivos*. Ed. El País / Altea (Madrid)
- DURFORT i COLL, Mercè (1994). *Iniciació a les tècniques histològiques vegetals i animals*. Ed. Institució Catalana d'Història Natural
- GARCÍA VELÁZQUEZ, Alvaro. *Manual de experiencias de microscopia, biología 1*. Ed. Enosa
- FAHN, A. (1974). *Anatonoia vegetal*. Ed. H. Blume Ediciones
- LLORT i PLANCHADELL, Josep M. (2004). *Material per a l'alumne de biologia de primer de Batxillerat*. Publicat a l'IES Gabriel Ferrater (Reus)
- MASALLES, Ramon M. i altres, (1988). *Història Natural dels Països Catalans. Plantes superiors*. Ed. Enciclopèdia Catalana (Barcelona)
- MULAS SÁNCHEZ, J. i altres, (1989). *Ciències Naturals. BUP 3*. Ed. Santillana (Barcelona)
- SALAT, X. i altres, (1993). *Entre mar i terra. Vegetació litoral*. ICE URV (manuscrit)

Fonts informàtiques

- <http://www.xtec.es/~jgurrera/parts.htm>
- <http://www.botanical-online.com/arrel.htm>
- <http://www.digitalfrog.com>
- <http://www.uib.es/depart/dba/botanica/herbari>