

---

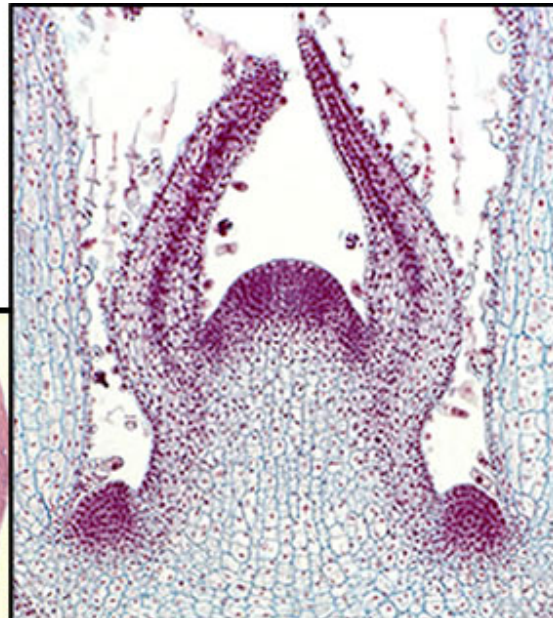
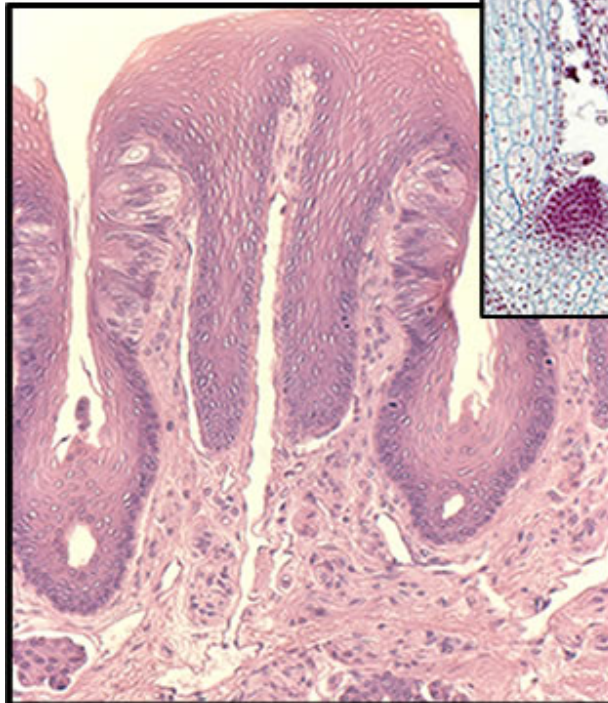
# Diagnòstic histològic animal i vegetal

Mercè Figueras, Gemma  
Huguet, Elisabet Kádár,  
Marissa Molinas i Olga Serra

Departament de Biologia -  
Facultat de Ciències

**ISBN:** 978-84-8458-396-7  
**Dipòsit Legal:** GI.1440-  
2012

Universitat de Girona  
Servei de Publicacions  
[publicacions@udg.edu](mailto:publicacions@udg.edu)



---

## **Diagnòstic histològic animal i vegetal**

Mercè Figueras\*, Gemma Huguet\*, Elisabet Kádár\*, Marissa Molinas\* i Olga Serra\*

(\*) totes les autores han contribuït de forma equivalent.

Departament de Biologia. Facultat de Ciències Universitat de Girona

© **Dels textos i les imatges: les autores corresponents**

© **D'aquesta edició: Universitat de Girona**

**Edita:** Universitat de Girona.

**ISBN:**978-84-8458-396-7

**Adreça:** Universitat de Girona  
Servei de Publicacions  
Pl. Sant Domènec, 3  
17071 Girona

**Tel:** 972 41 82 06

**a/e:** [publicacions@udg.edu](mailto:publicacions@udg.edu)

# **Diagnòstic histològic animal i vegetal**

## **Introducció a l'observació microscòpica**

**Mercè Figueras, Gemma Huguet, Elisabet Kádár,  
Marissa Molinas i Olga Serra**

**Departament de Biologia. Facultat de Ciències  
Universitat de Girona**

## ***PRESENTACIÓ***

Aquest manual va dirigit als alumnes de Pràctiques de citologia i histologia del grau de Biologia de la Universitat de Girona. Està organitzat en tres blocs: Introducció al diagnòstic histològic i a la microscòpia, Diagnòstic histològic animal i Diagnòstic histològic vegetal. El manual és una guia de les pràctiques de laboratori, i proposa també exercicis i qüestionaris complementaris. La versió digital del manual té enllaços a imatges i microfotografies de les preparacions que es treballen al laboratori.

L'objectiu és treballar i consolidar els coneixements teòrics impartits a l'assignatura Citologia i histologia a través del diagnòstic de preparacions. La finalitat és proporcionar una idea clara dels principis que regeixen l'organització histològica d'animals i plantes mitjançant l'observació d'un nombre de models limitat. Les pràctiques estan pensades perquè l'alumnat es familiaritzi amb les tècniques bàsiques de la histologia, concretament la utilització del microscopi de camp clar, la realització de tincions histològiques, histoquímiques i immunohistoquímiques, i l'anàlisi de l'activitat endògena. Totes aquestes activitats dotaran l'alumne d'eines per al treball al laboratori histològic i de les habilitats necessàries per al diagnòstic de preparacions.



## ***Pràctica 1.1. Introducció al diagnòstic histològic***

El diagnòstic histològic és el reconeixement d'un teixit o d'un òrgan en una preparació. El diagnòstic de preparacions, basat en observacions acurades i deduccions lògiques, permet arribar als fonaments de l'anatomia microscòpica.

Per poder fer un diagnòstic histològic cal tenir coneixements previs d'histologia i microscòpia, bons hàbits d'observació i ajudar-se d'esquemes i dibuixos.

### **Com s'observa una preparació**

Cal localitzar l'estructura, situar-la en relació amb els altres teixits i observar-la amb els augments adequats.

- ✓ Es comença mirant a **ull nu**. Podrem observar si es tracta d'un òrgan massís o buit i sovint també l'orientació i/o el nivell dels talls. També es pot veure si la preparació és prou neta.
  - ✓ A continuació es passa als **objectius de petit augment** (x4/x10) per veure l'estructura general i localitzar les zones específiques.
  - ✓ Es continua amb els **objectius mitjans** (x20/x40), generalment suficients per a les observacions histològiques.
  - ✓ En histologia els **objectius de gran augment** (x60/x100) s'utilitzen molt de tant en tant, ja que són més apropiats per a observacions citològiques i microbiològiques.
- ✍ **Anoteu amb cura el material** que observeu. Anoteu l'òrgan i l'espècie, la coloració emprada, el número de la preparació si és el cas, etc. És imprescindible per interpretar els resultats i per repetir, si cal, les observacions.

### **Dibuixos interpretatius**

Són la millor manera d'estudiar i interpretar les preparacions. No calen dots artístiques, n'hi ha prou amb una mica de pràctica. Com més coneixements histològics es tenen i més acurades són les observacions, millors seran els resultats. Algunes vegades és convenient observar més d'una preparació per fer un dibuix ben representatiu.

Els diferents dibuixos interpretatius han de correspondre als diferents nivells de cada estructura (nivell general, nivells de detall...).

- ✓ És convenient començar pel **dibuix general** que mostri la disposició de les capes i diferents estructures dins de l'òrgan. Sol correspondre a les observacions a baix augment.
- ✓ A continuació s'han de fer un o més **dibuixos detallats** de les zones característiques. Solen correspondre a les observacions amb objectius mitjans.

### ***Execució dels dibuixos***

- ✓ Un dibuix interpretatiu no és una representació fidel (això ho pot fer molt millor una fotografia) però ha d'aportar **informació fidedigna** per descriure les característiques histològiques de l'estructura. Ha de ressaltar aquells aspectes importants: capes, elements destacats.... Mantenir les **proporcions** és molt important: a l'hora de representar un element s'ha de comparar amb els altres, els del voltant. Cal representar la forma de les cèl·lules i dels nuclis, densitat de la cromatina, la presència o absència d'espais extracel·lulars, parets cel·lulars, aspecte de la matriu extracel·lular...
- ✓ Els dibuixos es fan amb **llapis** carbó de punta dura (núm. 3 i 4), goma d'esborrar, amb paciència, procurant fer traçats nets. Només excepcionalment es fan dibuixos en color i en aquest cas s'ha d'indicar què representa el color (tinció emprada per exemple).
- ✓ Els dibuixos s'han de **retolar** acuradament i s'ha de fer un **peu de figura** detallat. S'han de retolar les diferents estructures que es detallen en el dibuix. Al peu de figura cal anotar l'**òrgan**, l'espècie, el **pla de secció**, la **tècnica emprada**, i l'**augment** del microscopi.
- ✍ Els dibuixos són una mostra del vostre treball a classe i formen part dels ítems a avaluar. A través dels dibuixos el professor pot veure el grau de comprensió assolit i la intensitat del treball.

### **Plans de secció estàndard**

És important estudiar l'orientació dels talls en relació amb els plans de simetria. Per a l'estudi dels plans de secció podeu utilitzar algun fruit carnós de simetria radial (taronja per exemple). Per a la simetria bilateral pots utilitzar mongetes prèviament remullades (3-4 dies) o ronyons de xai.

### ***Simetria bilateral***

Observeu una estructura amb simetria bilateral (mongeta deixada estovar 2-3 dies, ronyó...) tallada en tres o més talls longitudinals paral·lels, el central passant pel pla sagital. Feu el mateix tallant amb talls transversals.

*Represeneu les diferents seccions en dibuixos seriatos. Situeu les parts correctament en relació amb els eixos de simetria. Retoleu cadascun dels plans.*

### ***Simetria radial***

Talleu una estructura de simetria radial (taronja, mandarina) amb talls longitudinals paral·lels, el central passant per la circumferència màxima. Feu el mateix amb talls transversals i oblics.

*Representeu les diferents seccions en dibuixos seriatos. Situeu les parts correctament en relació amb els eixos de simetria. Retoleu cadascun dels plans.*

### **Qüestionari**

Quan feu dibuixos interpretatius d'una preparació histològica, quines dades de la preparació hauries d'acompanyar al dibuix?

De manera general, indica els nivells d'interpretació d'una preparació:

Quins són els plans de simetria estàndard en els òrgans de simetria radial.

Quins són els plans de simetria estàndard en els òrgans de simetria bilateral?

El pla sagital divideix un òrgan en dues meitats: *dreta i esquerra/superior i inferior/dorsal i ventral/cefàlica i caudal*.

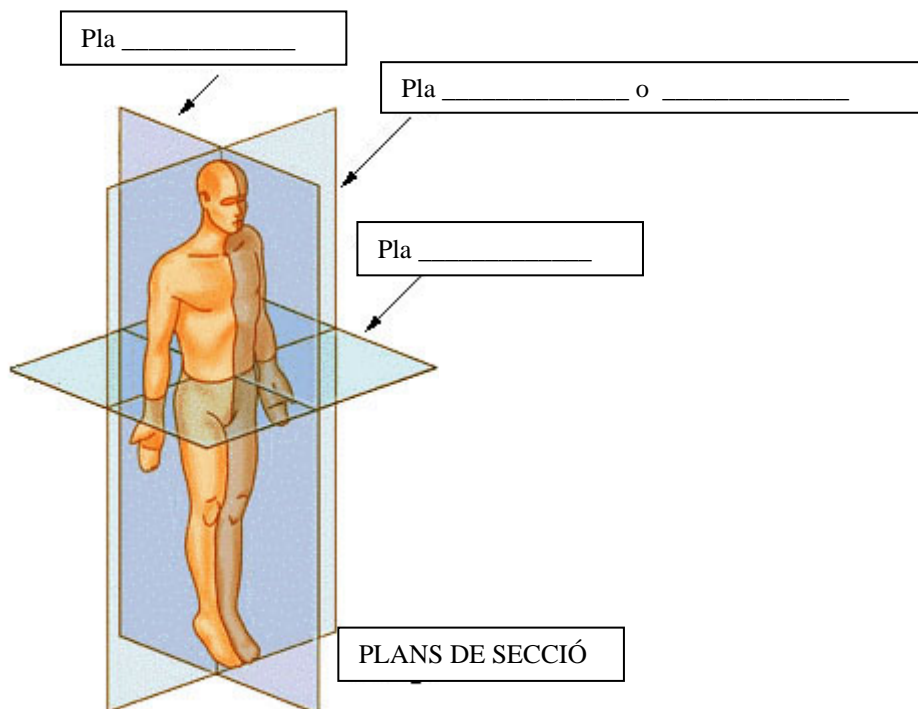
El pla dorsiventral o frontal divideix un òrgan en dues meitats: *dreta i esquerra/superior i inferior/dorsal i ventral/cefàlica i caudal*.

Quin sentit tenen les paraules cefàlic i caudal?

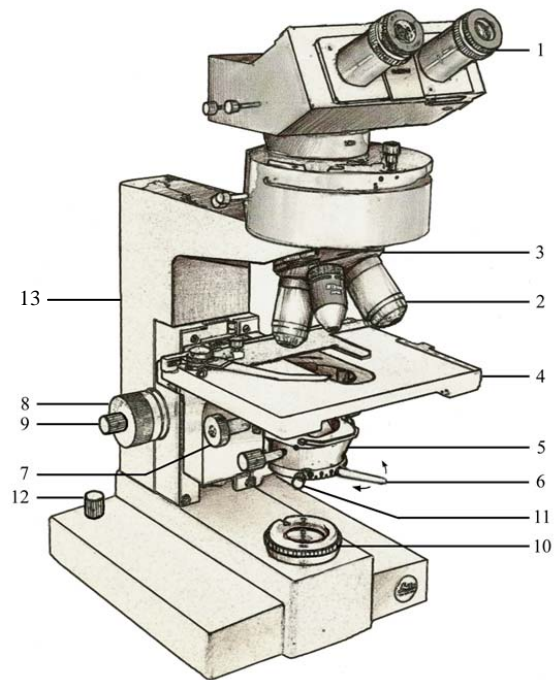
Quin sentit tenen les paraules dorsal i ventral?

Quin sentit tenen les paraules proximal i distal?

Indica el nom dels plans mostrats a la figura:



## Pràctica 1.2. Conèixer el microscopi



**Figura 1.** Microscopi òptic. (Extret de Peterson et al. 2008). Peterson R.L., Peterson C.A., and Melville L. 2008. *Teaching Plant Anatomy Ottawa: NRC Press: National Research Council of Canada*

1. **Oculars.**
2. **Objectius**, 4x, 10x, 40x i 100x (oli d'immersió).
3. **Revòlver**, sustenta els objectius, és rotatori per facilitar el canvi.
4. **Platina**, peça que aguanta la preparació.
5. **Condensador**, una o varies lents que formen part del sistema òptic. Enfoca la llum procedent de la bombeta al pla de la preparació.
6. **Diafragma d'obertura** (iris), permet ajustar l'angle del con de llum que entra a l'objectiu i també variar el contrast.
7. **Cargol del condensador**, per moure el condensador verticalment (en alguns models el condensador és fix i per tant la rodeta no hi és).
8. **Cargol macromètric**, permet el desplaçament vertical de la platina per a enfocar.
9. **Cargol micromètric**, permet desplaçaments verticals de la platina relativament lents.
10. **Diafragma de camp**, permet regular l'entrada de llum al sistema òptic.
11. **Suport del condensador.**
12. **Potenciòmetre**, controla la intensitat de llum de la bombeta.
13. **Braç.**

### Poder de resolució del microscopi

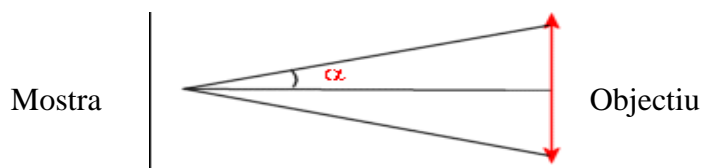
El Poder de resolució és la capacitat d'un objectiu per diferenciar dos punts o dues estructures molt properes com a punts separats. La distància que separa aquestes dos punts s'anomena distància mínima de resolució ( $d$ ). Així doncs, l'ull humà té un poder de resolució baix perquè la seva distància mínima de resolució és elevada, mentre que el microscopi electrònic té un poder de resolució molt elevat perquè la seva distància mínima de resolució és molt baixa ( $PR = 1/d$ ).

El distància de resolució ( $d$ ) es calcula amb la següent fórmula:

$$d = 0,61 \times L / AN$$

On **0,61** és una constant; **L** és la longitud d'ona de la llum utilitzada (amb un valor mig de 550 nm per la llum visible) i **AN** és l'obertura numèrica de l'objectiu.

$L \cdot AN = n \times \sin \alpha$ , essent **n** l'índex de refracció del medi (aire = 1, oli d'immersió aprox . 1,5) i  **$\alpha$**  l'angle d'observació de l'objectiu a la mostra.



El poder de resolució de l'ull humà està al voltant dels 0,1 mm, el del microscopi òptic de camp clar arriba a uns 0,2  $\mu\text{m}$  i el del microscopi electrònic fins a 2 Å.

$$\begin{aligned} 1 \text{ mm} &= 10^{-3} \text{ m} \\ 1 \mu\text{m} &= 10^{-6} \text{ m} \\ 1 \text{ nm} &= 10^{-9} \text{ m} \\ 1 \text{ \AA} &= 10^{-10} \text{ m} \end{aligned}$$

### Instruccions bàsiques pel maneig del microscopi

Per a utilitzar el microscopi, segueix els següents passos:

1. Col·loqueu el microscopi davant vostre per treballar amb comoditat agafant-lo pel **braç**. Comproveu que l'interruptor està apagat i el **potenciòmetre** al mínim. Seguidament endol·leu el microscopi, enceneu l'interruptor i augmenteu suaument la potència fins arribar a la **intensitat de llum** desitjada.
2. Treieu la preparació i tanqueu la capsa tot seguit. Observeu la preparació a **ull nu**, localitzeu la mostra i assegureu-vos que no hi ha ditades ni brutícia. Si és el cas netegeu la preparació\*. Comproveu que la **platina està en la posició baixa** i a continuació col·loqueu-hi la preparació. Mirant des de fora procureu centrar la mostra amb els comandaments de la platina.

3. Assegureu-vos que teniu posat l'**objectiu de petit augment** (4x) i mirant des de fora, moveu la **platina** amb el macromètric fins situar-la pròxima a l'objectiu, però sense tocar-lo. *MAI feu pujar la platina mentre mires pels oculars, podries trencar la preparació!*
4. Per a **enfocar** la preparació, feu baixar la platina amb el **macromètric** mirant pels oculars. Enfoqueu amb l'ull i l'ocular drets. Quan arribeu al punt de focus, acabeu d'afinar l'enfoc amb petits moviments del **micromètric**. Ajusteu els oculars a la vostra **distància interpupil·lar** per veure bé la imatge amb els dos ulls. Després d'haver enfocat amb l'ocular dret, podeu **ajustar l'ocular esquerra** a la vostra visió fent girar la rodeta que es troba en l'ocular esquerra.
5. Per ajustar la **il·luminació**, feu girar el revòlver per posar l'objectiu 10x. Porteu el **condensador** a la posició apropiada. En els models amb condensador mòbil el punt d'enfoc del feix de llum a sobre la preparació està amb el condensador proper a la posició més alta. Ajusteu el **diafragma del condensador** per regular l'angle del con de llum que entra a l'objectiu i també variar el contrast. Ajusteu el **diafragma de camp** per adaptar la grandària del camp il·luminat als diferents objectius.
6. Assegureu-vos que el sistema de lents no té pols o brutícia, i si és el cas, netegeu les lents\*.
7. A continuació feu les observacions corresponents, primer a **baix augment** (4x-10x) i després a **augment mitjà o gran** (20x-40x)\*\*. Cada canvi d'objectiu el fareu mirant per fora, tenint cura de NO passar amb l'objectiu de 100 per sobre de la preparació. Un cop canviat haureu d'ajustar l'enfocament i el condensador.
8. Un cop acabada l'observació, endreceu la preparació a la capsa, poseu l'objectiu de menys augment, abaixeu suaument la intensitat de la làmpada fins al mínim, apagueu l'interruptor i desendolieu l'aparell. Deixeu el fil ben recollit, i el microscopi protegit de la pols amb una funda.

\* Per **netejar les lents** o la preparació utilitzeu **paper de lents** per evitar ratllades seguint un moviment circular i humitejant amb una alenada. No treguis MAI l'ocular o l'objectiu del microscopi. Si cal pots utilitzar una sol·lució de cloroform/etanol 70%. Mai s'ha d'utilitzar etanol per netejar lents, doncs les gomes es ressequen i les lents podrien perdre centralitat.

\*\* L'objectiu 100X és un **objectiu d'immersió** que funciona si el medi entre el cobreobjectes i la lent frontal de l'objectiu és oli. Té molt poc ús en histologia i no s'haurà d'emprar durant el curs. *No posis mai l'objectiu d'immersió excepte que el professor ho digui!!!!*

### **RECORDEU que:**

- ✍ Les preparacions són molt valuoses i cal tenir-ne cura en tot moment. *Qualsevol dany a una preparació que es pugui imputar a una negligència suposa una avaluació negativa!!!!*
- ✍ En cas de no estar observant la mostra durant una estona abaixeu la intensitat de la llum.

### **Qüestionari**

Microscopi marca \_\_\_\_\_

Oculars (x)                      Objectius (an i x)

Calcula els augments que pots obtenir en cada cas.

Distància interocular utilitzada:

Amb quin objectiu obtindràs la millor resolució?

Per què?

En cas de disposar del medis apropiats, quins altres paràmetres podries canviar per millorar el poder de resolució?

Per a què serveix el diafragma del condensador?

Si disposes de dues preparacions, una massa pàl·lida i l'altra amb excés de color, en principi, en quina es pot compensar més fàcilment el defecte? Explica de quina manera.



Quin és el procediment apropiat per netejar les lents del microscopi?

Per quin motiu no s'han de fer servir alcohols per netejar les lents?

Per quin motiu es recomana baixar i pujar suaument la intensitat de la bombeta i apagar-la mentre no s'estigui observant?

# **Diagnòstic histològic animal**

**Gemma Huguet, Elisabet Kádár i Marissa Molinas**

**Departament de Biologia.  
Facultat de Ciències  
Universitat de Girona**

## 2. Diagnòstic histològic animal

### *Per què s'estudia l'anatomia microscòpica en histologia animal?*

S'estudia per aprofundir en l'organització dels animals a través de l'estructura dels teixits, òrgans, sistemes i aparells que els formen.

- Els **teixits** són agrupacions de cèl·lules morfològicament afins especialitzades en la mateixa funció. Hi ha quatre teixits bàsics en els animals –epitelial, muscular, connectiu i nerviós.
- Els **òrgans** són associacions de teixits amb funcions específiques que constitueixen parts netament delimitades de l'organisme. Per exemple: el fetge, el cor o la melsa.
- Els **sistemes** són associacions de teixits amb funcions específiques però sense formar una massa anatòmicament diferenciada. Per exemple, els sistemes nerviós i endocrí.
- Els **aparells** són agrupacions d'òrgans i sistemes en unitats funcionals d'ordre superior. Per exemple, l'aparell digestiu format per la llengua, l'esòfag, l'estómac, l'intestí, el fetge, el pàncrees exocrí i el recte.

### **METODOLOGIA**

Partim del principi que les sessions de laboratori formen part d'un continu amb les sessions de teoria i el treball personal de l'alumne.

Cada sessió inclourà:

- i) la **preparació**, que ha de permetre obtenir els coneixements mínims previs a cada observació;
- ii) les **observacions i interpretacions de preparacions histològiques i microfotografies**, durant les quals s'hauran de fer els esquemes i diagrames corresponents;
- iii) el **qüestionari**, que servirà per refermar i avaluar els conceptes adquirits.

Per a la **preparació** de cada pràctica, el guió presenta una breu introducció en la qual es fa esment dels aspectes importants que cal considerar per dur-la a terme. Els alumnes han d'haver llegit prèviament els objectius, les paraules clau i els conceptes clau del guió. A continuació, s'han de fer les **observacions**, per a les quals és recomanable seguir les indicacions del guió, i elaborar els dibuixos i diagrames corresponents. Els alumnes han d'interpretar les preparacions histològiques d'acord amb els seus propis coneixements; el professor farà els aclariments i les ajudes necessàries de manera individual o col·lectiva. En acabar la pràctica, cada estudiant tindrà els diagrames i esquemes interpretatius degudament retolats. Posteriorment, es respondrà el **qüestionari** amb l'ajut de textos i atles. Les preguntes estan fetes perquè permetin una autoavaluació del grau d'assimilació dels continguts. Al final de les pràctiques **s'entregarà el guió** complet per a l'**avaluació** corresponent.

## ***Pràctica 2.1. Un òrgan muscular massís: la llengua***

### **Objectius**

Aquesta pràctica serveix per iniciar-se en el diagnòstic histològic animal a través de l'observació d'un òrgan muscular extern.

Els alumnes s'han de familiaritzar amb els conceptes de mucosa, estroma i parènquima, han d'aprendre el paper diferent del teixit connectiu lax i fibrós, i han de veure com s'organitzen la macrocirculació i microcirculació i la innervació.

S'han d'observar detalladament les característiques de l'epiteli pluriestratificat; les papil·les i els botons gustatius; el teixit connectiu lax i el teixit adipós, i també les fibres musculars esquelètiques. S'han d'observar les glàndules salivals seroses i mucoses.

### **Paraules clau**

**MUCOSA; EPITELI PLURIESTRATIFICAT; BOTÓ GUSTATIU; GLÀNDULA MUCOSA; GLÀNDULA SEROSA; TEXTIT LAX; TEIXIT FIBRÓS; TEIXIT ADIPÓS; APONEUROSIS; FIBRA MUSCULAR ESQUELÈTICA; ARTÈRIA; VENA; CAPIL·LAR; NERVI**

### **Conceptes clau**

La llengua és un òrgan massís que es projecta a l'interior de la cavitat bucal. Presenta un eix dorsiventral i un eix anteroposterior. Consisteix en una massa muscular revestida externament per la mucosa oral.

### ***Mucosa de la llengua***

La **mucosa** que revesteix la llengua està formada per un **epiteli pla estratificat o de Malpighi** i el teixit connectiu subjacent o **làmina pròpia**. L'epiteli és de tipus pluriestratificat. És més gruixut i més queratinitzat a la cara dorsal en relació amb la ventral. L'epiteli, a la part dorsal de la llengua, presenta nombrosos replegaments o **papil·les** de forma diferent (filiformes, fungiformes i circumval·lades).

El teixit connectiu de la làmina pròpia és un teixit **connectiu lax**, molt vascularitzat.

**Microfotografies: mucosa**

### ***Parènquima muscular i estroma connectiu***

El parènquima muscular de la llengua presenta una organització complexa que li dona una gran mobilitat per a la deglució i l'articulació dels sons. Està agrupat en nombrosos feixos distribuïts en orientacions longitudinal, transversal i obliqua. Les fibres musculars són **fibres esquelètiques**.

L'estroma està format pel teixit de la submucosa i les beines que emboliquen els feixos. El teixit que forma la submucosa és una capa de **teixit fibrós** que es perllonga en un sept central o aponeurosi que divideix la llengua en dues meitats. Aquest teixit connectiu fibrós serveix de punt d'inserció dels músculs. El teixit connectiu que separa els feixos musculars, el **perimisi**, és també un teixit força fibrós, pel qual passen vasos i

nervis. Conté importants illots de **teixit adipós**. En contacte amb les fibres hi ha l'**endomisi**, un teixit lax a través del qual es distribueixen els capil·lars i les terminacions nervioses.

**Microfotografies: parènquima i estroma**

### ***Glàndules linguals***

La llengua conté **glàndules seroses** i **glàndules mucoses** secretores de saliva. Les glàndules desemboquen directament a la superfície externa o, algunes, a la base de les papil·les circumval·lades.

**Microfotografies: glàndules**

### ***Vascularització i innervació***

La llengua és un òrgan molt vascularitzat i innervat. La sang hi arriba a través de les artèries i en surt a través de les venes (macrocirculació). Els intercanvis entre la sang i els teixits es produeixen a nivell dels capil·lars (microcirculació). Les **artèries** presenten una paret muscular molt desenvolupada, apropiada per resistir una alta pressió de flux. A la paret de les artèries es distingeixen clarament tres capes (íntima, mitjana i adventícia). Les **venes**, en canvi, suporten molta menys pressió i la paret està menys desenvolupada i resulta difícil distingir-hi les capes.

Els moviments de la llengua estan molt ben regulats per la parla i la deglució. Això determina una forta innervació. A la llengua també trobem el sentit del gust. Els **receptors gustatius** es concentren especialment a les papil·les circumval·lades.

**Microfotografies: vasos**

**Microfotografies: nervis**

## **Material**

Com que es tracta d'un òrgan extern, és fàcil veure-hi els trets anatòmics principals observant la llengua pròpia o la d'un company. Per a l'anatomia interna aconsellem preparacions de llengua de conill (*Oryctolagus cuniculus*), de rata (*Rattus norvegicus*) o de ratolí (*Mus musculus*).

Per a aquesta sessió pràctica, resulta molt útil disposar de talls d'una artèria i una vena una mica grosses i també d'un nervi tenyits.

## **Observacions**

### ***Estructura de la llengua***

Observeu a ull nu i amb un augment baix l'aspecte general. Fixeu-vos en l'epiteli, la làmina pròpia, les papil·les, la disposició dels feixos musculars i la presència de glàndules. Compareu les cares dorsal i ventral.

### ***Mucosa i submucosa***

Observeu amb augments mitjans l'epiteli i la làmina pròpia. Fixeu-vos en els replegaments. Observeu bé les capes de cèl·lules epitelials i fixeu-vos especialment en els nuclis. Observeu la làmina pròpia de les papil·les i el teixit de la submucosa. Hi observeu capil·lars?

***Dibuixeu detalladament una porció de la mucosa indicant-hi les diferents capes de l'epiteli i la làmina. Dibuixeu-hi també la submucosa.***

### ***Musculatura estriada***

Observeu feixos tallats en diferents orientacions. Fixeu-vos en les característiques de les fibres esquelètiques: dimensions en relació amb els eritròcits, posició dels nuclis, estriació del citoplasma. Observeu el teixit connectiu interfascicular (perimisi) i intrafascicular (endomisi). Està capil·laritzat? Localitzeu teixit adipós.

### ***Les glàndules linguals***

Observeu la presència d'acins glandulars i de conductes secretors. Observeu les diferències entre glàndules mucoses i seroses. Fixeu-vos bé en la coloració del citoplasma i l'aspecte del nucli. Relacioneu-ho amb el producte secretat. Quin tipus d'epiteli hi ha en els conductes?

***Dibuixeu*** detalladament un feix muscular tallat longitudinalment i un de tallat transversalment. Dibuixeu també el teixit connectiu que hi ha entre els músculs. Busqueu una zona on hi hagi teixit adipós.

***Dibuixeu*** amb detall la secció transversal d'un acin serós, un conducte glandular associat i un acin mucós.

### ***Artèries, venes i capil·lars***

Observeu l'abundància de vasos de la macrocirculació (artèries i venes) en les trabècules de teixit connectiu. Fixeu-vos en les diferències en la paret muscular i la llum. Observeu la microcirculació (arterioles, capil·lars, vènules) a l'interior dels feixos musculars i al còrion de les papil·les. Observeu l'endoteli i els eritròcits.

***Dibuixeu una artèria muscular en secció transversal indicant-hi els elements tissulars observables que la caracteritzen.***

### ***Els nervis***

Observeu nervis tallats en diferents orientacions en el teixit connectiu interfascicular. Fixeu-vos en l'estructura fibrosa del nervi i en la beina connectiva que l'envolta. Observeu les fibres individualment. Hi observeu alguns nuclis que les acompanyen?

***Dibuixeu un nervi tallat en secció longitudinal o transversal.***



## Qüestionari

### *La mucosa*

Quines dues capes formen la mucosa de la llengua?

L'epiteli de la llengua és un teixit epitelial de tipus: *uniestratificat/pluriestratificat; sec/humit*.

Quines són les característiques dels epitelis pluriestratificats?

A partir de quina capa es produeix la renovació cel·lular de l'epiteli?

En les seccions de llengua, heu observat altres tipus d'epiteli? *Sí/No*. Quin/s?

De quin teixit està formada la làmina pròpia?

Quina funció té?

Quins elements vasculars s'observen en el teixit lax de les papil·les?

### *Musculatura de la llengua*

A la llengua trobem feixos en orientació: *a) paral·lela a l'eix principal; b) perpendicular a l'eix principal; c) obliqua respecte a l'eix principal; d) en les tres orientacions*.

L'orientació dels feixos respon a les necessitats funcionals de la llengua. En comparació, com creieu que s'orienten les fibres en un múscul com el bíceps?

Les fibres de la musculatura lingual són: *llises/estriades; voluntàries/involuntàries*.

Amb la coloració hematoxilina i eosina s'observen bandes fosques i clares. Les bandes fosques es corresponen amb les bandes de *miosina/actina*.

A la llengua es poden observar fibres llises? *Sí/No*. On es localitzen?

### ***Estroma connectiu i aponeurosi***

Com s'anomena la capa de teixit fibrós en contacte amb la làmina pròpia?

Quina funció té el teixit fibrós del septe lingual?

En què està especialitzat el teixit adipós?

Les cèl·lules adiposes o ..... s'agrupen en petites masses o lobulets al voltant dels quals els capil·lars són *molt/poc* abundants.

### ***Els vasos: artèries, venes i capil·lars***

Quins vasos formen la macrocirculació?

Quines diferències permeten distingir artèries de venes?

Quins vasos formen la microcirculació?

La musculatura de la llengua està *molt/poc* capil·laritzada. Per què?

En la làmina pròpia de la mucosa s'observen *molts/pocs* capil·lars. Per què?

Entre les masses de teixit adipós hi ha *molts/pocs* capil·lars. Per què?

### ***Els nervis***

Per la seva funció, la llengua és portadora de moltes terminacions sensibles (gustatives i tàctils) i motores. Serà fàcil o difícil localitzar-hi nervis?

Els nervis estan constituïts per:

La beina que embolica les fibres nervioses s'anomena .....

Les fibres axonals dels nervis perifèrics són sempre mielinitzades? *Sí/No*.

En les inclusions pel mètode de la parafina, es conserva la mielina? *Sí/No*. Per què?

Quin mètode seria adequat per a l'observació de la mielina?

Els botons gustatius contenen cèl·lules sensorials a les quals arriba una terminació nerviosa *aferent/eferent; sensitiva/motora*.

### ***Les glàndules linguals***

Les glàndules salivals linguals són *seroses/mucoses/mixtes*.

Els nuclis de les cèl·lules seroses són *aplatats/rodons*, de cromatina *densa/laxa* i se situen ..... El citoplasma és PA/S +/-.

Els nuclis de les cèl·lules mucoses són *aplatats/rodons*, de cromatina *densa/laxa* i se situen ..... El citoplasma és PA/S +/-.

## *Pràctica 2.2. Un òrgan tubular: l'intestí*

### **Objectius**

L'objectiu d'aquesta sessió és estudiar l'estructura dels òrgans tubulars i familiaritzar-se amb els conceptes de lumen i paret i el paper de la musculatura llisa.

S'estudiarà l'estructura bàsica de l'intestí i les variacions segons la localització.

En l'aspecte histològic s'observarà un epitelí columnar (monoestratificat cilíndric) amb microvellositats, glàndules unicel·lulars mucoses i glàndules tubulars. També es farà èmfasi en el paper del teixit connectiu lax i, especialment, en les diferents acumulacions limfàtiques.

S'observaran els plexes nerviosos que es troben a la paret intestinal.

### **Paraules clau**

**EPITELI MONOESTRATIFICAT; GLÀNDULA UNICEL·LULAR; GLÀNDULA TUBULAR; FIBRA MUSCULAR LLISA; FOL·LICLE LIMFÀTIC**

### **Conceptes clau**

L'intestí és un òrgan de secreció i absorció que forma part del tub digestiu juntament amb la faringe, l'esòfag i l'estómac. Presenta una estructura bàsica formada per quatre capes (mucosa, submucosa, muscular i adventícia) amb variacions específiques a cada regió.

La **mucosa** recobreix el lumen i consta, de fora a dins, de l'epitelí, la làmina pròpia i la muscular de la mucosa. L'**epitelí** és de tipus columnar i conté cèl·lules glandulars mucoses en proporcions variables. La **làmina pròpia** està formada per teixit connectiu amb abundants capil·lars i cèl·lules limfàtiques. La **muscular de la mucosa** consta d'una capa circular i una capa longitudinal molt primes de múscul llis que separen la mucosa de la submucosa.

La **submucosa** està formada per teixit lax amb abundants fibres elàstiques, que li permeten formar replecs. Conté vasos de diàmetre superior als de la mucosa i un plexe nerviós abundant.

La **muscular** la formen dues capes de fibres llises orientades perpendicularment, **longitudinal**, externa, i **circular**, interna. El to muscular permet el manteniment del diàmetre del tub i el peristaltisme impulsa els aliments. En alguns punts la capa circular es troba engruixida per formar els esfínters.

L'**adventícia** recobreix el tub externament. És de teixit lax amb abundants cèl·lules adiposes. Conté nervis, artèries i nombroses venes limfàtiques i sanguínies. Les tres regions intraperitoneals del tub digestiu, és a dir, les que estan suspeses al peritoneu, tenen una **serosa** que consisteix en el teixit connectiu de l'adventícia recobert d'un mesoteli que redueix les forces friccionalis durant els moviments digestius.

### ***Intestí prim***

És l'òrgan principal d'absorció d'aminoàcids, sucres i lípids generats en la digestió. També segrega alguns enzims digestius. En viu fa uns 3 m, però *post mortem*, amb la musculatura totalment relaxada, pot arribar a 6 m. S'hi distingeixen tres regions: el **duodè**, el **jejú** i l'**ili**, que presenten petites diferències principalment pel que fa a la localització de les glàndules.

A l'intestí prim la mucosa i la submucosa formen **plecs** disposats circularment a la llum. Els plecs estan recoberts per petits replegaments digitiformes de la mucosa o **vellositats**. Cada vellositat conté una massa central (còrion) formada pel teixit lax de la làmina pròpia, recoberta per l'epiteli. A la base de les vellositats es formen petites invaginacions anomenades **criptes**.

L'epiteli és monoestratificat prismàtic i conté **enteròcits** i cèl·lules glandulars mucoses (**cèl·lules caliciformes**). Els enteròcits s'originen a les criptes i s'escamen a la punta de les vellositats. Les glàndules mucoses caliciformes varien segons la regió i s'acumulen a les criptes o en invaginacions tubulars que arriben fins a la muscular de la mucosa. A la submucosa del duodè s'hi troben nombroses glàndules mucoses tubulars: les glàndules de **Brunner**. El teixit lax de la mucosa i de la submucosa presenta una gran abundància de macròfags, limfòcits i **fol·licles limfàtics** (a l'ili els cúmuls limfàtics són grans i persistents i formen les plaques de Peyer a la submucosa). Cada vellositat porta un capil·lar limfàtic o més.

### ***Intestí gruixut***

S'encarrega de convertir el contingut líquid de l'intestí prim en un residu sòlid a través de la reabsorció progressiva de l'aigua i les sals. L'estructura de l'intestí gruixut és força constant, amb petites variacions regionals (cec, còlon i recte).

A l'intestí gruixut la mucosa no presenta vellositats i conté abundants cèl·lules mucoses. La funció principal del moc és la lubricació. La submucosa és molt abundant i també presenta importants acumulaments limfoides. Les característiques dels agregats limfoides i fol·licles varien segons l'estat immunològic de l'individu.

## **Material**

L'anatomia de budell, plecs i vellositats, la podeu observar adquirint a la carnisseria un fragment de budell de bullit de vedell (*Bos taurus*). Per a l'anatomia microscòpica podeu utilitzar intestí de ratolí (*Mus musculus*). Convé disposar de seccions d'intestí prim a diferents nivells (duodè, jejú i ili) i d'intestí gruixut en què es puguin observar cúmuls limfàtics. Opcionalment es poden observar preparacions d'altres òrgans tubulars: tràquea, urèter.

## **Observacions**

### ***Intestí prim: estructura general***

Observeu la preparació primer a ull nu i després amb un objectiu d'un augment baix. Fixeu-vos en l'estructura bàsica d'un òrgan buit: el lumen i la naturalesa de la paret.

Procureu identificar les quatre capes: mucosa, submucosa, muscular i adventícia. Observeu les vellositats. Observeu amb més detall les capes muscular circular i

longitudinal. Fixeu-vos en els nuclis. Com queden tallades les fibres en funció de l'orientació? **Microfotografies: Intestí 1**

*Dibuixeu una visió general en tall transversal de la regió d'intestí prim corresponent a la vostra preparació.*

***Capas mucosa, submucosa, muscular i serosa***

Observeu amb objectius mitjans les característiques de la mucosa. Observeu amb detall l'epiteli i les cèl·lules caliciformes. Fixeu-vos en la seva distribució. Fixeu-vos en la presència de capil·lars i de cèl·lules limfàtiques. Localitzeu la *muscularis mucosae*. Identifiqueu la submucosa. Hi observeu vasos? **Microfotografies: Intestí 2**

*Dibuixeu amb detall una vellositat de la mucosa amb les cèl·lules epitelials i les cèl·lules glandulars mucoses ben diferenciades.*

Situeu la capa muscular circular i la longitudinal. Intenteu identificar la capa serosa o adventícia. Hi observeu vasos? Compareu les vostres observacions en la secció d'intestí prim que heu dibuixat amb les altres dues seccions del portaobjectes. Fixeu-vos en la presència o no de plects i vellositats i en el desenvolupament diferencial de les capes. Fixeu-vos en el diferent grau i localització d'acumulaments limfàtics. Localitzeu les plaques de Peyer a l'ili, localitzeu el plexe nerviós d'Auerbach al jejú i les glàndules de Brunner al duodè. **Microfotografies: Intestí 3**

## Qüestionari

### *Aspectes generals*

L'aparell digestiu és essencialment un tub amb glàndules. Quina força manté oberta la llum del tub?

Tot el tub digestiu està format per quatre capes que es desenvolupen de manera diferencial segons els segments, i que són:

Quina funció fa l'intestí?

Té algun avantatge el fet de presentar plects i vellositats?

Les artèries i les venes també són òrgans tubulars. Podríeu fer-ne una comparació amb l'intestí?

### *Mucosa i submucosa*

El terme ..... s'utilitza per descriure l'epiteli i la capa de teixit connectiu subjacent.

Com és l'epiteli de la mucosa intestinal?

Les glàndules mucoses són *molt/poc* abundants. Quina funció té el moc?

Les glàndules mucoses unicel·lulars reben el nom de cèl·lules ..... Són PA-S *positives/negatives*.

Les ..... són eminències papil·lars, l'eix cònic de les quals és ocupat per.....

Al seu interior la vascularització és *molt/poc* abundant.

La muscular de la mucosa és la capa que separa la làmina pròpia de la .....

La submucosa està formada per teixit .....

Les glàndules duodenals que es veuen a la submucosa són les glàndules de ..... Són PA-S *positives/negatives, tubulars/acinoses*.

### ***Túnica muscular***

Està formada per ..... i .....

Compareu les fibres musculars llises de la túnica muscular de l'intestí amb els feixos musculars esquelètics de la llengua.

### ***Teixit limfàtic associat al tub digestiu***

La presència a la mucosa intestinal d'acumulacions limfàtiques és *molt/poc* probable.

Al teixit lax de la làmina pròpia s'observen moltes cèl·lules que són macròfags i principalment limfòcits. Quines funcions fan?

Les acumulacions limfàtiques són fixes o variables? En funció de què poden variar?



## ***Pràctica 2.3. Les cèl·lules sanguínies: detecció de l'activitat peroxidasa i tinció amb hematoxilina***

### **Objectius**

Aquesta sessió serveix per introduir l'alumne en les tècniques de tinció i marcatge histoquímic a través de la detecció de l'activitat enzimàtica de la peroxidasa i la tinció amb el colorant nuclear, l'hematoxilina, de les cèl·lules sanguínies, i també en l'estudi de les funcions que duen a terme els diferents tipus cel·lulars observats.

### **Paraules clau**

**ERITRÒCITS; LEUCÒCITS; GRANULÒCITS; MONÒCITS; LIMFÒCITS; PEROXIDASA; FAGOCITOSI**

### **Conceptes clau**

La sang es defineix com un teixit connectiu especialitzat, compost per una fase sòlida (cèl·lules sanguínies) i una fase intercel·lular líquida (plasma sanguini). La seva funció principal és actuar com a mitjà de transport de nutrients, productes metabòlics, gasos ( $O_2$  i  $CO_2$ ), hormones, etc. entre diferents cèl·lules i teixits de l'organisme.

El plasma constitueix el 55% d'una mostra de sang i està format principalment per  $H_2O$ , però també té glúcids, lípids, pigments, hormones, ions i proteïnes, entre les quals destaquen l'albumina, la globulina, el fibrinogen o la protrombina.

Les cèl·lules sanguínies constitueixen el 45% d'una mostra de sang i es classifiquen en 3 grups:

- glòbuls vermells, eritròcits o hematies
- glòbuls blancs o leucòcits
- plaquetes o trombòcits

### ***Glòbuls vermells***

Són cèl·lules rodones amb forma de disc bicòncav que fan 7  $\mu m$  de diàmetre, sense nucli i un citoplasma amb molt pocs orgànuls i on es concentra la proteïna hemoglobina, implicada en el transport de gasos. Són les cèl·lules sanguínies més abundants i representen aproximadament el 99% dels elements figurats. En un adult hi sol haver 4,5-5 milions d'eritròcits/ $mm^3$  de sang.

### ***Glòbuls blancs***

Són cèl·lules que presenten nucli i orgànuls citoplasmàtics. La seva funció principal és participar en els mecanismes de defensa cel·lular i humoral (per anticossos) de l'organisme contra cossos estranys.

Hi ha dos grans grups de leucòcits que s'agrupen segons l'aspecte que presenten al microscopi òptic:

- **Granulòcits o polimorfonucleats**

Tenen el citoplasma granular i el nucli segmentat. Segons l'afinitat d'aquests grànuls pels colorants es classifiquen en:

- . **Neutròfils:** afinitat per colorants àcids i bàsics
- . **Eosinòfils:** afinitat per colorants àcids
- . **Basòfils:** afinitat per colorants bàsics

- **Agranulòcits o monomorfonucleats**

No tenen grànuls al citoplasma visibles al microscopi òptic, ni tenen el nucli segmentat. N'hi ha de dos tipus:

- . **Monòcits**
- . **Limfòcits**

Els **neutròfils** tenen un diàmetre de 10-15  $\mu\text{m}$  i representen el 55-70% del total dels leucòcits. Presenten un nucli amb 3-5 lòbuls irregulars units per filaments primers de cromatina. Els grànuls citoplasmàtics contenen diversos enzims bactericides com: lisozims, lactoferrines i peroxidasa. Són cèl·lules amb activitat fagocitària i constitueixen la primera línia de defensa de l'organisme (immunitat inespecífica o innata).

Els **eosinòfils** tenen un diàmetre de 10-15  $\mu\text{m}$  i representen l'1-6% del total de leucòcits. Tenen el nucli bilobulat i contenen abundants grànuls eosinòfils amb un contingut divers com: enzims bactericides, histaminasa, fosfolipases, etc. Les funcions principals són fagocitar complexos antigen-anticòs i intervenir en fenòmens al·lèrgics (la histaminasa dels grànuls contraresta els efectes inflamatoris de la histamina segregada durant els fenòmens al·lèrgics).

Els **basòfils** tenen un diàmetre de 10-12  $\mu\text{m}$  i són els leucòcits menys abundants (0,5-0,7% del total de leucòcits). Tenen el nucli bilobulat o trilobulat, encara que no s'aprecia bé per la gran quantitat de grànuls presents al citoplasma. Els grànuls citoplasmàtics contenen factors quimiotàctics per neutròfils i eosinòfils, histamina, heparina, serotonina, etc. La histamina que secreten en les reaccions immunitàries actua com a potent vasodilatador, afavorint l'arribada dels altres leucòcits.

Els **monòcits** són els leucòcits més grans (diàmetre de 12-18  $\mu\text{m}$ ) i representen l'1-10% del total de leucòcits. Agranulats, el seu nucli té forma de ronyó (o mongeta). La seva funció a la sang és nul·la i de seguida emigren als teixits, on es transformen en macròfags. Aquesta transformació és precedida per un increment de l'aparell de Golgi i del nombre de lisosomes. La funció dels macròfags als teixits és la de fagocitar i eliminar cèl·lules mortes i partícules estranyes.

Els **limfòcits** són els leucòcits més petits (diàmetre de 5-10  $\mu\text{m}$ ) i representen el 20-30% del total de leucòcits. Són leucòcits agranulòcits amb el nucli globular. El nucli ocupa quasi tota la cèl·lula, només es veu un marge fi de citoplasma. Participen en la immunitat adquirida, caracteritzada per ser una resposta específica i amb memòria.

**Plaquetes o trombòcits**

Són elements de 3  $\mu\text{m}$  de diàmetre que tenen forma de disc i no tenen nucli. En realitat no són veritables cèl·lules, ja que són fragments de citoplasma rics en reticle endoplasmàtic rugós que s'originen pel trencament de cèl·lules molt grans anomenades *megacariòcits*. La seva funció és intervenir en els processos de coagulació sanguínia, ja que permeten la formació del coàgul a la paret endotelial del vas sanguini danyat.

### ***Detecció de l'activitat peroxidasa en els neutròfils***

Els diferents tipus de cèl·lules sanguínies es poden diferenciar per la mida, forma del nucli, presència de granulacions al citoplasma, etc., però la identificació cel·lular a través de la detecció de les proteïnes específiques és el mètode més acurat i fiable.

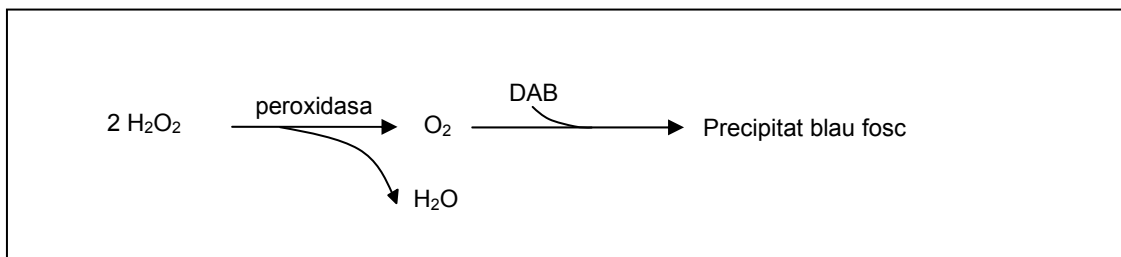
Quan la proteïna específica que es vol identificar és un enzim, la seva localització es pot determinar basant-se en la detecció de la seva activitat enzimàtica.

La peroxidasa és un enzim que catalitza reaccions bisubstrat de caràcter redox, utilitzant un peròxid com a oxidant i un segon substrat de característiques reductores que és oxidat pel peròxid. En els leucòcits, concretament en els neutròfils, la peroxidasa té funcions defensives aprofitant el caràcter oxidant del peròxid que es genera de manera endògena mitjançant altres reaccions metabòliques amb finalitats germicides i bactericides. Unes altres peroxidases, com la glutatió peroxidasa, es troben àmpliament distribuïdes en diferents teixits amb finalitats diferents, però relacionades amb una funció antioxidant.

Les peroxidases tenen com a substrat comú el peròxid d'hidrogen ( $H_2O_2$ ). La gran afinitat per aquest substrat fa que es pugui unir als 2 llocs del centre actiu, el superior i l'inferior, i donar lloc a una inhibició per excés de substrat, ja que, quan ambdues posicions estan ocupades pel peròxid d'hidrogen, la unió del segon substrat no és possible.



L'activitat enzimàtica de la peroxidasa es pot detectar a través de diferents reactius, entre els quals és àmpliament utilitat el DAB. En aquest cas, l'oxigen després durant la reacció metabòlica oxida el DAB i genera un precipitat fàcilment observable al microscopi òptic.



La peroxidasa, especialment l'aïllada del rave (*horseradish peroxidase* o HRP), té grans aplicacions en tècniques immunoquímiques i de diagnòstic clínic atesa la seva gran estabilitat, facilitat de conjugació amb les immunoglobulines i senzillesa per detectar-la mitjançant mètodes colorimètrics utilitzant un gran nombre de reactius.

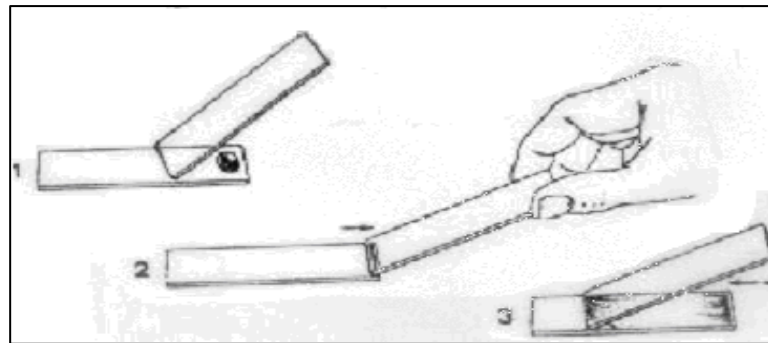
## Material

- mostra de sang humana
- alcohol etílic 96° i cotó
- llanceta
- portaobjectes i cobreobjectes
- paper de filtre
- suport i safata de tinció
- acetona
- etanol 100%, 96% i 70%
- DAB
- aigua destil·lada
- hematoxilina
- DEPEX
- PBS 0,01 M pH 7,4

## Protocol

### Extensió de sang

1. Netegeu la zona del dit on es farà la punció amb un cotó impregnat d'alcohol.
2. Feu la punció amb una llanceta estèril.
3. Poseu una gota de sang a l'extrem d'un portaobjectes molt net i desgreixat, i amb l'ajut d'un segon portaobjectes feu una *extensió* o *frotis*, segons l'esquema següent:



4. Deixeu assecar l'extensió a l'aire (24-48 hores).

**NOTA:** Cada alumne haurà de preparar 2 extensions de sang. Una d'aquestes preparacions es reservarà i s'utilitzarà per fer la tinció Diff-Quick, i l'altra es fixarà i es procedirà a la detecció de l'activitat peroxidasa endògena segons els protocols que es detallen a continuació.

### Fixació

5. Submergiu els portaobjectes en una solució fixadora etanol: acetona 9:1, durant 5 minuts (recordeu **tapar** bé les **cubetes portaobjectes** per evitar l'evaporació de l'acetona i eliminar les restes al **pot de residus** corresponent: orgànics no halogenats).
6. Deixeu assecar a l'aire uns minuts.

## **Detecció de l'activitat peroxidasa endògena i tinció amb hematoxilina**

7. Submergiu el portaobjectes en PBS 0,01 M pH 7,4 durant 5 minuts.
8. Afegiu a la porció de la mostra més adient 200 µl del reactiu DAB (dilució 1/10 de la solució mare amb tampó DAB) i incubeu-ho durant 10 minuts. (Recordeu que cal **treballar amb guants** i decantar el líquid al **pot de residus** corresponent, ja que el **DAB és un producte molt tòxic.**)
9. Netegeu-ho amb aigua destil·lada i deixeu-ho escórrer, decantant una mica sobre el paper de filtre.
10. Afegiu-hi unes gotes d'hematoxilina i tenyiu-ho durant 10 minuts.
11. Traieu l'excés de colorant i incubeu-ho durant 3 minuts amb aigua de l'aixeta.
12. Afegiu-hi alcohol àcid durant 3 segons.
13. Ràpidament afegiu-hi alcohol bàsic (alcohol amoniacal) per eliminar l'excés d'alcohol àcid, i després torneu-ho a incubar amb l'alcohol bàsic durant 3 minuts.
14. Afegiu-hi etanol 70% durant 1 minut, decanteu-ho i deixeu-ho escórrer sobre el paper de filtre.
15. Afegiu-hi etanol 96% durant 1 minut, decanteu-ho i deixeu-ho escórrer sobre el paper de filtre (x2 = repetiu el procés una altra vegada).
16. Afegiu-hi etanol 100% durant 1 minut, decanteu-ho i deixeu-ho escórrer sobre el paper de filtre (x2).
17. Afegiu-hi Histo-Clear durant 2 minuts, decanteu-ho i deixeu-ho escórrer sobre el paper de filtre.
18. Munteu-ho amb DEPEX i col·loqueu el cobreobjectes damunt l'extensió.

**NOTA:** Algunes de les preparacions es tractaran prèviament amb el marcatge amb DAB amb aigua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 2% en PBS 1X per verificar la inhibició per excés de substrat de l'enzim peroxidasa. Per a això, caldrà fer els passos previs següents al pas 7 del protocol descrit:

- Submergiu el portaobjectes en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% en PBS durant 25 minuts.
- Deixeu-ho escórrer i submergiu el portaobjectes en aigua destil·lada durant 5 minuts (x2).

## **Tinció Diff-Quick de cèl·lules de la sang**

Per tal d'observar i reconèixer les diferents cèl·lules sanguínies, de manera paral·lela a la detecció de l'activitat peroxidasa endògena, es farà una tinció amb Diff-Quick. La tinció Diff-Quick és una tinció comercial que permet fixar i tenyir de manera molt ràpida i senzilla. Consta de tres solucions, la solució 1 és la fixadora (solució metílica de triarilmetà), la solució 2 (eosinòfila, solució tamponada de xantè) i la solució 3 (basòfila, solució tamponada de tiazina).

### **Protocol**

1. Submergiu el portaobjectes durant 15 segons en la solució 1 fent 15 immersions d'1 segon cadascuna. Deixeu-ho escórrer decantant una mica sobre el paper de filtre.
2. Submergiu el portaobjectes durant 15 segons en la solució 2 fent 15 immersions d'1 segon cadascuna. Deixeu-ho escórrer decantant una mica sobre el paper de filtre.

3. Submergiu el portaobjectes durant 15 segons en la solució 3 fent 15 immersions d'1 segon cadascuna. Deixeu-ho escórrer decantant una mica sobre el paper de filtre.
4. Renteu l'extensió amb aigua destil·lada per les dues superfícies i deixeu-ho assecar completament a l'aire.
5. Munteu-ho amb DEPEX (1 o 2 gotes petites) i col·loqueu el cobreobjectes damunt l'extensió.

Alerta, si s'observa la preparació el mateix dia que s'ha muntat amb DEPEX, cal vigilar que aquest no sobresurti del cobreobjectes.

## **Observacions**

### ***Morfologia de les cèl·lules sanguínies***

Observeu les característiques generals dels diferents tipus cel·lulars que podeu veure a la vostra extensió. Fixeu-vos especialment en la mida relativa de cada tipus cel·lular i la forma del nucli. **Microfotografies: Sang 1**

*Dibuixeu els diferents tipus cel·lulars observats en la vostra extensió, conservant la proporció de mida.*

Observeu amb detall una cèl·lula que contingui precipitat negre marronós. On es localitza? Quina diferència podeu assenyalar entre aquesta cèl·lula i altres cèl·lules no marcades? **Microfotografies: Sang 2**

Compareu les extensions incubades i no incubades amb aigua oxigenada. Fixeu-vos en les diferències entre ambdues mostres. Quina conclusió podeu treure?

*Dibuixeu un granulòcit amb precipitat i un sense.*

## **Qüestionari**

### *Aspectes generals*

Quins són els leucòcits més abundants a la sang?

Quina funció fan?

Quins són els leucòcits menys abundants a la sang i quina funció fan?

Quin és el tipus cel·lular més gran a la sang? I el menor? Quines funcions fan?

La incubació d'extensions sanguínies, prèviament fixades, amb el reactiu DAB permet el marcatge de cèl·lules amb activitat..... Aquesta activitat es localitza a les cèl·lules sanguínies tipus ..... amb funció .....

El reactiu DAB reacciona amb ..... que s'allibera en la reacció enzimàtica i genera un precipitat de color ..... que es diposita al ..... de la cèl·lula amb aquesta activitat enzimàtica.

Aquest enzim presenta ....., la qual es posa de manifest incubant la mostra amb un excés d'aigua oxigenada.

***Diagnòstic histològic: cèl·lules de defensa***

A partir de les microfotografies que es presenten, identifiqueu de quins òrgans es tracta i les estructures que s'hi observen, i localitzeu-hi cèl·lules de defensa.

Identifiqueu en els diferents casos si són poblacions fixes o variables. En cas afirmatiu, en funció de què poden variar?

**Figura 1 (a i b)**

Òrgan .....

Localització i capes: a).....

b).....

Localització de cèl·lules de defensa:

Diagnòstic i interpretació:



**Figura 2 (a, b i c)**

Òrgan .....

Localització i estructures: *b)* .....

*c)*.....

Localització de cèl·lules de defensa:

Diagnòstic i interpretació:

**Figura 3 (a i b)**

Òrgan .....

Localització i capes: *a)* i *b)*.....

Localització de cèl·lules de defensa:

Diagnòstic i interpretació:

## Pràctica 2.4. El sistema nerviós: medul·la i encèfal

### Objectius

L'objectiu d'aquesta sessió és introduir l'alumne en les característiques bàsiques del teixit nerviós a través de l'estudi de diferents estructures del sistema nerviós central. Els alumnes han de distingir la matèria grisa de la blanca i conèixer-ne la distribució a la medul·la i l'encèfal. També han de ser capaços d'identificar neurones i diferenciar-les de la glia.

El caràcter tubular del sistema nerviós s'estudia mitjançant l'observació del conducte de l'epèndima i/o dels ventricles cerebrals. També es fa èmfasi en la forta irrigació del cervell i en el paper del líquid cefaloraquídi i de les meninges.

### Paraules clau

**NEURONA; NEURÒGLIA; EPÈNDIMA; PLEXE COROIDE; NEUROFIBRIL·LES; MATÈRIA GRISA; MATÈRIA BLANCA, MENINGES**

### Conceptes clau

El sistema nerviós central (SNC) el formen l'encèfal i la medul·la espinal. Difereix dels altres òrgans en el fet que les cèl·lules nervioses, les neurones, no estan envoltades de cèl·lules connectives, sinó de cèl·lules d'origen nerviós anomenades *glia*. Aquestes últimes comprenen la macròglia, **astròcits** i **oligodendròcits**, amb funcions tròfiques i protectores. La **micròglia** són macròfags altament especialitzats.

Les **neurones** reben i transmeten impulsos. Mitjançant xarxes molt complexes processen la informació, proporcionen memòria i generen els senyals efectors. El cos cel·lular, el **pericari**, conté el nucli i la majoria dels orgànuls i en surt una prolongació llarga, l'**axó**, i nombroses prolongacions curtes, les **dendrites**. El nucli presenta eucromatina i un nuclèol molt desenvolupat. Repartits pel pericari, excepte al con axonal, hi ha acumulacions de reticle rugós o els grànuls de Nissl. El **citòsquelet**, format per neurofilaments (filaments intermediaris), actina i neurotúbuls, es posa de manifest amb les tècniques d'impregnació argèntica. Les **cèl·lules de glia** es distingeixen pels nuclis petits, densos i amb un nuclèol poc aparent. Són molt ramificades amb filaments abundants. Els diferents tipus es reconeixen per mètodes histoquímics i d'impregnació.

Al SNC es distingeix la **matèria grisa**, que conté els cossos neuronals, i la **matèria blanca**, que conté les fibres, la majoria mielinitzades. En preparacions H i E, la matèria blanca queda més tenyida per l'eosina que la grisa. En la matèria grisa es veuen els cossos neuronals distribuïts de manera característica per cada zona, cèl·lules de glia i abundància de capil·lars. A la matèria blanca una observació acurada permet distingir els oligodendròcits (nucli rodó) dels astròcits (nucli poligonal) i de la micròglia (nucli en forma de bastó).

### ***Cervell, cerebel i medul·la***

A l'encèfal la matèria grisa és perifèrica, excepte alguns nuclis centrals, i forma circumvolucions (cervell) o làmines (cerebel). A la medul·la, la matèria grisa és central i se situa al voltant del conducte de l'epèndima.

La matèria grisa de l'**escorça cerebral** presenta sis capes molt variables. La més característica és la piramidal, formada per neurones grosses orientades perpendicularment a la superfície. La matèria grisa del **cerebel** presenta tres capes. La capa molecular, externa, conté pocs cossos neuronals i moltes prolongacions axonals i dendrítiques, i queda molt poc tenyida. La capa granular, interna, conté molts cossos neuronals i queda molt tenyida. La capa ganglionar se situa al mig i està formada per les neurones gegants de Purkinje. A la **medul·la** es distingeixen molt bé les neurones motores, situades a la part anterior, caracteritzades per les seves grans dimensions i per l'abundància de substància de Nissl.

### ***Conducte de l'epèndima, plexes coroides i meninges***

Els ventricles i el conducte de l'epèndima (canal espinal) estan recoberts pels epèndimòcits, els cilis dels quals impulsen el moviment del líquid cefaloraquidi (LCR).

Les **meninges** són membranes connectives fibroses que envolten el SNC. La duramàter és una capa molt fibrosa unida al periosti, on sol quedar adherida, i forma les làmines que separen els hemisferis. L'aracnoide és més flonja, deixa un espai subaracnoïdal que és ocupat per el LCR. La piamàter és una capa molt delicada que recobreix íntimament el teixit nerviós.

El LCR és secretat per uns epèndimòcits situats al sostre ventricular en contacte amb una massa de capil·lars que surten directament de la piamàter i formen unes vellositats prominents a l'interior dels ventricles, els **plexes coroides**.

Tot el sistema nerviós central està molt vascularitzat. Les artèries penetren des de l'espai subaracnoïdal i es capil·laritzen abundantment.

### **Material**

Per observar l'anatomia de l'encèfal dels mamífers podeu utilitzar un cervell de xai bullit que tallareu transversalment a diferents nivells (permet veure clarament matèria grisa i blanca, còrtex i circumvolucions, nuclis grisos centrals i ventricles).

Per a l'anatomia microscòpica s'utilitzaran preparacions de medul·la espinal de ratolí (*Mus musculus*) i cervell i cerebel de rata (*Rattus norvegicus*).

## Observacions

### *Medul·la*

Observeu a un augment petit un tall de medul·la. Fixeu-vos en l'orientació (sl/st) i situeu la matèria grisa i la blanca. Localitzeu la meninge duramàter i el conducte de l'epèndima.

**Microfotografies: Sistema Nerviós 1**

*Dibuixeu una secció transversal de la medul·la i situeu-hi la matèria grisa i la blanca. Situeu-hi també el conducte de l'epèndima i assenyalau les banyes (dorsals i ventrals). Dibuixeu, si escau, un gangli o un nervi adjacents.*

Observeu amb detall una àrea de matèria grisa de la medul·la. Localitzeu una neurona motora (neurona gran). Fixeu-vos en el contorn, el nucli i el nuclèol. Procureu distingir el con axonal i observeu la densitat de les neurofibril·les. Observeu la glia –cèl·lules en general molt més petites– i observeu també els capil·lars i els eritròcits.

*Dibuixeu amb detall una porció de matèria grisa on es localitzi el cos d'una neurona motora i els elements tissulars que l'envolten.*

Observeu una zona de matèria blanca. Intenteu distingir les neurones i la glia.

*Dibuixeu un detall de la matèria blanca, assenyalant els elements que hi identifiqueu.*

Localitzeu el gangli sensitiv en la preparació de medul·la. Identifiqueu els elements que el constitueixen: neurones sensitives, cèl·lules de la glia i fibres nervioses. Observeu el tipus de teixit que envolta perifèricament l'estructura ganglionar. **Microfotografies: Sistema Nerviós 2**

*Dibuixeu un detall d'una neurona sensitiva amb les cèl·lules satèl·lit que l'envolten.*

## ***Encèfal***

Localitzeu els ventricles en la preparació d'encèfal i situeu-hi els plexes coroides. Situeu les cèl·lules endimàries en les estructures corresponents i expliqueu la presència de capil·lars en aquestes estructures. Mireu de localitzar les meninges aracnoides i la piamàter en la mostra d'encèfal que esteu observant. Compareu-les amb la duramàter que havíeu trobat a la medul·la. **Microfotografies: Sistema Nerviós 3**

## ***Cerebel***

Fixeu-vos en la localització de la matèria grisa i matèria blanca. Compareu-la amb la que havíeu observat a la medul·la. Identifiqueu les capes molecular (externa), granular (interna) i ganglionar. Situeu les neurones gegants de Purkinje a la capa corresponent. **Microfotografies: Sistema Nerviós 4**

***Dibuixeu amb detall una neurona de Purkinje. Assenyaleu-hi el nucli, el nuclèol i les granulacions citoplasmàtiques.***

## Qüestionari

El sistema nerviós es divideix en SNC i SNP. El SNC està format per

.....

El SNP està format per .....

.....

En el SNC, quins elements conté la matèria grisa?

I la matèria blanca?

A l'encèfal, la matèria grisa és *central/perifèrica* i a la medul·la és *central/perifèrica*.

A l'encèfal, la matèria grisa forma una làmina replegada d'uns 2-3 mm de gruix –escorça–

els plecs de la qual reben el nom de .....al

cervell i de ..... al cerebel.

Quines tres capes formen l'escorça del cerebel?

Quines característiques té cadascuna d'aquestes tres capes?

A la medul·la espinal, les neurones motores ocupen la part *ventral/dorsal* i es distingeixen per

.....

### ***Les neurones***

El nucli de les neurones se situa *centralment/a la perifèria*. La cromatina és de tipus .....

....., per tant, *s'hi veuen/no s'hi veuen* grànuls.

El nuclèol és *molt/poc* visible.

Al pericari hi ha material granular *eosinòfil/basòfil* que forma els .....

....., els quals representen cúmuls de .....

.....

Al cos d'una neurona, com podeu distingir l'inici del con axonal de les dendrites?

Quina funció tenen els nombrosos neurofilaments i neurotúbuls que es localitzen al cos neuronal i a les prolongacions de les neurones?

Quina tècnica histològica permet posar de manifest el potent citosquelet de les neurones?

### ***Canal espinal i ventricles***

Què conté el canal espinal o conducte de l'epèndima?

Quin nom reben les cèl·lules que recobreixen aquest canal? El moviment del LCR és impulsat per

Quines cèl·lules secreten el líquid cefaloraquídi? On se situen?

Què són els plexes coroides?

Com s'anomenen les membranes fibroses que envolten el sistema nerviós central?

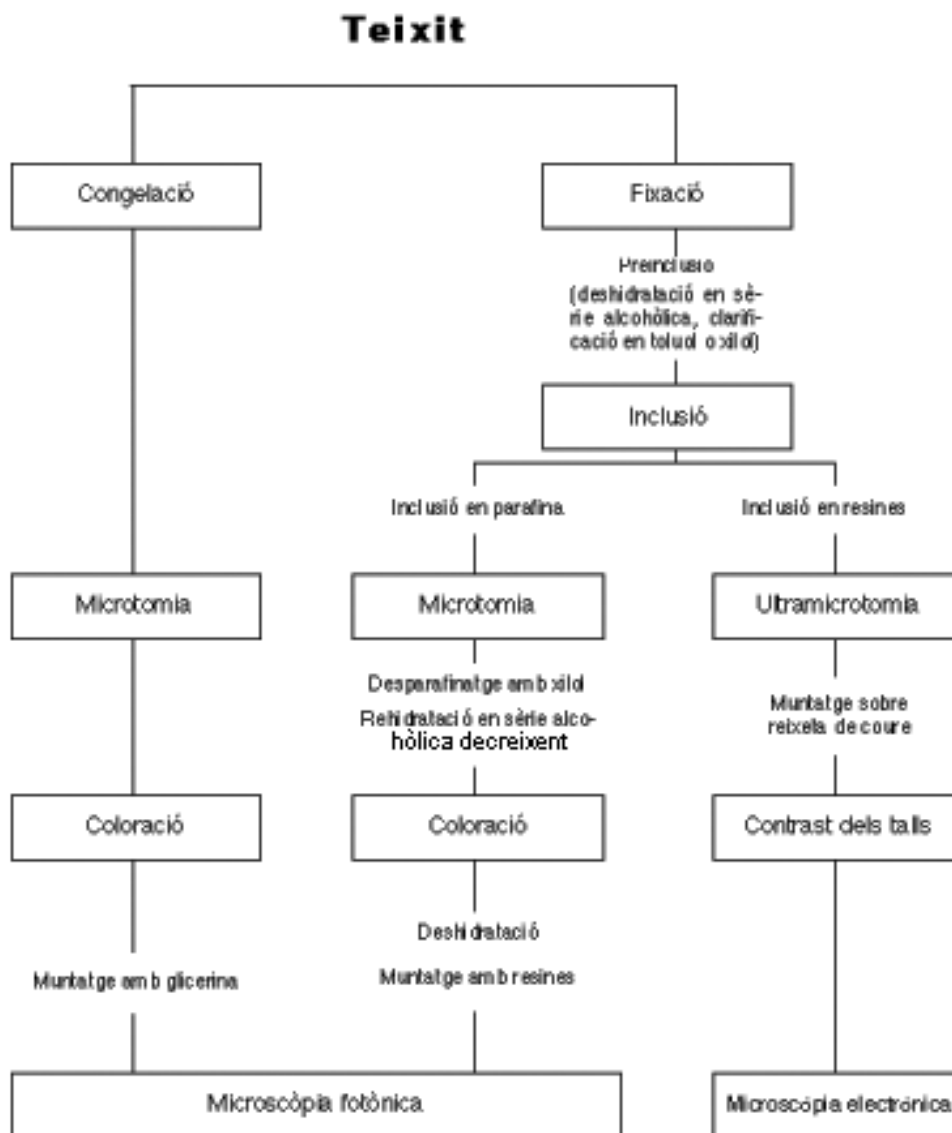
Quina membrana és la més externa i unida al periosti?

Quina membrana recobreix íntimament el teixit nerviós?



## Apèndix

### Procediments bàsics de tècnica histològica



Els procediments més comuns per a l'obtenció de preparacions histològiques

## Coloracions més comunes

### **COLORACIÓ HEMATOXILINA-EOSINA**

És una coloració general i la més utilitzada en treballs de rutina. Conjuga un colorant acidòfil, l'hematoxilina, que tenyeix principalment el nucli, i un colorant basòfil, l'eosina, per al citoplasma.

Resultats:

Nuclis ..... blau fosc  
Citoplasma ..... vermell  
Components acel·lulars ..... vermell

### **COLORACIÓ PA-SCHIFF – HEMATOXILINA-BLAU D'ANILINA**

És part d'un conjunt de tècniques histològiques basades en la reacció de Schiff. La reacció comporta l'oxidació per acció de l'àcid periòdic des de grups glicol fins a aldehid i la reacció d'aquests amb el reactiu de Schiff, cosa que produeix un compost de color magenta. Els colorants de contrastos preferits són l'hematoxilina com a colorant nuclear i el blau d'anilina per al citoplasma. Del colorant nuclear, se'n pot prescindir si es volen remarcar les mucines (vermell porpra) sobre fons blau. El blau d'anilina pot ser substituït per altres colorants àcids com l'Orange G o l'àcid pícric.

Resultats:

Polisacàrids i mucopolisacàrids ..... rosa-vermell  
Nucli ..... blau porpra  
Citoplasma ..... blavós

Mucines, quitina, glicogen, mucopolisacàrids del teixit connectiu i de la làmina basal, matriu cartilaginosa, paret cel·lular dels vegetals, etc., donen positiu amb la tècnica de PA-S.

### **IMPREGNACIÓ ARGÈNTICA**

Els mètodes d'impregnació es basen a provocar la formació d'un pòsit col·loidal d'una sal metàl·lica (plata o d'altres metalls) que és retengut per determinats elements tissulars, per provocar-ne seguidament la reducció a metall. Moltes estructures, com la reticulina, la làmina basal i els neurofilaments, entre d'altres, retenen la plata després de l'acció d'un reductor extern. D'aquesta coloració, n'hi ha moltes variants. N'hi ha nombroses variants apropiades per a teixit connectiu i teixit nerviós.

Resultats:

Neurofilaments ..... negrosos  
Oligodendròcits ..... gris-negre  
Citoplasma ..... gris clar  
Fibres reticulars ..... negres  
Fibres col·làgenes ..... taronja marronós  
Nuclis ..... no queden tenyits

## Bibliografia

### *Atles de diagnòstic histològic animal*

- Boya Vegue, Jesús (1996). *Atlas de histología y organografía microscópica*. Madrid: Panamericana.
- Fiore, Mariano S. H. di; Mancini, Roberto E.; De Robertis, Eduardo, D. P. (1976). *Nuevo atlas de histología: microscopia óptica, histoquímica y microscopia electrónica*. 3a ed. Buenos Aires [etc.]: El Ateneo.
- Gartner, Leslie P.; Hiatt, James L. (cop. 2003). *Atlas color de histología*. 3a ed. Buenos Aires; Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Geneser, Finn (1987). *Atlas color de histología*. Buenos Aires [etc.]: Editorial Médica Panamericana.
- Kühnel, Wolfgang. *Pocket atlas of cytology, histology and microscopic anatomy*. 3rd ed. revised and enlarged. Stuttgart [etc.]: Georg Thieme Verlag New York.
- Sobotta, Johannes; Hammersen, Frithjof (1995). *Histología: atlas en color de anatomía microscópica*. 4a ed. Madrid: Marban.
- Wheater, Paul R. (DL 2000). *Wheater's histología funcional: texto y atlas en color*. 4a ed. Barcelona: Harcourt. [Catàleg]

### *Tècniques d'histologia*

BIOLOGICAL STAIN COMMISSION (1992). *Stain procedures*. Baltimore; Buenos Aires (Argentina). ISBN 950-504-360.

HUMASON, G. L. (1967). *Animal Tissue Techniques*. San Francisco: Freeman.

### Atles d'histologia animal per consultar en línia

<http://www.siumed.edu/~dking2/index.htm> Histologia amb microfotografies de diferents teixits i òrgans.

<http://www.kumc.edu/instruction/medicine/anatomy/histoweb/index.htm> Histologia amb microfotografies de diferents teixits i òrgans.

[http://www.path.uiowa.edu/virtualslidebox/nlm\\_histology/content\\_index\\_db.html](http://www.path.uiowa.edu/virtualslidebox/nlm_histology/content_index_db.html) Microscopi virtual de diferents òrgans. Molt bona.

<http://people.musc.edu/~vslide/webmic/allgspez/WebMicGenOrg.html> Microscopi virtual de diferents òrgans. Molt bona. A més té un qüestionari en línia sobre les imatges!!

# **Diagnòstic histològic vegetal**

**Mercè Figueras, Marissa Molinas i Olga Serra**

**Departament de Biologia. Facultat de Ciències Universitat de Girona**

### 3. Diagnòstic histològic vegetal

La seqüenciació de genomes ha demostrat que hi ha molta similitud entre els gens d'animals i plantes; no obstant això, l'organització multicel·lular és diferent i en conseqüència l'estructura i desenvolupament també. Tot i que el patró d'arrels i tiges, el nombre de fulles, flors i fruits varia molt en funció dels factors ambientals, l'organització interna dels òrgans es manté i és dictada per la càrrega genètica i les funcions que han de dur a terme els òrgans. Per tant, en els vegetals les cèl·lules també s'organitzen en teixits i aquests formen part dels òrgans que fan les diferents funcions de les plantes. Els teixits bàsics de les plantes són: parènquima, col·lènquima, esclerènquima, xilema i floema. L'objectiu d'aquest bloc és estudiar el desenvolupament i l'organització histològica de les plantes. Per a cada òrgan es relaciona l'anatomia microscòpica amb la funció i s'analitzen també els canvis que es produeixen en l'estructura per l'adaptació a diferents ambients. S'introdueixen tècniques histoquímiques i immunohistoquímiques.

Abans de cada sessió és imprescindible haver llegit la part introductòria del guió corresponent.

---

#### *Organització de les sessions*

---

A continuació es mostra la possible organització de les pràctiques durant una setmana, amb sessions de 3 hores cadascuna. Al final de la setmana es proposa una prova de diagnòstic histològic.

Contingut		Dilluns	Dimarts	Dimecres	Dijous	Divendres
Pràctica 6. Organització del cos de la planta	6A. Germinació i plàntula d' <i>Arabidopsis</i>					
	6B. El gra de blat de moro i la seva germinació					
Pràctica 7. La fulla: relació estructura/funció	7A. Observació d'estries epidèrmiques					
	7B. La fulla de dico i monocotiledònia					
Pràctica 8. Diferenciació i morfogènia de la tija	8A. Formació de la tija primària d'una dicotiledònia herbàcia					
	8B. Diferenciació del càmbium i formació de la tija secundària					
	8C. Tija diferenciada de monocotiledònia					
Pràctica 9. Diferenciació i morfogènia de l'arrel	9A. Observació de l'arrel de dicotiledònia					
	9B. Observació de l'arrel de monocotiledònia					
Pràctica 10. Histoquímica	10A. Immunolocalització de la proteïna Rubisco					
	10B. Detecció de la peroxidasa endògena					
Pràctica 11. Modificacions de les fulles per adaptar-se a l'ambient	11. Modificacions de les fulles					
Prova diagnòstic histològic						

## ***Pràctica 3.1. Organització del cos de la planta***

### **Objectius**

Conèixer les parts de la llavor i l'embrió. Entendre com es desenvolupa el cos primari de la planta.

### **Paraules clau**

LLAVOR; ENDOSPERMA; EMBRIÓ; COTILÈDON; EPICÒTIL; HIPOCÒTIL; PLÚMULA; RADÍCULA; PLÀNTULA, DICOTILEDÒNIA; MONOCOTILEDÒNIA

Les plantes amb flors i llavors –*angiospermes*– representen més del 90% de les aproximadament 270.000 espècies de plantes conegudes. Es distribueixen en una desena de grups, tots ells amb dos cotilèdons (dicotiledònies), excepte un que presenta un sol cotilèdon (monocotiledònies). Les *dicotiledònies* es caracteritzen per tenir les fulles amb la nervació pennada (un nervi principal que es ramifica en multitud de nervis més primos), els feixos vasculars de la tija distribuïts en una estela buida amb la medul·la al centre i la capacitat de formar càmbium. Moltes d'elles tenen un creixement llenyós. Són dicotiledònies arbres com el faig o el roure, arbusts com el llentiscle o l'arboç, lianes com l'heura o el lligabosc, herbes com les roselles, el trèvol o la menta, i moltes plantes cultivades com els llegums i la majoria d'hortalisses. Les *monocotiledònies*, en canvi, tenen les fulles amb la nervació paral·lela i els feixos vasculars de la tija segueixen un recorregut helicoidal, de manera que en un tall transversal apareixen dispersos impedit la distinció entre el còrtex i la medul·la. Les monocotiledònies no formen càmbium i la gran majoria són plantes herbàcies, però també n'hi ha algunes d'arbustives com el margalló, i d'altres d'arborescents com les palmes i les iuques. Són monocotiledònies les orquídies, els lliris, hortalisses com la ceba, i les gramínies, en les quals es troben els cereals.

### ***Desenvolupament embrionari***

Totes les plantes tenen un pla d'organització comú consistent en un eix format per la tija portadora de les fulles i flors i l'arrel. Les etapes del desenvolupament embrionari també són comunes i els embrions de totes les plantes, molt semblants. El desenvolupament té lloc en dues etapes separades per la germinació: el desenvolupament embrionari a l'interior de la llavor i el desenvolupament postembrionari, que comença amb la germinació i es manté tota la vida de la planta.

Es divideix en una primera etapa pròpiament embriogènica, en la qual es passa de l'estadi unicel·lular (zigot) a un embrió pluricel·lular amb l'organització bàsica de la planta, seguida d'una etapa de maduració de l'embrió, durant la qual l'embrió acumula reserves i es prepara per a la germinació.

L'***etapa pròpiament embriogènica*** s'inicia amb el zigot i acaba quan l'embrió ha adquirit el pla d'organització de la planta. Es formen els dos meristemes apicals units per un eix portador dels cotilèdons, que són les fulles embrionàries. Es caracteritza pel predomini de la divisió cel·lular i els canvis morfogenètics. S'hi distingeixen cinc estadis:

**Proembrió:** No s'observa una organització cel·lular aparent.

**Embrió globular:** L'embrió pren forma globular, s'organitza una capa cel·lular externa anomenada *protoderma* i comença l'organització dels dos pols apicals.

**Embrió en forma de cor:** L'embrió pren forma de cor per la formació de dues protuberàncies que seran els primordis dels cotilèdons futurs.

**Embrió en forma de torpede:** L'embrió pren forma de torpede per l'allargament de l'eix embrionari i dels primordis cotiledonars.

**Embrió cotiledoni:** Els primordis cotiledonars creixen i es diferencia el futur pecíol i el limbe. La inserció dels cotilèdons divideix l'embrió en *epicòtil*, part situada entre la inserció dels cotilèdons i l'àpex caulinar, i *hipocòtil*, part entre la inserció dels cotilèdons i la radícula. En finalitzar l'etapa cotiledònia, l'embrió està totalment format, però encara no està preparat per germinar.

**L'etapa de maduració de l'embrió** capacita l'embrió per a la germinació. No hi ha canvis morfogenètics significatius, però sí un gran creixement. Comença quan s'acumula midó als cotilèdons, els quals s'expandeixen, seguit d'una fase d'intensos canvis bioquímics que porten a la deshidratació i entrada en fase de latència de l'embrió. Durant aquesta etapa, algunes llavors com la mongeta acumulen alguns primordis o fins i tot petites fulles meristemàtiques que sobresurten del meristema formant l'anomenada *plúmula*.

### **Llavor, germinació i plàntula**

**La llavor** és l'estructura formada per l'embrió amb els teixits de reserva protegits per una càpsula. Les llavors es divideixen en macrollavors (llavors grosses que acumulen moltes reserves com la mongeta o el blat de moro) i microllavors (llavors petites, moltes d'elles microscòpiques, com l'enciam o l'*Arabidopsis*). Si les reserves es troben als cotilèdons com la mongeta es diuen cotiledospermàtiques; si es troben a l'endosperma, el teixit extern que resulta de la doble fecundació del gra de pol·len, endospermàtiques. Hi ha llavors amb les reserves repartides entre els dos teixits.

**La germinació** consisteix en l'entrada sobtada en activitat de l'embrió latent quan es donen les condicions adequades. Es manifesta per la sortida de la radícula a l'exterior. La imbibició, juntament amb altres estímuls, activa sobtadament la síntesi d'enzims hidrolítics que alliberen sucres i aminoàcids per al creixement. Inicialment, el creixement té lloc per expansió de les cèl·lules de l'hipocòtil i els pecíols cotiledonis generalment sense que es produeixin divisions. La força de l'expansió genera una pressió suficient per trencar la coberta i impulsar la radícula (arrel embrionària) a l'exterior. Les divisions s'activen més lentament, primer entra en acció el meristema radicular i comença el creixement de l'arrel i una mica més tard, el meristema caulinar. Algunes llavors germinen directament quan s'embeuen amb aigua (*llavors sense repòs hivernal*), però la majoria només germina si té altres estímuls específics de llum i/o temperatura (*llavors amb repòs hivernal*). L'enciam, per exemple, només germina si unes determinades longituds d'ona activen un pigment (fitocrom).

**La plàntula** és l'estadi que segueix la germinació. La plàntula es nodreix bàsicament de les reserves i/o de l'activitat fotosintètica dels cotilèdons. En aquest estadi totes les plantes són encara molt semblants. Quan la llavor té moltes reserves (macrollavors), els cotilèdons romanen enterrats (germinació hipogea). En general, però, els cotilèdons es despleguen a l'exterior per a la fotosíntesi (germinació epigea).

## ***Desenvolupament postembrionari***

Comença amb l'activació dels meristemes apicals durant la germinació i es manté tota la vida de la planta. El desenvolupament postembrionari és de caràcter modular: cada cop que s'activa un meristema s'afegeix un mòdul a l'estructura preexistent. Durant el desenvolupament postembrionari es distingeixen tres estadis: l'estadi de plàntula que segueix la germinació; l'estadi juvenil, caracteritzat per un creixement ràpid, i l'estadi de planta adulta, més lent i amb la formació dels òrgans reproductors.

En finalitzar heu de ser capaços de:

1. Identificar les parts de la llavor i l'embrió.
2. Relacionar les estructures de l'embrió amb els òrgans o estructures de la planta.
3. Conèixer l'*Arabidopsis*, la planta model en biologia.
4. Identificar tipus cel·lulars: epidermis, parènquima, teixits vasculars.
5. Entendre la diferència entre llavors endospermàtiques i cotiledospermàtiques.
6. Conèixer les diferències entre mono i dicotiledònies.

### ***3.1.A. Germinació i plàntula d'Arabidopsis***

L'*Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*, *cruciferae*), la planta model, té un cicle de vida molt curt, és fàcil de cultivar, té un genoma molt petit i s'obtenen mutants amb molta facilitat. És la primera planta de la qual es va seqüenciar el genoma i es disposa de moltes eines moleculars per al seu estudi. Molt pròxima a les brassicàcies salvatges hi ha la *Capsella bursa-pastoris*.

L'*Arabidopsis* presenta una microllavor amb l'embrió corbat. No forma plúmula, però sí un hipocòtil relativament llarg. Conté midó als cotilèdons i manté restes d'endosperma també amb midó. Per germinar necessita un cert fotoperíode i/o tractament de fred (2 dies a 4°C). En germinar forma ràpidament una arrel axonomorfa típica de les dicotiledònies i el meristema caulinar es fa evident al cap de dos o tres dies.

#### **✓ Material**

Llavors d'Arabidopsis en diferents estadis de germinació: Prèviament esterilitzades, les llavors s'han mantingut durant 3-4 dies en una placa de Petri amb medi sòlid 2MS\* a 24°C i fotoperíode de 12 hores de llum i 12 hores de foscor. Per obtenir plantes adultes, les llavors germinades s'han transferit a terra.

\* **Medi 2MS**: barrejar 4,4 g L<sup>-1</sup> MS + vitamines; 2% sucrosa; 0,5 g L<sup>-1</sup> MES g L<sup>-1</sup>. Ajustar el pH a 5,8 amb KOH; afegir 2,3 g L<sup>-1</sup> Gelrite i autoclavar 121°C/1 atm durant 15 minuts.

#### **✓ Observacions**

*Observació al microscopi de llavors i plàntules* (**microfotografia 3.1.1 i 3.1.2**). Poseu una gota d'aigua al portaobjectes i amb una agulla o unes pinces transferiu-hi una llavor i/o una plàntula i cobriu-ho amb el cobreobjectes. Identifiqueu les parts de la llavor i la plàntula. Fixeu-vos en l'eix expandit de l'embrió, el pecíol i el limbe cotiledonar i la radícula. Utilitzant objectius mitjà i gran compareu les cèl·lules de l'epidermis de la càpsula, els cotilèdons, l'hipocòtil i l'arrel. Fixeu-vos especialment en la zona de la



radícula i observeu les diferències a mesura que s'allunya de l'àpex. Observeu també els feixos vasculars a l'interior de l'eix.

Si disposeu de material, compareu l'embrió i la plàntula amb els estadis més avançats.

*Dibuixeu la plàntula i relacioneu els òrgans desenvolupats amb les parts de l'embrió.*

*Dibuixeu un detall de les cèl·lules de l'epidermis dels cotilèdons i de la càpsula. Dibuixeu les cèl·lules de l'àpex radicular amb les diferents zones de creixement. Retoleu-ho adequadament i escriviu els peus de figura corresponents.*

### 3.1.B. El gra de blat de moro i la seva germinació

La llavor o gra del blat de moro (*Zea mays*) és una macrollavor monocotiledònia endospermàtica. El cotilèdon, anomenat *escutel* per la forma d'escut, s'estén entre l'embrió i l'endosperma. Aquest és molt abundant i acumula midó i alguns grans d'aleurona (grànuls proteics) a les capes més externes. Com és característic de les gramínies, la plúmula i la radícula estan protegides per beines tancades anomenades, respectivament, *coleòptil* i *colectoriza*.

Per a la germinació, la radícula surt a l'exterior trencant la colectoriza i la paret del gra. Seguidament surt el coleòptil, que es torna verd i creix uns 3 cm, moment en el qual les fulles el sobrepassen trencant-lo. La radícula forma ràpidament una primera arrel fina i llarga que posteriorment degenera i és substituïda per arrels adventícies que surten del nus cotiledonar.

#### ✓ **Material**

Llavors de blat de moro en diferents estadis de germinació: S'ha procedit a la imbibició de llavors de blat de moro sobre paper humit en cambres protegides de la deshidratació.

**Preparació 1:** embrió de blat de moro tallat longitudinalment

#### ✓ **Observacions**

Observeu el gra de blat de moro després d'unes 72 hores d'imbibició. Fixeu-vos en la clova, l'endosperma, l'escutel i l'embrió. Practiqueu diversos talls transversals i un de longitudinal medial per observar la disposició de l'escutel i l'embrió. Observeu diferents estadis de germinació i fixeu-vos en el creixement de la radícula i del coleòptil i en la formació d'arrels adventícies. Complementeu les observacions amb plantes de blat de moro en estadis més avançats de desenvolupament.

*Dibuixeu l'embrió i la plàntula de blat de moro, retoleu-ho acuradament i escriviu el peu de figura.*

Observeu a un augment baix la preparació 1 (**microfotografia 3.1.3**) i fixeu-vos en l'orientació del tall. Situeu l'embrió, l'escutel i l'endosperma i compareu-ho amb les observacions anteriors. Amb l'objectiu mitjà (10X-20X), observeu l'embrió i fixeu-vos en l'eix, els meristemes caulinar i radicular i en el nus cotiledonar, i la seva relació amb l'escutel.

***Feu un dibuix que mostri l'organització general de l'embrió. Retoleu-lo i escriviu el peu de figura.***

## ***Pràctica 3.2. La fulla: relació estructura/funció***

### **Objectius**

Conèixer l'organització de la fulla fent èmfasi en la relació estructura/funció. Reconèixer els teixits primaris de les plantes: de revestiment (epidermis), de farciment (parènquima, col·lènquima i esclerènquima) i de conducció (floema i xilema). Interpretar la relació funcional dels teixits.

### **Paraules clau**

EPIDERMIS; ESTOMA; TRICOMA; MESOFIL·LE; CLORENQUIMA; COL·LÈNQUIMA; ESCLERÈNQUIMA; FEIX VASCULAR; XILEMA; FLOEMA

La fulla és l'òrgan fotosintètic, presenta una estructura laminar amb simetria bilateral i dorsiventral, i consta de beina, pecíol i limbe (làmina amb nervacions).

El limbe és la zona d'expansió laminar, conté el teixit fotosintètic (mesofil·le) limitat per dues epidermis, adaxial i abaxial. A l'interior del mesofil·le es distribueixen les nervacions.

Les nervacions són portadores dels feixos vasculars amb el xilema en posició adaxial i el floema en posició abaxial. Es divideixen en grosses, mitjanes i fines. A les nervacions grosses i mitjanes el teixit vascular està envoltat d'una beina formada per teixits de sosteniment (col·lènquima i esclerènquima) que s'expandeix dorsoventralment per connectar les dues epidermis, de manera que la nervació forma una mena de trabècula o envà per mantenir la làmina estesa. Les nervacions fines que es ramifiquen estan en contacte amb el parènquima fotosintètic, que també es disposa formant una beina al voltant dels vasos per afavorir l'intercanvi. Un cas especial són les plantes C4. En aquestes plantes, la beina conté unes cèl·lules grosses amb cloroplasts especialitzats anomenades *cèl·lules de Kranz*. El parènquima fotosintètic sintetitza com a primer producte de la fotosíntesi l'àcid oxalacètic (C4), que és transportat a la beina, on es descompon alliberant CO<sub>2</sub>, que utilitzen els cloroplasts de les cèl·lules de Kranz per a la fotosíntesi. Aquest sistema evita pèrdues de carboni per la fotorespiració i millora l'adaptació a llocs àrids.

L'anatomia microscòpica de la fulla s'estudia amb talls transversals de petits fragments de limbe orientats perpendicularment a una nervació grossa o mitjana. Cada tall mostra el mesofil·le, les dues epidermis, adaxial i abaxial, i almenys una nervació tallada transversalment.

Amb relació a l'organització dorsiventral, les fulles s'anomenen *isolaterals* o *amfistomàtiques* si els estomes i el parènquima del mesofil·le estan distribuïts de manera més o menys simètrica, i *bifacials* o *zigostòmiques* si hi ha una diferència marcada entre les dues cares. En general, en la fulla l'epidermis adaxial (anvers) és més cutinitzada i presenta molt pocs estomes o cap, mentre que l'epidermis abaxial és menys cutinitzada i presenta estomes i/o pèls; el parènquima del mesofil·le es distribueix en dues capes: en palissada a la cara abaxial i esponjós a l'adaxial.

En finalitzar heu de ser capaços de:

1. Interpretar l'organització interna de la fulla.
2. Reconèixer els teixits primaris en relació amb la seva funció.
3. Entendre la funció barrera de l'epidermis.
4. Entendre l'organització del mesofil·le en relació amb la fotosíntesi.
5. Entendre el paper de les nervacions per al transport i sosteniment.
6. Reconèixer la histologia microscòpica d'una fulla de monocotiledònia i dicotiledònia.

### 3.2.A. Observació d'estries epidèrmiques

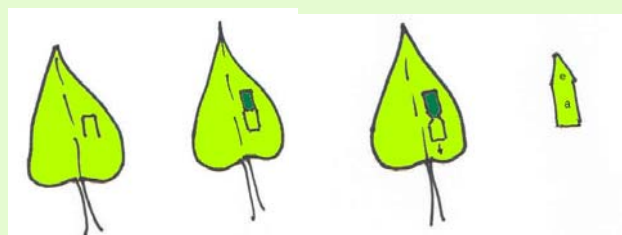
L'*epidermis* és el teixit de revestiment primari, està format per una capa monoestratificada de cèl·lules revestides per la cutícula. Conté cèl·lules ordinàries, estomes i tricomes (pèls). Els estomes són petits ostiols d'obertura regulable formats per les cèl·lules de guarda, i serveixen per a l'intercanvi de gasos. Els pèls o tricomes poden tenir la funció de revestiment o secretora (pèls glandulars). També pot haver-hi cèl·lules amb cristalls o altres especialitzacions.

#### ESTRIES EPIDÈRMiques

Les estries, *peelings*, són petits fragments d'epidermis que s'obtenen per arrossegament mecànic gràcies a la cohesió de la cutícula. S'obtenen de la fulla, però també del pètal i la tija.

#### Procediment:

- 1) Situeu la fulla amb la cara de la qual voleu obtenir l'estria cap amunt.
- 2) Feu un tall de tres costats i doblegueu aquest trosset sobre la mateixa fulla formant un aleró.
- 3) Amb les pinces o els dits, estireu fort l'aleró (*f*) en direcció contrària per tal d'arrossegar l'epidermis (*e*).
- 4) Munteu l'epidermis sobre el portaobjectes amb la cara externa cap amunt. Si l'aleró és massa gruixut (color verd), talleu-lo abans de muntar.



**Figura 2.** Mètode d'obtenció de l'estria epidèrmica.

✓ **Material**

Diferents fulles, algunes de plantes suculentas

✓ **Procediment**

Seguiu les instruccions del requadre Estries epidèrmiques i observeu la preparació al microscopi. Compareu l'epidermis abaxial amb l'adaxial. Compareu la vostra fulla amb altres fulles dels companys.

*Dibuixeu l'epidermis indicant els tipus de cèl·lules i retoleu-ho.*

### **3.2.B. La fulla de di- i monocotiledònia**

#### **Fulla de dicotiledònia**

Les fulles de *dicotiledònia* tenen una nervació pennada. Una secció perpendicular a un nervi sempre mostra als costats altres nervis derivats tallats obliquament.

✓ **Material**

**Preparació 2:** fulla d'alzina surera (*Quercus suber*), secció transversal. Conté dues seccions que corresponen respectivament a una fulla expandida però molt jove i a una fulla meristemàtica que encara no s'ha expandit. La fulla expandida és funcional, les cèl·lules tenen cloroplasts desenvolupats, i s'han format estomes i espais intercel·lulars. La fulla meristemàtica, en canvi, encara no té les cèl·lules ben diferenciades, els estomes no estan formats i no hi ha espais intercel·lulars.

✓ **Observacions**

Observeu la preparació 2 (**microfotografia 3.2.1**) a un augment baix i identifiqueu el tall corresponent a la fulla expandida i la meristemàtica.

*Anoteu els criteris emprats per distingir l'estadi de fulla meristemàtica i expandida.*

Observeu la fulla expandida. Situeu les cares adaxial (anvers) i abaxial (revers). Situeu la nervació principal (tallada transversalment) i les nervacions tallades obliquament.

Observeu amb detall les dues epidermis, adaxial i abaxial, i fixeu-vos en les cèl·lules ordinàries, els estomes i els pèls. Observeu el mesofil·le i fixeu-vos en el parènquima en palissada i esponjós. Observeu la nervació principal i fixeu-vos en el feix conductor (xilema i floema) i els teixits de la beina (col·lènquima i esclerènquima). Si el tall passa pel marge, observeu la distribució dels teixits en aquest punt.

***Dibuixeu l'estructura histològica de la fulla de surera. Dibuixeu un detall de l'epidermis i del mesofil·le. Retoleu-ho adequadament i escriviu un peu de figura.***

***Dibuixeu amb detall la nervació tallada transversalment. Retoleu-ho adequadament.***

### ***Fulla de monocotiledònia***

Presenta una nervació paral·lela, amb nervis més gruixuts i prims tallats pel mateix pla. A les fulles de les gramínies s'hi troben unes cèl·lules grosses anomenades bulbiformes, situades a l'epidermis adaxial, que són responsables dels moviments d'enrotllament de la làmina. Tenen un gran vacúol molt sensible als canvis d'humitat. Quan hi ha disponibilitat d'aigua, el vacúol s'infla i augmenta considerablement el volum, la qual

cosa provoca el desplegament de la làmina; quan perd turgència, disminueix el volum i la làmina s'enrotlla.

✓ **Material**

**Preparació 3:** fulla de blat de moro (*Zea mays*), secció transversal

✓ **Observació**

Observeu al microscopi la preparació 3 (**microfotografia 3.2.2**). Situeu les cares adaxial i abaxial, el mesofil·le i les nervadures (noteu que totes es veuen tallades pel mateix pla). Observeu amb detall l'epidermis amb els estomes i localitzeu les cèl·lules bulbiformes. Observeu la disposició del mesofil·le. Observeu les nervacions més grosses, localitzeu el xilema i el floema i noteu la beina d'esclerènquima. Observeu la beina de Kranz a les nervacions fines.

***Dibuixeu** l'estructura histològica de la fulla de blat de moro. Retoleu-la. Dibuixeu amb detall l'epidermis, el parènquima del mesofil·le amb una nervació fina. Dibuixeu una nervació gruixuda amb les seves beines. Retoleu-ho.*



## ***Pràctica 3.3. Diferenciació i morfogènia de la tija***

### **Objectius**

Conèixer l'estructura de la tija de dico i monocotiledònies. Relacionar l'organització del meristema apical del brot amb l'estructura primària de la tija. Distingir els feixos tancats (dicotiledònies) dels feixos oberts (monocotiledònies). Conèixer l'estructura secundària de la tija. Relacionar els meristemes laterals, càmbium i fel·logen, amb l'estructura secundària.

### **Paraules clau**

MORFOGÈNIA I DIFERENCIACIÓ; MERISTEMA APICAL DEL BROT; TIJA PRIMÀRIA; EPIDERMIS; CÒRTEX; CILINDRE VASCULAR; MEDULLA; FEIXOS VASCULARS OBERTS; PROCÀMBIUM; CÀMBIUM; ESTRUCTURA SECUNDÀRIA; FEL·LOGEN; PERIDERMA

### ***Estructura primària i secundària***

L'*estructura primària* s'origina dels meristemes embrionaris o primaris: el meristema apical del brot (MAB), que forma la tija primària i les fulles, i el de l'arrel (MAR), que forma l'arrel primària.

L'*estructura secundària* deriva dels meristemes laterals o secundaris, càmbium i fel·logen, que s'originen per desdiferenciació. El càmbium forma el xilema i floema secundaris. El fel·logen forma el periderma, que substitueix l'epidermis en el creixement secundari. L'estructura secundària és pròpia de les dicotiledònies, que tenen feixos vasculars oberts a l'interior dels quals es forma el càmbium. Les monocotiledònies tenen feixos vasculars tancats, no formen càmbium i no tenen creixement secundari.

### ***El meristema apical del brot (MAB)***

És un meristema nu que forma els primordis a l'exterior. Consisteix en una regió de cèl·lules indiferenciades (meristemàtiques) altament organitzades amb diferents poblacions distribuïdes en sentit apical/basal i radial. S'encarrega d'aportar cèl·lules per al creixement i d'organitzar la morfogènia de la tija i les fulles. El creixement és apical i obert, les cèl·lules mare es troben en la posició més apical i les derivades es produeixen en direcció basípeta. Les derivades es diferencien en direcció basípeta i donen lloc a una successió de poblacions fins a formar els histògens o capes mare dels teixits. S'hi distingeixen les regions següents:

### ***Regió apical (promeristema)***

Presenta dues organitzacions sobreposades: *túnica/corpus* i *meristema central i perifèric*.

*Túnica/corpus*: La túnica consisteix en un nombre variable de capes de cèl·lules (generalment d'una a sis) que revesteixen el corpus, format per la massa de cèl·lules situades internament. Les cèl·lules de la túnica es divideixen totes pel pla anticlinal i formen fileres; les cèl·lules del corpus es divideixen en tots els plans i creixen en massa. El límit entre la túnica i el corpus és imprecís, ja que les divisions de les capes més

internes de la túnica no són tan regulars. En els períodes de repòs, les capes de la túnica són més nombroses i estan més ben definides que en els períodes d'activitat. No es coneix el significat d'aquesta organització.

*Meristema central i perifèric:* Consisteix en un nucli de *cèl·lules centrals* més grosses i vacuolitzades que es mantenen quiescents o es divideixen molt poc, envoltades per un anell de *cèl·lules perifèriques* més petites amb el nucli més condensat i molt actives en la divisió. Aquestes formen l'anell de divisió que aporta cèl·lules per al creixement longitudinal del brot. L'anell es distingeix bé en els períodes d'activitat, però és poc visible en els períodes de repòs.

### ***Meristema lateral i costal (flank i rib)***

En posició basal al promeristema les cèl·lules es comencen a separar en dues capes concèntriques: una capa central de cèl·lules més grosses disposades en columnes que es divideixen poc (*meristema costal: rib*), i una capa perifèrica de cèl·lules més petites que es divideixen més (*meristema lateral: flank*). Els primordis foliars es formen del meristema *flank* per divisions periclinals que afecten la capa més externa i la subjacent de la túnica.

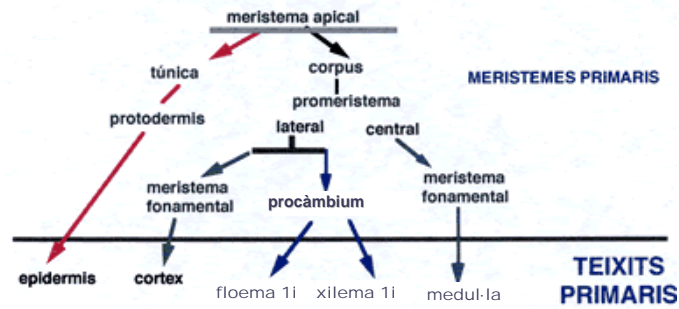
### ***Formació dels histògens i diferenciació dels teixits***

Comença en posició basípeta pels canvis que experimenten les cèl·lules del meristema *flank* en contacte amb el *rib* es cèl·lules que es troben en aquesta posició reben estímuls específics que els provoquen canvis. Les divisions es fan més lentes i el pla de divisió preferent és el periclinal. El resultat és la formació en aquest punt del **PROCÀMBIUM**, que és la capa mare del teixit vascular. També en aquesta zona, les cèl·lules de la capa externa es comencen a distingir de les capes subjacents per formar la **PROTODERMA**, que és la capa mare de l'epidermis. Finalment, les cèl·lules que no són protoderma ni procàmbium esdevenen **MERISTEMA FONAMENTAL**, que és la capa mare dels teixits de farciment (parènquima, col·lènquima i esclerènquima). El meristema fonamental situat externament al procàmbium s'anomena **MERISTEMA FONAMENTAL PERIFÈRIC** i formarà el còrtex, i el que es troba situat internament, **MERISTEMA FONAMENTAL CENTRAL** i formarà la medul·la.



**Figura 3.** Àpex de còleus.

La tija primària està formada per quatre capes concèntriques: l'**epidermis**, amb funció de revestiment, derivada del procàmbium; el **còrtex**, amb el parènquima cortical i els teixits de sosteniment, col·lènquima i esclerènquima, derivat del meristema fonamental cortical; el **cilindre vascular**, amb el xilema i el floema primaris distribuïts en feixos, derivat del procàmbium, i la **medul·la**, formada per parènquima de farciment derivat del meristema fonamental central.



**Figura 4.** Esquema de desenvolupament dels meristemes primaris i els teixits primaris.

### ***Feixos oberts i tancats: formació del càmbium***

A la tija de *dicotiledònia* trobem el còrtex amb parènquima cortical i feixos o anells de col·lènquima i/o esclerènquima; el cilindre vascular formant feixos amb el floema generalment a la cara externa i el xilema a la cara interna, i la medul·la amb parènquima de farciment que es pot trencar i deixar un gran espai buit al centre. Els feixos vasculars no estan envoltats d'esclerènquima (feixos oberts) i transcorren rectes a l'interior de la tija formant un cilindre obert (sifonostela) amb la medul·la al centre. Els punts on els feixos vasculars deixen la tija per entrar a les fulles constitueixen els nusos. El càmbium es forma a l'interior dels feixos vasculars a partir de restes de procàmbium i a l'espai interfascicular per diferenciació del parènquima. El càmbium es divideix per divisions periclinals per formar xilema secundari a la cara interna i floema secundari a la cara externa.

Les *monocotiledònies* es caracteritzen per feixos vasculars revestits d'una beina d'esclerènquima (feixos tancats) que segueixen un recorregut helicoïdal entre nus i nus de la tija. Això fa que els feixos apareguin aparentment dispersos en un tall transversal, sense que es pugui distingir el còrtex de la medul·la.

En finalitzar heu de ser capaços de:

1. Entendre l'organització d'histògens a la tija primària.
2. Entendre els processos de diferenciació i morfogènia de la tija primària.
3. Reconèixer la histologia microscòpica d'una tija de monocotiledònia i dicotiledònia.
4. Entendre el creixement secundari amb la formació del càmbium i/o fel·logen.

### ***3.3.A. Formació de la tija primària d'una dicotiledònia herbàcia***

#### **✓ Material**

**Preparació 7:** secció longitudinal de l'àpex caulinar de còleus (*Coleus sp.*)

Plantes de còleus (*Coleus sp.*)

**Preparació 10:** secció transversal de tija de ranuncle (botó d'or, *Ranunculus sp.*)

## *El meristema apical de còleus*

### ✓ **Observacions**

Observeu la preparació 7 (**microfotografia 3.3.1**), primer a ull nu i després al microscopi a un augment baix, fixant-vos en l'organització general del brot des de l'extrem apical fins a la base. Situeu el meristema a l'extrem apical i situeu a l'altre extrem de la mostra les capes de la tija (epidermis, còrtex, cilindre vascular i medul·la). Noteu les diferències entre les cèl·lules. Observeu la formació progressiva del procàmbium i del protoderma. Observeu els primordis foliars i l'organització de gemmes axil·lars.

*Dibuixeu un esquema general i retoleu-lo adequadament.*

Observeu la regió del promeristema amb detall. Fixeu-vos en l'estructura túnica/corpus i en la diferència de les cèl·lules centrals i perifèriques de la túnica i el corpus. Fixeu-vos en l'orientació de les parets cel·lulars.

*Dibuixeu un esquema detallat de la disposició de la túnica, el corpus i el meristema central i perifèric.*

## *Tija de còleus*

S'obtidran seccions a diferents nivells per observar l'estructura de la tija primària i la transició del creixement primari al secundari. Es treballarà en grups de dues persones.

### ✓ **Procediment**

Per a l'obtenció de talls a mà alçada, seguiu el procediment descrit al requadre *Talls a mà alçada*. Un membre del grup agafarà la mostra de la part més jove, apical, de la tija, i l'altre de la regió basal, més madura. Munteu les seccions amb aigua, observeu-les al microscopi i seleccioneu les que són vàlides per a la tinció. Tenyiu amb blau de toluïdina les quatre que considereu millors, tal com s'explica al requadre *Tinció amb blau de toluïdina*. Intercanvieu les preparacions de manera que tots dos membres del grup pugueu comparar la tija més jove i la més madura.

### **TALLS A MÀ ALÇADA**

Els talls a mà alçada de material fresc són una manera ràpida d'observar una mostra al microscopi sense necessitat d'un procés de fixació i inclusió i microtomia. Els talls a mà alçada són molt útils per a les primeres observacions orientatives i sovint són suficients.

Per obtenir talls prims cal una certa pràctica i tenir present que amb alguns materials és molt difícil. Per observar els talls al microscopi, les seccions han de ser prou fines per deixar passar la llum i han d'estar ben orientades per facilitar la interpretació.

Quan es tallen teixits frescos (no fixats), les cèl·lules de la superfície alliberen el contingut, principalment midó, per la qual cosa cal rentar abundantment abans de muntar la preparació.

#### Material:

Assegureu-vos de tenir a sobre la taula les mostres que voleu tallar i el material següent:

- ✓ portaobjectes i cobreobjectes
- ✓ pot de vidre amb aigua
- ✓ pinzell
- ✓ placa de Petri amb aigua destil·lada
- ✓ fulla d'afaitar nova o alternativament una fulla de bisturí

#### Procediment:

*Per a mostres amb una certa duresa:*



**Figura 5.** Secció d'òrgans amb una certa duresa.

- 1) Mulleu la fulla d'afaitar amb aigua i tallem l'òrgan en l'orientació desitjada.
- 2) Aguanteu fort la mostra prop de la zona on voleu fer els talls mantenint-la entre l'índex i el polze de la mà esquerra (o a la inversa si sou esquerrans).
- 3) Recolzeu els colzes a la taula per mantenir el pols.
- 4) Relaxeu-vos, i feu entre 6 i 10 seccions deixant lliscar la fulla o fent un moviment endavant - endarrere a través de la mostra.
- 5) Amb un pinzell moll recupereu les seccions de la superfície de la fulla i poseu-les en una placa de Petri amb aigua. No deixeu mai que s'assequin.
- 6) Seleccioneu les seccions prou fines per ser observades.
- 7) Repetiu tantes vegades com sigui necessari fins a obtenir bons talls.
- 8) Munteu-les sobre el portaobjectes amb aigua o medi de muntatge.
- 9) Si voleu, tenyiu les preparacions abans de muntar.
- 10)

*Per a mostres més toves:*

- 1) Retalleu un tros d'escuma de poliestirè (*styrofoam*) en forma de piràmide truncada i feu un tall a l'extrem obert per posar-hi la mostra.
- 2) Mantenint la mostra a dins el poliestirè i sense deixar de pressionar amb els dits, submergiu-ho en aigua.
- 3) Amb la fulla d'afaitar molla seguiu els passos descrits anteriorment del 4 al 9.



**Figura 6.** Secció de mostres poc dures.

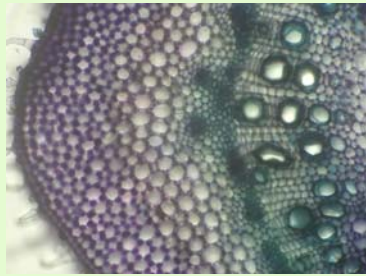
Recomanacions:

- ✂ Assegureu-vos que la fulla d'afaitar i la mostra siguin sempre humides.
- ✂ Manteniu les mostres i els talls sempre en remull en aigua.
- ✂ Per evitar bombolles d'aire en muntar poseu una gota de medi sobre el portaobjectes i després la mostra. Poseu el cobreobjectes amb molta cura, recolzant-lo en un dels costats.



## TINCIÓ AMB BLAU DE TOLUÏDINA

La toluïdina és un bon colorant per a les seccions a mà alçada. Es tracta d'un colorant catiònic que s'uneix als grups carregats negativament i és metacromàtica, és a dir, dóna multicoloració en reaccionar amb determinats components dels teixits. En solució aquosa és de color blau, però quan s'uneix a diferents grups aniónics agafa altres tonalitats. Un color violeta-rosat indica unió amb polisacàrids carboxilats com l'àcid pèctic; un color verdós, verdós-blau o blau indica unió amb substàncies polifenòliques com la lignina o els tanins, i un color violeta o verdós-blau, unió amb àcids nucleics. O'Brien, T. P.; Feder, N.; McCully, M. E. (1964). «Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue O». *Protoplasma* 59: 368-373.



**Figura 7.** Fragment d'una secció de tija de còleus obtinguda a mà alçada i tenyida amb blau de toluïdina.

### Material:

Assegureu-vos de tenir a sobre la taula els talls a mà alçada en remull en aigua destil·lada i el material necessari:

- ✓ blau de toluïdina. Preparat dissolent 50 mg de blau de toluïdina O en 100 mL de tampó citrat 0,1 M pH 4
- ✓ pot de vidre amb aigua per rentar el pinzell
- ✓ pot de vidre amb aigua destil·lada
- ✓ placa de Petri
- ✓ pinzell
- ✓ trossets de paper de filtre
- ✓ portaobjectes i cobreobjectes

### Procediment:

- 1) En una placa de Petri col·loqueu-hi tantes gotes de colorant com seccions voleu tenyir amb una pipeta Pasteur de plàstic.
- 2) Feu el mateix utilitzant la tapa de la placa de Petri, però posant-hi gotes d'aigua destil·lada.
- 3) Recolliu amb un pinzell les seccions fetes a mà alçada i col·loqueu cadascuna d'elles sobre una gota de colorant i deixeu-les-hi 1 minut aproximadament.
- 4) Amb el pinzell transferiu la secció de la gota de colorant a la gota d'aigua.
- 5) Deixeu-ho 1 minut i elimineu l'aigua per capil·laritat utilitzant paper de filtre.
- 6) Col·loqueu sobre cada secció una nova gota d'aigua.
- 7) Amb el pinzell net, col·loqueu les seccions tenyides sobre una gota d'aigua en un portaobjectes, tapeu-ho amb un cobreobjectes i observeu la preparació.

✓ **Observacions**

Observeu l'estructura general de la secció de la part més jove de la tija (**microfotografia 3.3.2**). Identifiqueu l'epidermis, el còrtex, el cilindre vascular i la medul·la. Observeu amb detall l'epidermis i noteu la presència d'estomes i pèls. Observeu amb detall el còrtex i fixeuvos en la distribució del parènquima i els teixits de sosteniment (col·lènquima). Fixeu-vos en les diferències entre les capes més externes i més internes del parènquima. Observeu els feixos vasculars. Observeu la medul·la.

*Dibuixeu un esquema general i d'una porció detallada que mostri els diferents teixits.*

Observeu un feix vascular amb detall. Fixeu-vos en la disposició general i compareu el floema i el xilema. Observeu, si escau, la diferenciació de càmbium.

*Dibuixeu un feix vascular amb detall.*

Repetiu l'observació amb la secció de tija de còleus corresponent a un estat més madur. Compareu amb l'anterior i observeu analogies i diferències. Observeu detalladament el cilindre vascular i els canvis en els feixos.

*Dibuixeu un feix vascular amb detall.*



### Tija de ranuncle\*

\* Aquesta observació només es farà si cal reforçar l'observació anterior.

#### ✓ **Observacions**

Observeu la preparació 10 (**microfotografia 3.3.3**) a un augment baix al microscopi. Situeu l'epidermis, el còrtex amb els teixits de sosteniment (feixos de col·lènquima i/o esclerènquima), el cilindre vascular i la medul·la.

*Dibuixeu la tija i retoleu-ho acuradament.*

### **3.3.B. Diferenciació del càmbium i formació de la tija secundària**

#### ***El càmbium i els seus derivats***

El *càmbium* consisteix en una capa mare de cèl·lules que es divideixen per divisions periclinals per formar xilema secundari cap a l'interior i floema secundari a l'exterior.

El *xilema secundari* conté els elements conductors (traqueïdes i/o vasos), fibres de sosteniment i cèl·lules de parènquima. Estan distribuïts formant dos sistemes: un sistema de transport axial, format pels elements conductors, les fibres i el parènquima axial, i un sistema de transport radial, format pels radis parenquimàtics.

El *floema secundari* conté els elements conductors (cèl·lules o tubs cribrosos), fibres de sosteniment i cèl·lules de parènquima. També estan distribuïts formant un sistema axial amb els elements cribrosos, les cèl·lules de parènquima acompanyant i fibres i esclerides, i un sistema radial amb radis de parènquima que estan en continuïtat amb els del xilema. El floema és un teixit molt delicat i els tubs cribrosos es col·lapsen amb rapidesa per la pressió interna.

#### ***El fel·logen i els seus derivats***

El *fel·logen* és una capa mare, origina el *fel·lema* o súber a l'exterior i la *fel·loderma*, a l'interior. El conjunt de fel·logen, fel·lema i fel·loderma constitueix el *periderma*. El *fel·lema* és un teixit pluriestratificat de cèl·lules mortes amb parets suberificades impermeable a l'aigua i als gasos. Es troba interromput per petits canals o lenticel·les

que faciliten l'intercanvi dels teixits interns amb l'exterior. La fel·loderma consisteix en una o poques capes de parènquima difícil de distingir del còrtex. El primer fel·logen es forma en posició subepidèrmica o cortical, però després d'una o diverses estacions acaba diferenciant-se i mor. Quan això succeeix, és substituït per un nou fel·logen més intern que forma un nou periderma. Una classe especial de periderma es desenvolupa al teixit cicatricial.

✓ **Material**

**Preparació 14:** secció transversal de tija de menta (*Mentha sp.*)

**Preparació 15:** secció transversal de tija de figuera (*Ficus carica*)

✓ **Observacions**

Observeu la preparació 14 (**microfotografia 3.3.4**). Fixeu-vos en els feixos vasculars oberts. Observeu el procàmbium i l'inici de formació de càmbium.

*Feu un dibuix representatiu d'una tija primària de dicotiledònia indicant-hi la zona de formació del càmbium.*

Observeu la preparació 15 (tija de figuera, fase inicial del creixement secundari) (**microfotografia 3.3.5**). Situeu el xilema i floema primari i secundari. Localitzeu el càmbium fascicular i interfascicular. Fixeu-vos en l'anell que conté les inicials del càmbium i les derivades immediates. Observeu la diferenciació dels vasos i tubs cribrosos. Situeu l'epidermis i el còrtex, localitzeu una zona on hagi començat la formació del fel·lema.

*Feu un diagrama del creixement secundari indicant-hi la posició del càmbium i el fel·logen.*

*Feu un dibuix amb detall de la formació dels teixits secundaris derivats del càmbium i del fel·logen.*

### **3.3.C. Tija diferenciada de monocotiledònia**

✓ **Material**

**Preparació 11:** secció transversal de tija de blat de moro (*Zea mays*)

✓ **Procediment**

Observeu a un augment baix la preparació 11 (**microfotografia 3.3.6**) al microscopi. Situeu l'epidermis i els feixos vasculars. Observeu més detalladament un feix vascular. Fixeu-vos en la disposició del floema i el xilema formant un feix tancat.

*Dibuixeu un diagrama general. Indiqueu-hi l'epidermis i els feixos vasculars. Dibuixeu un feix vascular de monocotiledònia amb detall.*

## ***Pràctica 3.4. Diferenciació i morfogènia de l'arrel***

### **Objectius**

Conèixer l'estructura de l'arrel primària. Relacionar l'organització del meristema apical amb l'estructura primària de l'arrel. Conèixer el paper dels teixits suberificats de l'arrel: exoderma i endoderma.

### **Paraules clau**

ARREL PRIMÀRIA; RIZODERMA; CÒRTEX; EXODERMA; ENDODERMA; CILINDRE VASCULAR; MERISTEMA APICAL DE L'ARREL; DIFERENCIACIÓ; CALIPTRA

L'arrel és l'òrgan d'absorció i ancoratge. El meristema apical de l'arrel (MAR) es troba en posició subapical protegit per la caliptra, un didal de cèl·lules mucilaginoses amb funció lubricant. No forma primordis a l'exterior, els primordis es formen internament i les arrels secundàries surten allunyades de l'àpex.

### ***Regió apical (promeristema)***

A l'arrel, les cèl·lules mare totipotents formen derivades en direcció basípeta i acròpeta. Les primeres donen lloc a la caliptra, que és un òrgan transitori, les segones formen el cos de l'arrel primària.

Les cèl·lules del meristema s'organitzen en una població de cèl·lules mare quiescents, el centre quiescent, al voltant del qual es disposen les derivades immediates. En posició apical es troben les derivades de la caliptra que formaran la caliptra. En posició basal es troben les derivades que formaran l'arrel, les quals estan distribuïdes en dues poblacions concèntriques, les derivades del cilindre cortical (més petites) i les derivades del cilindre central (més grosses). El centre quiescent no es detecta morfològicament, sinó que es necessiten tècniques de marcatge d'àcids nucleics per identificar les cèl·lules en mitosi que l'envolten.

### ***La caliptra i la columel·la***

Les cèl·lules inicials de la caliptra formen una capa histogènica (caliptrogen) que dona lloc al teixit de la caliptra. En algunes arrels, com el blat de moro, aquesta capa inicial queda ben delimitada del meristema (arrels de pol tancat), però en altres casos el límit és poc definit (arrels de pol obert). Sovint s'observen transicions de pol tancat a pol obert que es relacionen amb canvis de fase de repòs i activitat. La caliptra es divideix en dues parts, la part central o columel·la, formada per 4-6 columnes de cèl·lules arrencades que presenten uns grans de midó molt evidents, i la part perifèrica. Les cèl·lules de la columel·la són l'òrgan sensor de la gravetat responsables del gravitropisme positiu de l'arrel. Perceben la gravetat per la pressió dels grans de midó sobre receptors de pressió distribuïts a la membrana plasmàtica.

### ***Formació dels histògens i estructura de l'arrel primària***

El meristema de l'arrel forma dues capes concèntriques d'inicials que donaran lloc al *cilindre central* i al *cilindre cortical*. Per sobre d'aquesta zona en direcció basípeta comença la diferenciació dels histògens. Les cèl·lules del cilindre central formen el *procàmbium*, que dóna lloc al xilema i floema primaris, les cèl·lules del cilindre cortical formen el *meristema fonamental*, que dóna lloc al parènquima cortical de l'arrel. El *protoderma* es forma de la capa més externa del cilindre cortical o de la capa més interna de la caliptra, segons l'arrel.

### ***L'estructura primària de l'arrel***

L'estructura primària de l'arrel queda formada per tres capes, que de fora a dintre són:

L'epidermis o rizoderma és una capa gairebé no cutinitzada, amb cèl·lules ordinàries i pèls absorbents. Sotmesa a un gran desgast, les cèl·lules moren aviat.

El còrtex està molt desenvolupat i està format per parènquima amilaci. Excepte en algunes arrels molt especialitzades, no presenta teixits de sosteniment. La capa més externa del còrtex, *exoderma*, se suberitza per substituir l'epidermis quan aquesta mor. La capa més interna en contacte amb el cilindre central, *endoderma*, també se suberitza i fa de barrera interna per a l'aigua i sals que circulen pel cilindre central. El dipòsit de suberina comença per una petita banda contínua a les parets transversals i radials, la *banda de Caspary*, però la suberificació (i/o lignificació) s'estén a les altres parets a mesura que maduren. Algunes cèl·lules de l'endoderma, anomenades *cèl·lules de pas*, no dipositen banda de Caspary ni suberina a les parets.

El cilindre central o cilindre vascular presenta un feix únic (estela compacta) amb el floema i xilema distribuïts en pols alterns. En general, el nombre de pols varia de dos (arrels diarques) a cinc (arrels pentarques) en dicotiledònies, i de set o més (arrels poliarques) en monocotiledònies. Les capes més externes es mantenen diferenciades formant el que s'anomena *pericicle*. El pericicle dóna lloc a les arrels secundàries.

### ***L'arrel primària de dico i monocotiledònies***

L'estructura de l'arrel primària és la mateixa a dicotiledònies i monocotiledònies, però les darreres es caracteritzen per tenir arrels poliarques. En aquestes arrels monocotiledònies, la part central del cilindre queda ocupada per cèl·lules parenquimàtiques derivades del procàmbium que formen una falsa medul·la. Es caracteritzen també per un endoderma conspicu amb les parets que dipositen suberina i lignina. Cal tenir present que les arrels primàries són molt fines i molt difícils de manipular. La majoria d'arrels que s'observen al microscopi són arrels seminals (la primera arrel que es forma a la germinació) de plantes cultivades (les més estudiades són la ceba i el blat de moro), més gruixudes i, per tant, fàcils de manipular.

En finalitzar heu de ser capaços de:

1. Entendre el desenvolupament primari de l'arrel.
2. Conèixer l'organització histològica de l'arrel de mono i dicotiledònia.
3. Relacionar l'organització dels teixits amb la funció de l'arrel.

### 3.4.A. Observació de l'arrel de dicotiledònia

#### ✓ Material

**Preparació 12:** secció transversal d'arrel de botó d'or (*Ranunculus sp.*).

#### ✓ Observacions

Observeu la preparació 12 (**microfotografia 3.4.1.**) al microscopi. Situeu l'epidermis, el còrtex i el cilindre vascular amb els pols de xilema i floema. Observeu detalladament l'epidermis, l'exoderma, el parènquima cortical, l'endoderma i el cilindre vascular central. Fixeu-vos en les cèl·lules de l'endoderma i la presència de cèl·lules de pas.

***Dibuixeu** un esquema representatiu de l'arrel de dicotiledònia, indicant-hi el còrtex, l'endoderma, un pol de xilema i un pol de floema.*

***Dibuixeu** un detall del cilindre vascular central mostrant la distribució de teixits i capes. Feu un detall de la part perifèrica amb l'exoderma.*

### 3.4.B. Observació de l'arrel de monocotiledònia

#### ✓ **Material**

Plantes de blat de moro (*Zea mays*)

**Preparació 13:** secció transversal d'arrel de blat de moro (*Zea mays*).

#### ✓ **Procediment**

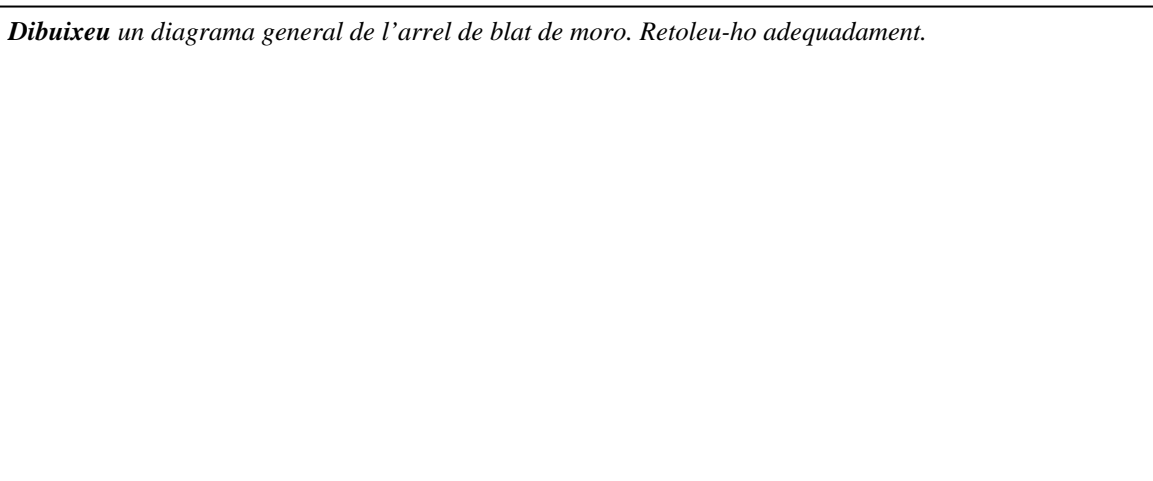
Procurant no tallar-vos, feu talls a mà alçada (requadre *Talls a mà alçada*) de l'arrel de blat de moro intentant orientar-los ben transversals. Munteu les seccions amb aigua i observeu-ho al microscopi per seleccionar aquelles seccions adequades per a la tinció.

Seleccioneu quatre seccions i tenyiu-les amb blau de toluïdina (requadre *Tinció amb blau de toluïdina*). Recordeu que el blau és un colorant metacromàtic que permet diferenciar components dels teixits.

#### ✓ **Observacions**

Observeu l'arrel de blat de moro tenyida amb blau de toluïdina o alternativament la preparació 13 (**microfotografia 3.4.2. i 3.4.3.**). Distingiu el còrtex del cilindre vascular. Per què sembla tan ben delimitat? Observeu el cilindre vascular, els pols de xilema i floema i l'espai medul·lar. Compteu els pols de xilema i floema.

**Dibuixeu** un diagrama general de l'arrel de blat de moro. Retoleu-ho adequadament.



## ***Pràctica 3.5. Histoquímica***

### **Objectius**

Treballar la detecció proteica i enzimàtica sobre teixits vegetals i adonar-se de la importància de conèixer la histologia per interpretar els resultats. Conèixer les bases de la histoquímica i la immunohistoquímica. Practicar l'obtenció d'empremtes tissulars en membranes de nitrocel·lulosa.

### **Paraules clau**

IMPRESSIÓ EN MEMBRANA DE NITROCEL·LULOSA;  
IMMUNOLocalització; ANTICÒS PRIMARI; ANTICÒS SECUNDARI;  
RUBISCO, PEROXIDASA

La histologia és una eina auxiliar per a altres ciències com la fisiologia o la biologia molecular. Les tècniques histoquímiques i immunohistoquímiques permeten localitzar determinats compostos a les cèl·lules i teixits i són útils per comprovar l'activitat enzimàtica o la presència de proteïnes en teixits concrets i en processos de diferenciació.

En aquesta pràctica es proposa desenvolupar dues tècniques: la immunodetecció de la proteïna Rubisco i la detecció de la peroxidasa endògena en empremtes de tija de còleus i pecíol d'api.

En finalitzar heu de ser capaços de:

1. Entendre com funciona el mètode immunohistoquímic i histoquímic.
2. Relacionar la presència de Rubisco i peroxidasa en determinats teixits amb la seva funció.
3. Avaluar el mètode d'anàlisi i dissenyar estratègies per millorar-lo.

### ***3.5.A. Immunolocalització de la proteïna rubisco***

La Rubisco (ribulosa-1,5-bifosfat-carboxilasa) és la proteïna més abundant del cloroplast, representa més del 50% de les proteïnes de la fulla i és probablement la proteïna més abundant de la biosfera. En el cicle de Calvin s'encarrega de fixar el diòxid de carboni (CO<sub>2</sub>) sobre un acceptor de cinc carbonis (ribulosa-1,5-bifosfat).

La immunolocalització es basa a localitzar la proteïna d'interès amb un anticòs contra aquesta proteïna (anticòs primari) que al seu torn és reconegut per un segon anticòs marcat (anticòs secundari) que es detecta per una reacció o per fluorescència. En el nostre cas, l'anticòs primari és un anticòs anti-Rubisco i l'anticòs secundari porta conjugada una fosfatasa alcalina que hidrolitza grups fosfat. En presència dels substrats



NBT i BCIP, la hidròlisi genera un producte cromogènic blau que permet visualitzar la reacció.

✓ **Material**

Tiges de còleus (*Coleus sp.*)

Pecíols d'api (*Apium graveolens*)

✓ **Procediment**

Seguiu el procediment descrit a l'apartat Empremta de teixits en membranes de nitrocel·lulosa per obtenir membranes amb la impressió tissular de la tija de còleus i/o el pecíol d'api. A continuació tracteu les membranes com s'explica a l'apartat Immunodetecció de Rubisco per localitzar aquesta proteïna sobre el teixit.

✓ **Observació**

Observeu la membrana després de la immunolocalització de la Rubisco sota la lupa. Identifiqueu els teixits marcats i relacioneu la presència de Rubisco amb la funció del teixit.

*Amb l'ajuda d'un esquema **mostreu** en quins teixits es detecta la presència de Rubisco. Expliqueu per què es localitza en aquests teixits.*

## **EMPREMTA DE TEIXITS EN MEMBRANES DE NITROCEL·LULOSA**

### Material:

- ✓ pinces
- ✓ bisturí o ganiveta
- ✓ membrana de nitrocel·lulosa Protran
- ✓ paper Whatman núm. 1

### Procediment:

- 1) Col·loqueu la membrana de nitrocel·lulosa sobre sis capes de paper Whatman núm. 1.
- 2) Amb la ganiveta tal·leu una secció de la mostra fresca aproximadament de 0,5 cm de gruix.
- 3) Col·loqueu la superfície tallada sobre la membrana de nitrocel·lulosa i, aplicant-hi força de manera constant i homogènia, però vigilant de no aixafar el teixit, imprimeu-la durant 15-20 segons.
- 4) Identifiqueu la impressió amb llapis en un extrem i deixeu-la assecar a l'aire (24 hores és suficient).

## **IMMUNODETECCIÓ DE RUBISCO**

### Material:

- ✓ guants
- ✓ tampó de rentat 1 (0,1 M Tris-HCl pH 8 + 0,05% azida sòdica + 0,3% Tween 20)
- ✓ tampó de bloqueig (0,1 M Tris-HCl pH 8 + 0,05% azida sòdica + 0,3% Tween 20 + 0,25% albúmina de sèrum boví + 0,25% gelatina)
- ✓ anticòs policlonal anti-Rubisco de conill
- ✓ anticòs de cabra contra la part constant de l'anticòs del conill que porta conjugada la fosfatasa alcalina
- ✓ tampó de rentat 2 (0,1 M Tris-HCl pH 8 + 0,05% azida sòdica + 0,3% Tween 20 + 0,05% SDS)
- ✓ tampó fosfatasa alcalina (0,1 M Tris-HCl pH 9,5 + 0,1 M NaCl + 5 mM MgCl<sub>2</sub>)
- ✓ tampó de rentat 3 (10 mM Tris-HCl pH 8 + 1 mM EDTA)
- ✓ solució 50mg ml<sup>-1</sup> de BCIP (5-brom-4-clor-3-indolil fosfat *p*-toluïdina sal) en dimetilformamida
- ✓ solució 50 mg ml<sup>-1</sup> de NBT (nitroblau de tetrazole clorur) en 70% de dimetilformamida

Procediment:

- 1) Renteu la membrana amb el tampó de rentat 1 durant 5 minuts.
- 2) Incubeu amb tampó de bloqueig durant 10 minuts.
- 3) Incubeu la membrana amb l'anticòs anti-Rubisco (diluït 1:1800 en tampó de bloqueig) durant 1 hora i en un agitador.
- 4) Renteu 4 vegades la membrana amb el tampó de rentat 1 durant 1 minut.
- 5) Incubeu amb l'anticòs secundari (1:1000 en tampó de bloqueig) durant 30 minuts en un agitador.
- 6) Renteu la membrana amb el tampó de rentat 1 durant 1 minut.
- 7) Renteu la membrana amb el tampó de rentat 2 durant 1 minut dues vegades.
- 8) Renteu un altre cop la membrana amb el tampó de rentat 1 durant 1 minut.
- 9) Equilibreu la membrana durant 1 minut en tampó fosfatasa alcalina.
- 10) Afegiu els substrats NBT i BCIP en tampó de fosfatasa alcalina (en 20 ml de tampó fosfatasa alcalina poseu 132 µl de NBT i 66 µl de BCIP). Apareixerà precipitat blau-violeta allà on es troba la proteïna d'interès (Rubisco).
- 11) Atureu la reacció quan convingui rentant amb el tampó de rentat 3 durant 5 minuts i seguidament amb aigua destil·lada durant 5 minuts.
- 12) Observeu els resultats sota la lupa.

**Alerta! Treballeu sempre amb guants i tingueu la precaució de manipular adequadament i llençar els residus al contenidor apropiat.**

El **Tris-HCl** s'ha de recollir en contenidors.

L'**azida sòdica** és tòxica i perillosa per al medi ambient.

La **dimetilformamida** és un dissolvent orgànic molt tòxic.

**NBT** i **BCIP** són cancerígens.

### **3.5.B. Detecció de la peroxidasa endògena**

✓ **Material**

Tiges de còleus (*Coleus sp.*)

Pecíols d'api (*Apium graveolens*)

✓ **Procediment**

Seguiu el procediment descrit a l'apartat *Empremta de teixits en membranes de nitrocel·lulosa* per obtenir membranes amb la impressió dels teixits de la tija de còleus i/o el pecíol d'api. Tracteu les membranes com s'explica a l'apartat *Detecció de l'activitat peroxidasa endògena*.

### **DETECCIÓ DE L'ACTIVITAT PEROXIDASA ENDÒGENA**

Les peroxidases de paret (apoplàstiques) s'han relacionat amb la polimerització de compostos aromàtics com la lignina i la suberina. També hi ha peroxidases citosòliques importants per a l'eliminació d'espècies reactives de l'oxigen (ROS).

#### Material:

- ✓ pinces
- ✓ capsetes petites de plàstic
- ✓ membrana en la qual s'ha «imprès» el teixit
- ✓ guants
- ✓ diaminobenzidina (DAB) (−20°C)
- ✓ tampó DAB (4°C)
- ✓ tampó PBS 10X

#### Procediment

- 1) Incubeu les membranes amb l'empremta tissular durant 5 minuts amb PBS 1X a temperatura ambient.
- 2) Reveleu l'activitat peroxidasa endògena amb la solució fresca de tampó DAB:DAB 9:1 (v/v) durant 1-15 minuts.
- 3) Atureu la reacció amb aigua destil·lada o PBS 1X.

**Alerta! Treballeu sempre amb guants i tingueu la precaució de manipular adequadament i llençar els residus al contenidor apropiat.**

El **DAB** és cancerigen per contacte amb la pell.

#### ✓ **Observació**

Observeu la membrana amb l'empremta dels teixits on heu detectat la presència de peroxidasa endògena. Identifiqueu els diferents teixits i relacioneu la seva funció amb la presència de peroxidasa.

*Amb l'ajuda d'un esquema **mostreu** en quins teixits es detecta la presència de peroxidasa i relacioneu-ho amb la seva funció.*

## ***Pràctica 3.6. Modificacions de les fulles per adaptar-se a l'ambient***

### **Objectius**

Entendre la relació entre estructura (organització histològica) i funció. Entendre les adaptacions de les fulles per optimitzar la funció en els diferents hàbitats.

### **Paraules clau**

ADAPTACIONS; FULLA MESOFÍTICA; FULLA XEROFÍTICA; FULLA HIDROFÍTICA; HIPODERMA; PARÈNQUIMA AERÍFER

La fulla és l'òrgan fotosintètic i la seva estructura és l'adequada per dur a terme aquesta funció en condicions òptimes. Les condicions, però, varien en els diferents hàbitats, i l'estructura histològica es modifica a través del procés evolutiu i del desenvolupament per adaptar-se a aquestes condicions.

Pel fet de formar part d'una mateixa línia filogenètica, totes les fulles de dicotiledònia tenen feixos oberts i col·lènquima i esclerènquima, mentre que les monocotiledònies tenen feixos tancats i no tenen col·lènquima. Les fulles es modifiquen per optimitzar la funció en els diferents hàbitats. Pel fet de compartir un determinat hàbitat, totes les fulles presenten un mateix tipus d'adaptacions.

*Fulles mesofítiques.* Es troben en un ambient mesòfil (aigua relativament abundant). Són típicament isolaterals, grosses i toves (molts espais intercel·lulars). L'epidermis està poc cutinitzada, les cèl·lules de l'epidermis tenen cloroplasts i els estomes són abundants. Solen ser caduques.

*Fulles xerofítiques.* Es troben en un ambient xeròfil (aigua poc abundant). Les fulles tendeixen a ser petites i dures (esclerofil·les), típicament bifacials (zigostòmiques). Solen ser perennes. La cutícula està molt desenvolupada, el mesofil·le és més compacte, amb menys espais aeris, i els estomes són menys nombrosos, per sota l'epidermis sovint hi ha un hipoderma format per cèl·lules de col·lènquima o esclerificades, que reforça la làmina foliar. Les fulles suculentes (cactus) són un tipus diferent d'adaptació als ambients xeròfils, que consisteix en un gran nombre de cèl·lules que emmagatzemen aigua.

*Fulles hidrofítiques.* Són pròpies d'ambients hidròfils. Són fulles de plantes que suren, com les del nenúfar, o que viuen submergides. Tenen els estomes únicament a la cara adaxial, perquè l'abaxial està en contacte amb l'aigua i l'aerènquima es troba fortament desenvolupat.

*Fulles de sol i d'ombra.* Les adaptacions també es produeixen durant el desenvolupament. Per exemple, dintre de la mateixa planta, les fulles de sol i d'ombra són una mica diferents. Les fulles de sol són més cutinitzades, tenen les capes de parènquima més nombroses i amb les cèl·lules més denses. Les fulles d'ombra són més primes i menys cutinitzades.

En finalitzar heu de ser capaços de:

1. Conèixer les adaptacions principals de les fulles.
2. Relacionar l'organització tissular de les fulles amb les característiques pròpies de l'hàbitat.

✓ **Material**

**Preparació 21:** secció transversal de fulla de perera (*Pyrus communis*). Mesofítica

**Preparació 4:** secció transversal de fulla de baladre (*Nerium oleander*). Xerofítica

**Preparació 5:** secció transversal de fulla de nenúfar (*Nymphaea alba*). Hidrofítica

**Preparació 25:** seccions transversals de fulles d'alzina surera (*Quercus suber*). Fulla de sol i d'ombra

✓ **Observacions**

Observeu les preparacions 21, 4 i 5 (**microfotografia 3.6.1.**). En cadascuna observeu les característiques de la fulla: l'epidermis (gruix de la cutícula, nombre i disposició d'estomes i pèls...), el mesofil·le (tipus de parènquima, presència o no d'hipoderma, d'aerènquima...), les nervacions (vasos, teixits de sosteniment...). Relacioneu les observacions amb l'adaptació a ambient mesòfil, xeròfil i hidròfil.

**Dibuixeu** l'estructura microscòpica d'una fulla mesofítica, xerofítica i hidrofítica.

Observeu la preparació 25 (**microfotografia 3.6.2.**). Observeu les característiques d'una fulla de sol i una fulla d'ombra, fixeu-vos especialment en l'epidermis i la compactació del mesofil·le.

***Dibuixeu** l'estructura microscòpica d'una fulla de sol i una d'ombra marcant-hi les característiques diferencials.*

## ***Bibliografia bàsica***

Esau, K. (1985). *Anatomía vegetal*. 3a ed. revisada y puesta al día. Barcelona: Omega.

Evert, R. F. (2006). *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function and development*. 3th ed. Hoboken, N. J.: John Wiley & Sons.

Ma, Z.; Cooper, C.; Kim, H-J; Janick-Buckner, D. (2009) «A Study of Rubisco through Western Blotting and Tissue Printing Techniques». *CBE—Life Sciences Education*, 8: 140–146.

Molinas, Marisa (2007). *Histologia Vegetal. Guia Didàctica*. <http://histologia.24ixs.net>.

Paniagua, R. (2007). *Citología e histología vegetal y animal*. 3a ed. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana.

Peterson, R. L.; Peterson, C. A.; Melville, L. H. (2008). *Teaching plant anatomy through creative laboratory exercises*. Ottawa: NRC Press: National Research Council of Canada.

Taiz, L.; Zeiger, E. (2006). *Plant physiology*. 4th ed. Sunderland: Sinauer Associates.

### ***Atles d'histologia vegetal per consultar en línia***

Atlas of plant anatomy (Kraus and Pinasecchi):

<http://atlasveg.ib.usp.br/English/index.html>

Photographic atlas of plant anatomy (Curtis et al.): <http://botweb.uwsp.edu/anatomy/>

The virtual plant: <http://virtualplant.ru.ac.za/Main/ANATOMY/VP-Intro.htm>

Atlas of Plant Anatomy (P. Schulte):

<http://sols.unlv.edu/Schulte/Anatomy/Anatomy.html>

Plant anatomy (Mauseth): <http://www.sbs.utexas.edu/mauseth/weblab/>



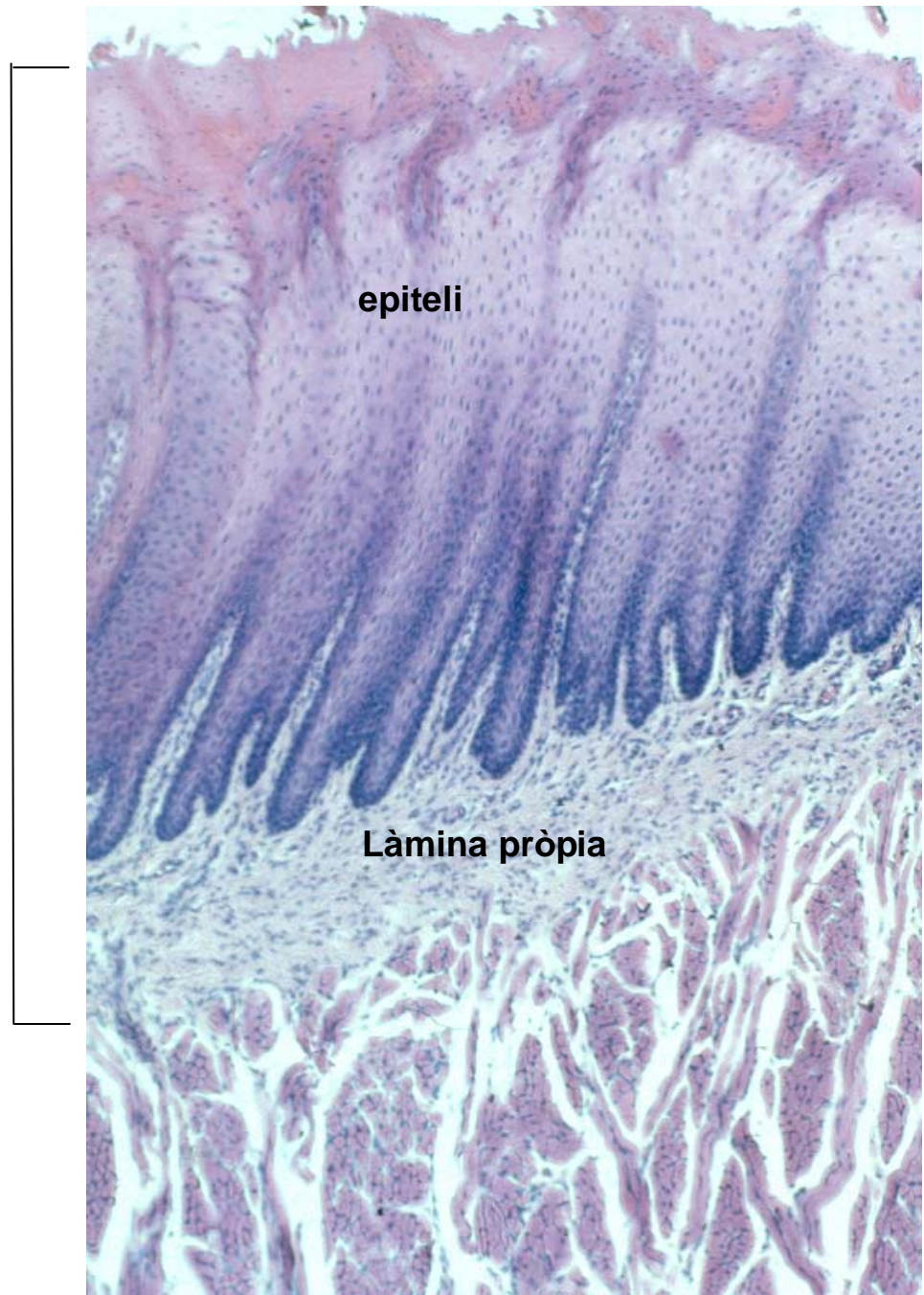
# Col·lecció de microfotografies de citologia i histologia animal

*Diagnòstic histològic animal i vegetal. ISBN 978-84-8458-396-7. UdG.*



**Figura 2.1.1. Visió general a baix augment d'una secció longitudinal de llengua (H/E).**

**mucosa**

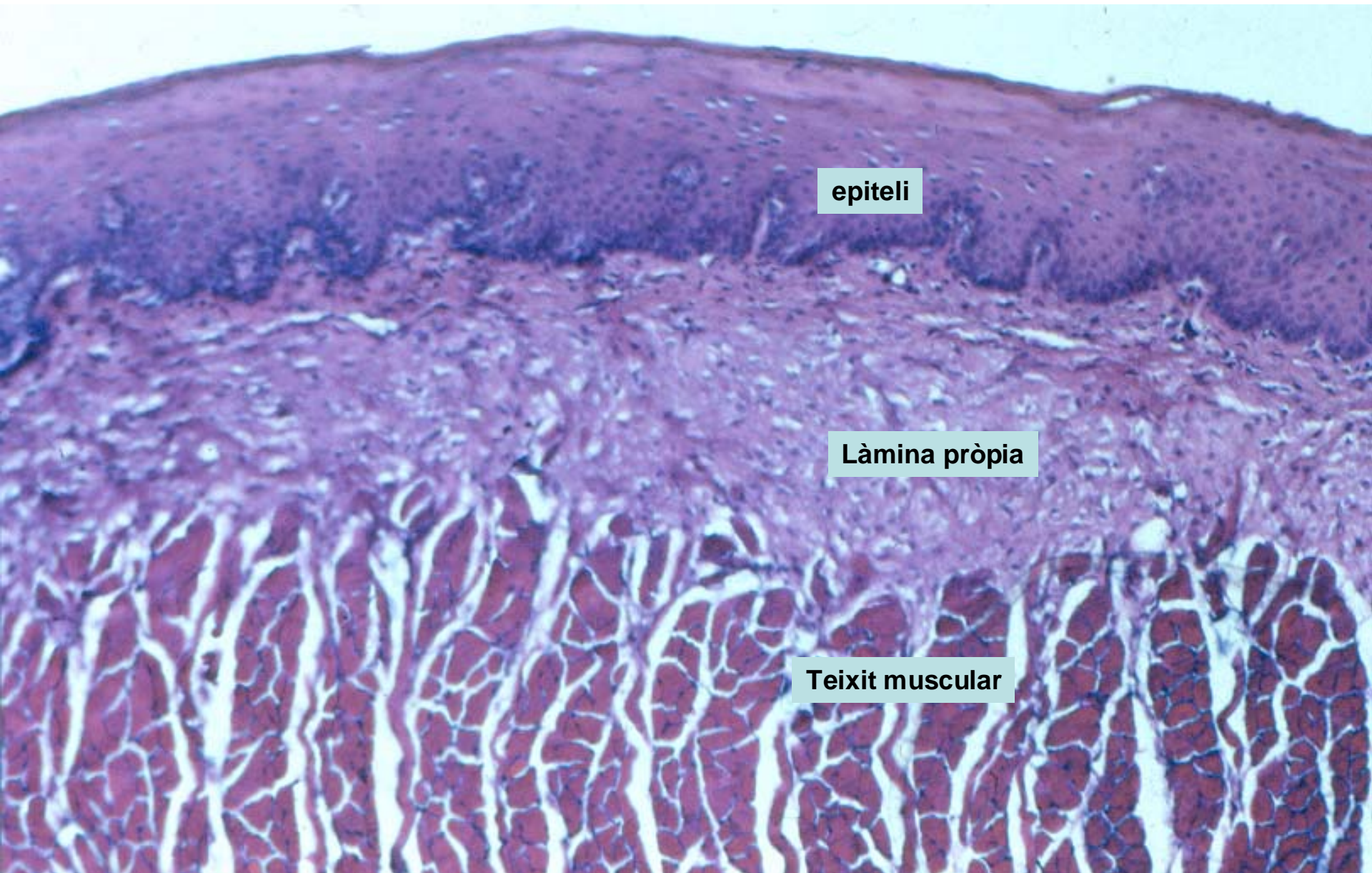


**epiteli**

**Làmina pròpia**

**Figura 2.1.2. Mucosa de la part dorsal de la llengua. Secció de llengua (H/E).**





**Figura 2.1.3. Mucosa de la part ventral de la llengua. Secció de llengua (H/E).**



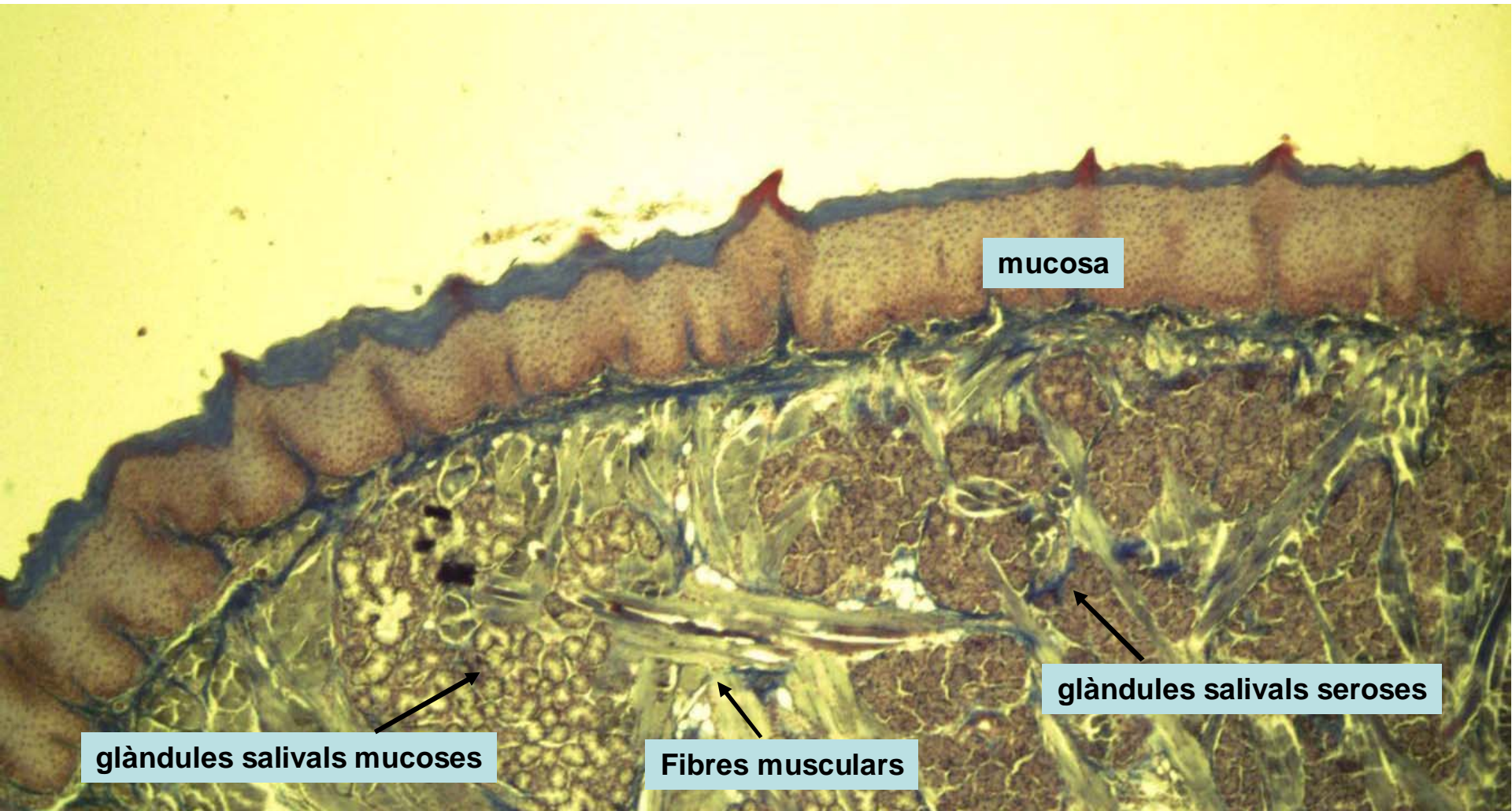
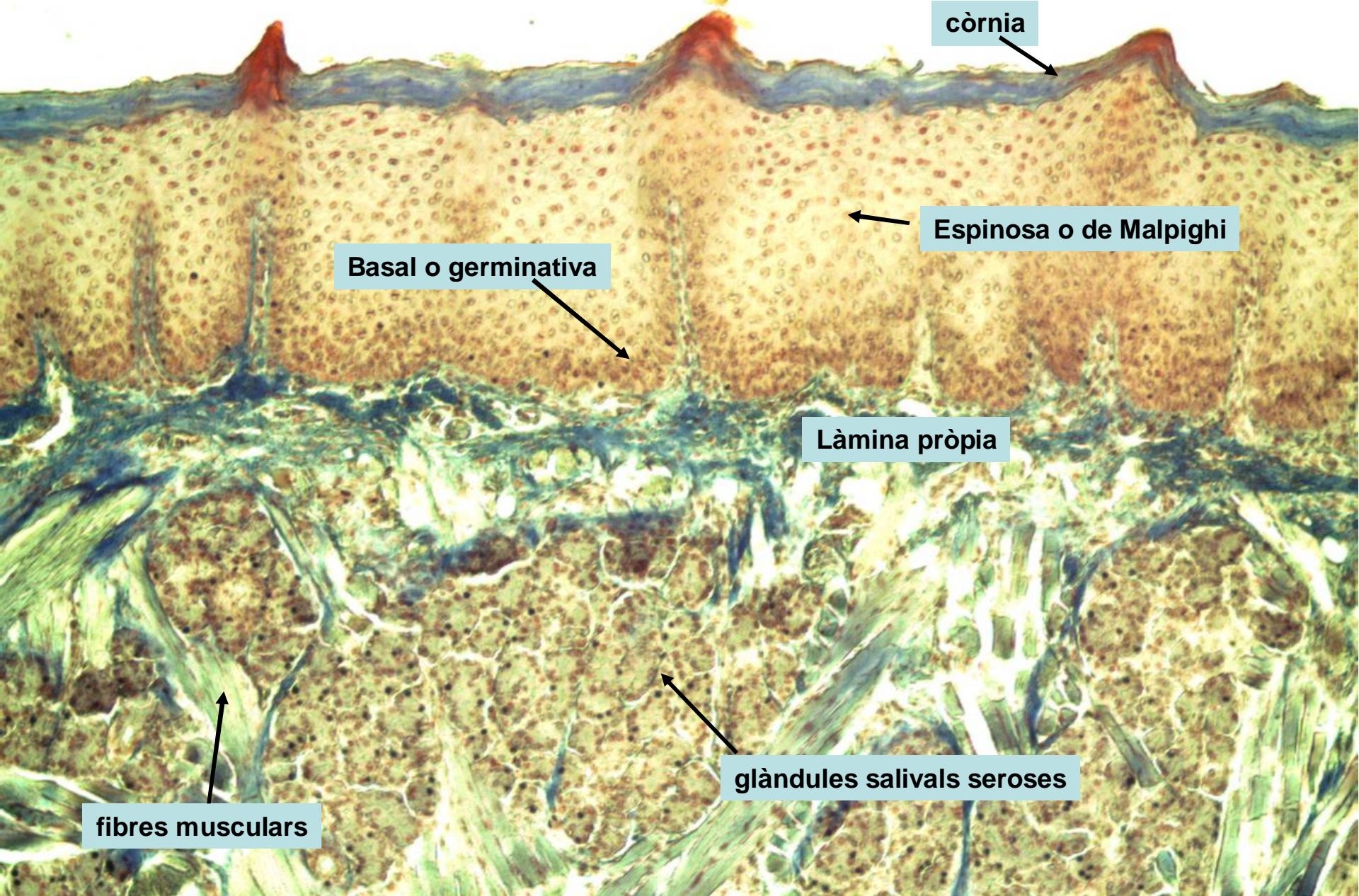


Figura 2.1.4. Secció longitudinal de llengua (coloració tricròmica).





còrnia

Espinosa o de Malpighi

Basal o germinativa

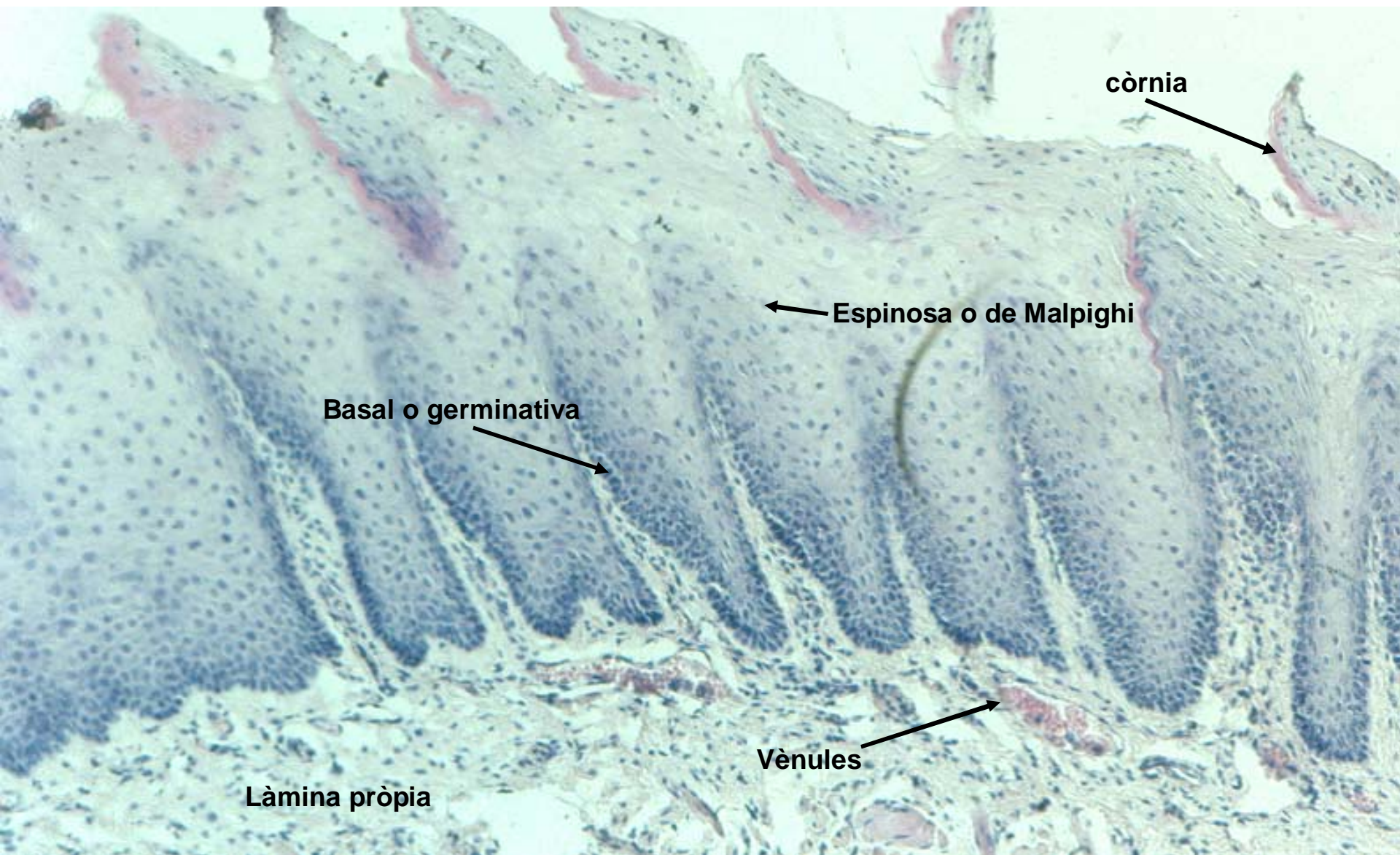
Làmina pròpia

glàndules salivals seroses

fibres musculars

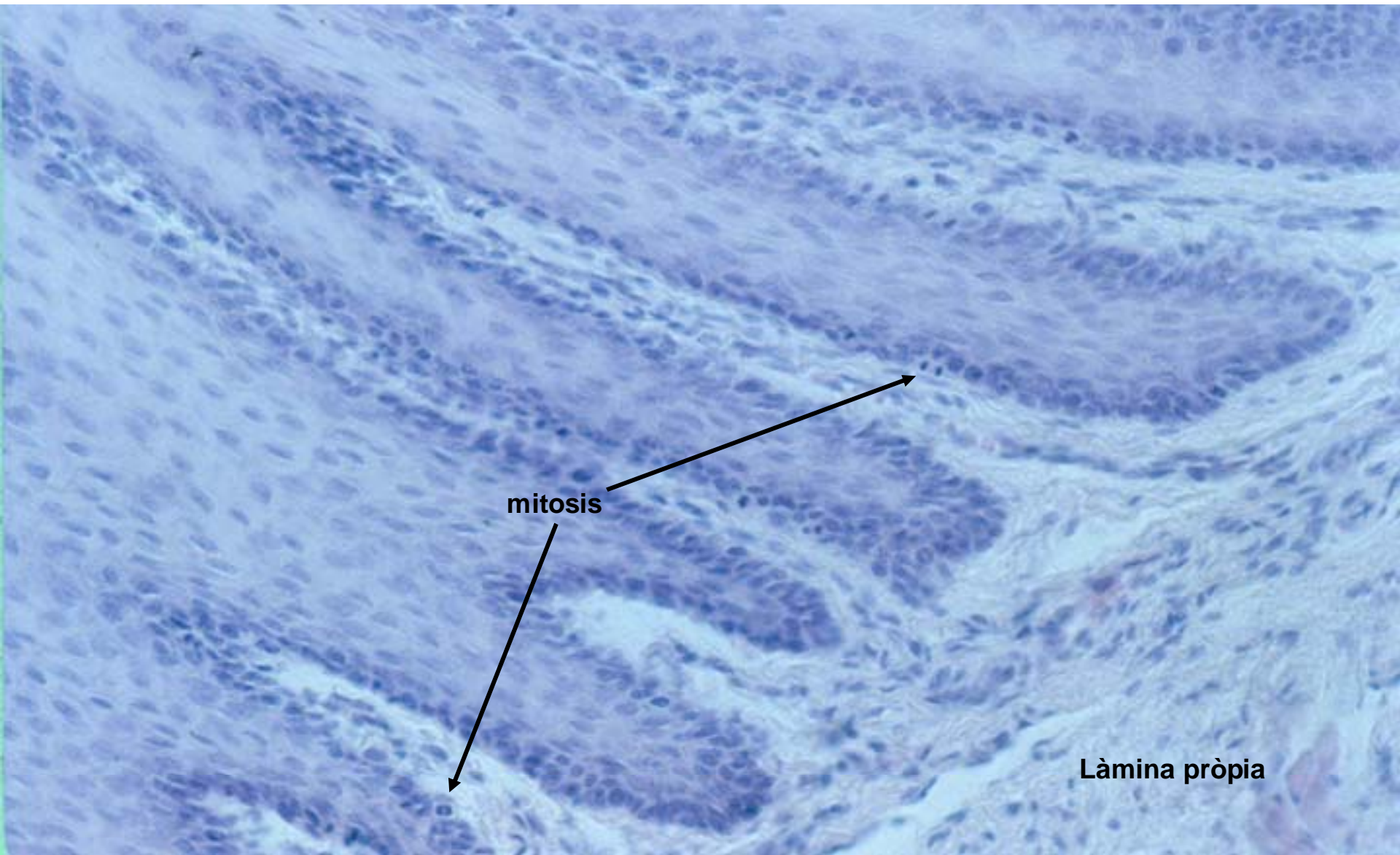
Figura 2.1.5. Part dorsal de la llengua. Es poden distingir les diferents capes de l'epiteli. Al parènquima subjacent es poden apreciar fibres musculars i glàndules salivals seroses (coloració tricròmica).





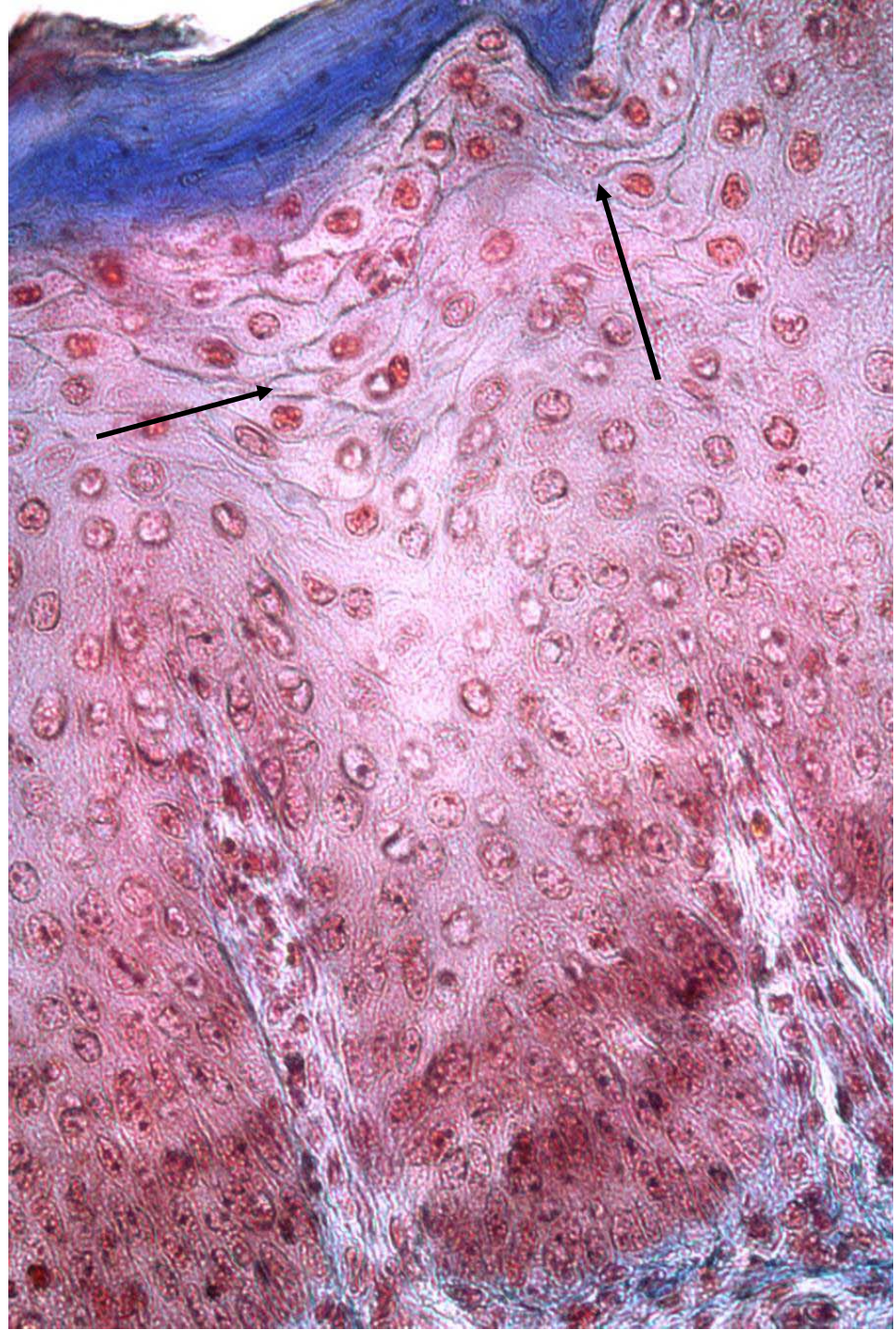
**Figura 2.1.6. Mucosa de la part dorsal de la llengua. Es poden distingir les diferents capes de l'epiteli. A la làmina pròpia es poden apreciar elements de la microvasculatura (H/E).**





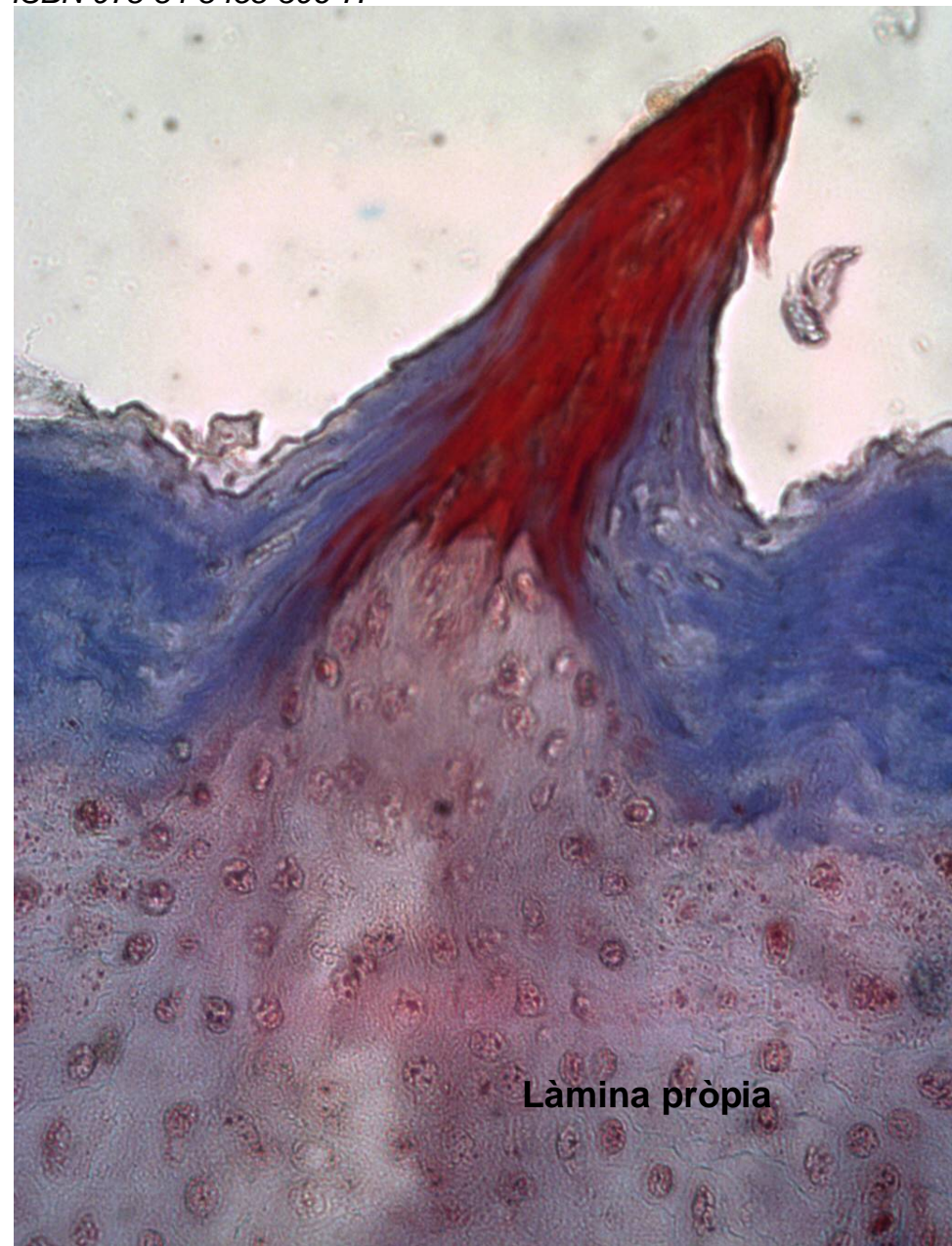
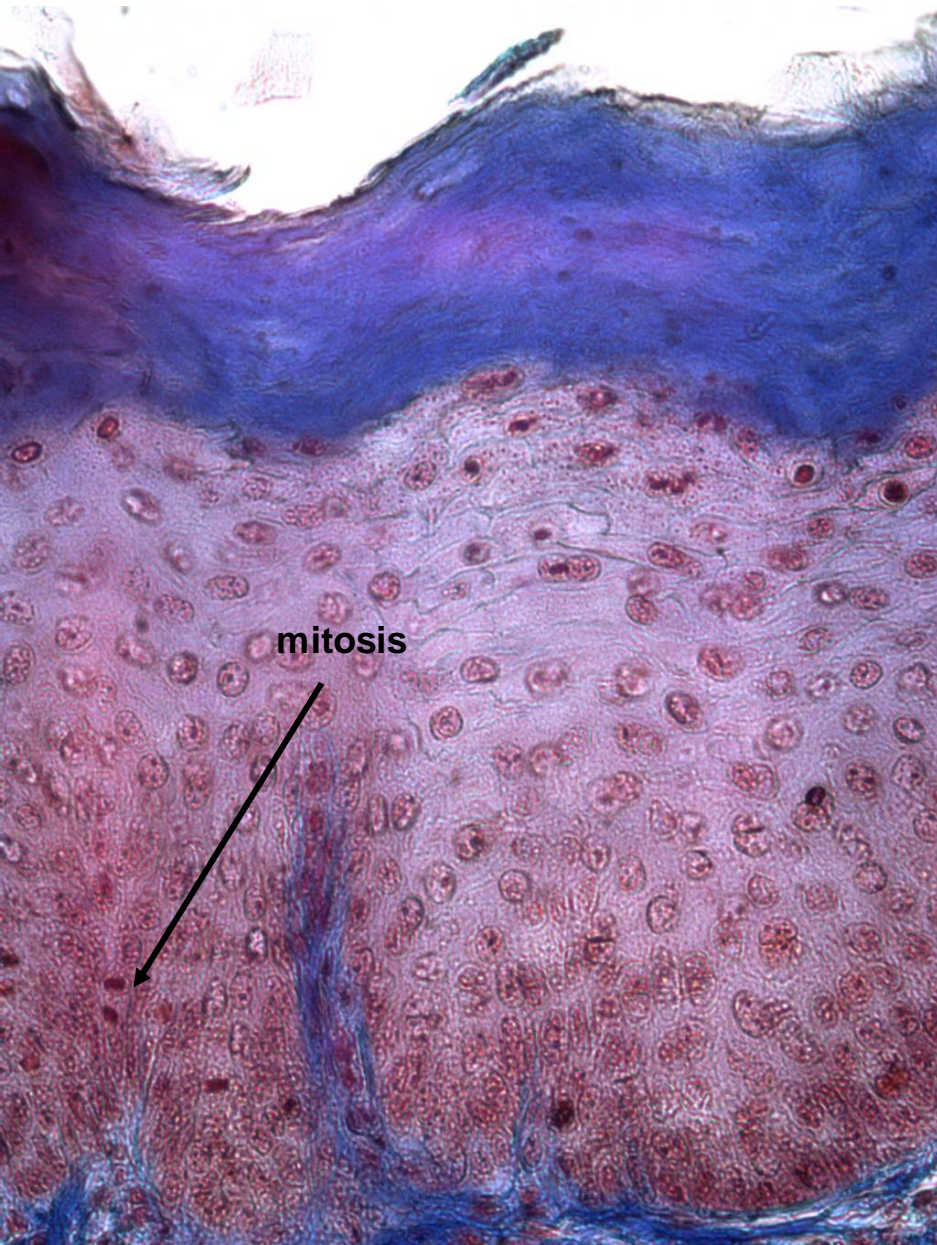
**Figura 2.1.7. A la capa germinativa de l'epiteli de la llengua es poden distingir diversos nuclis en mitosi (H/E).**





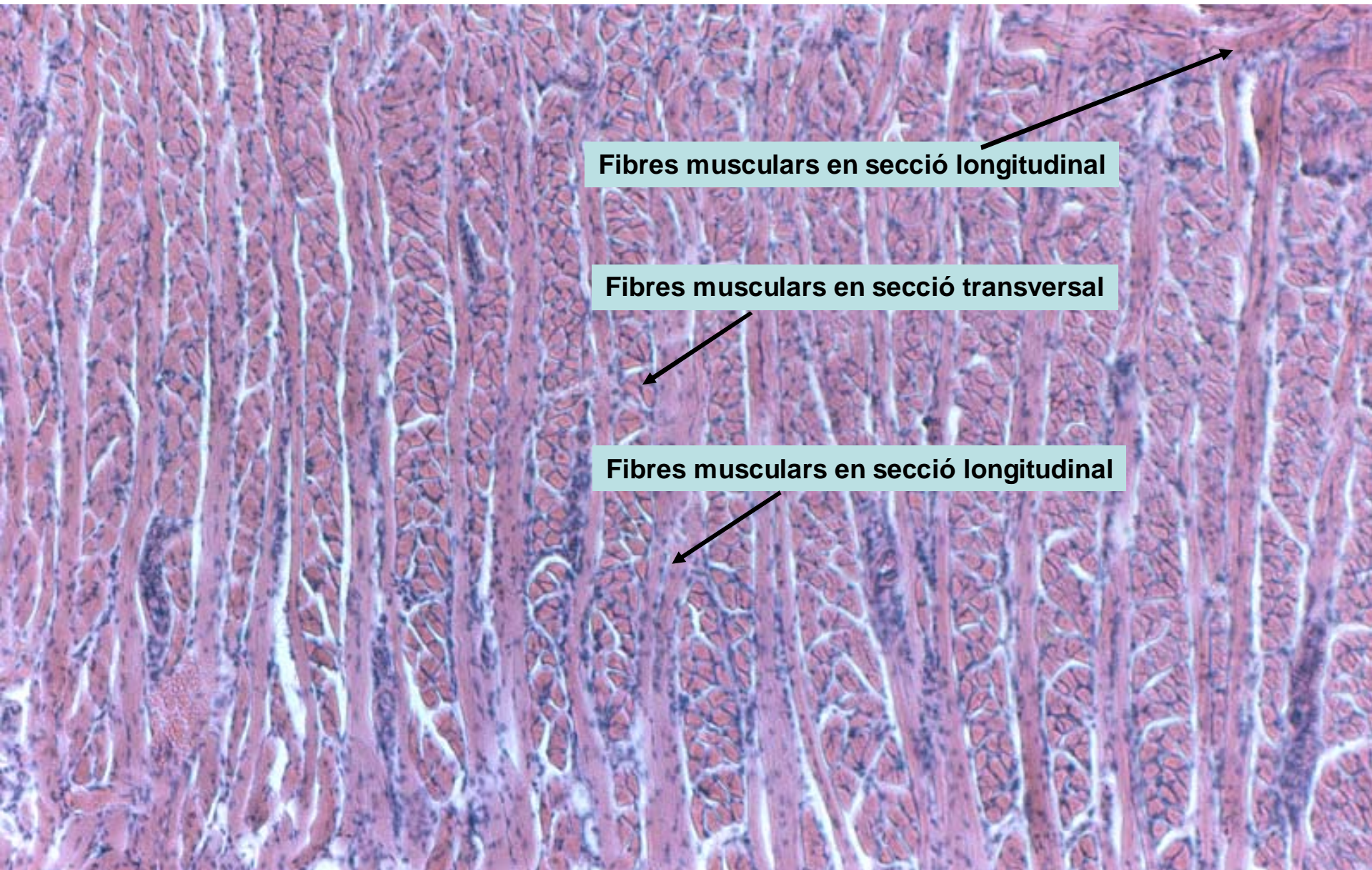
**Figura 2.1.8.** A la capa espinosa de l'epiteli de la llengua es poden distingir bé els límits entre les cèl·lules adjacents (fletxes) (coloració tricròmica).





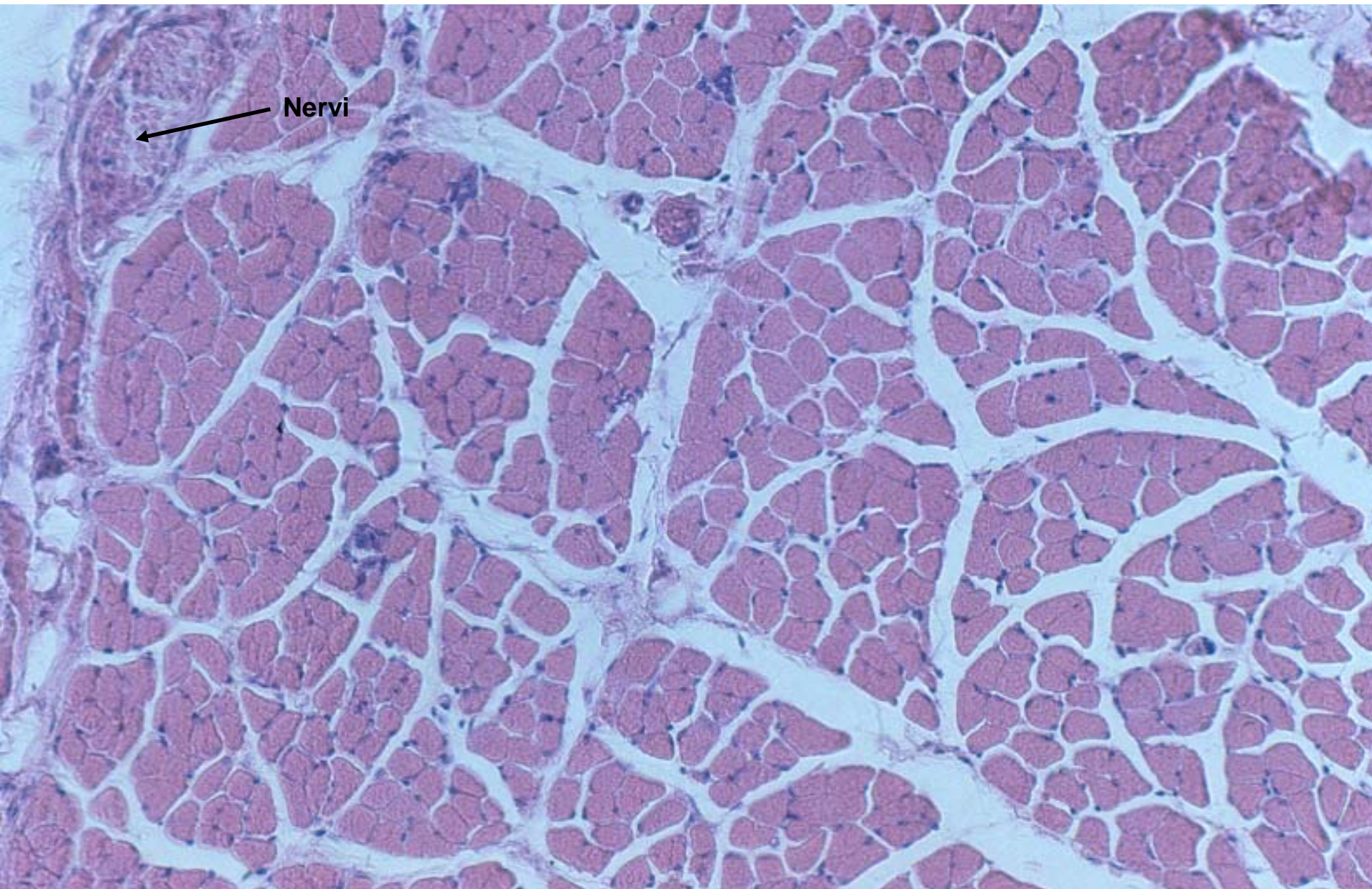
**Figura 2.1.9. A la capa còrnia de l'epiteli de la llengua ja no s'observen nuclis i la queratina queda tenyida intensament de blau o vermell (coloració tricròmica).**





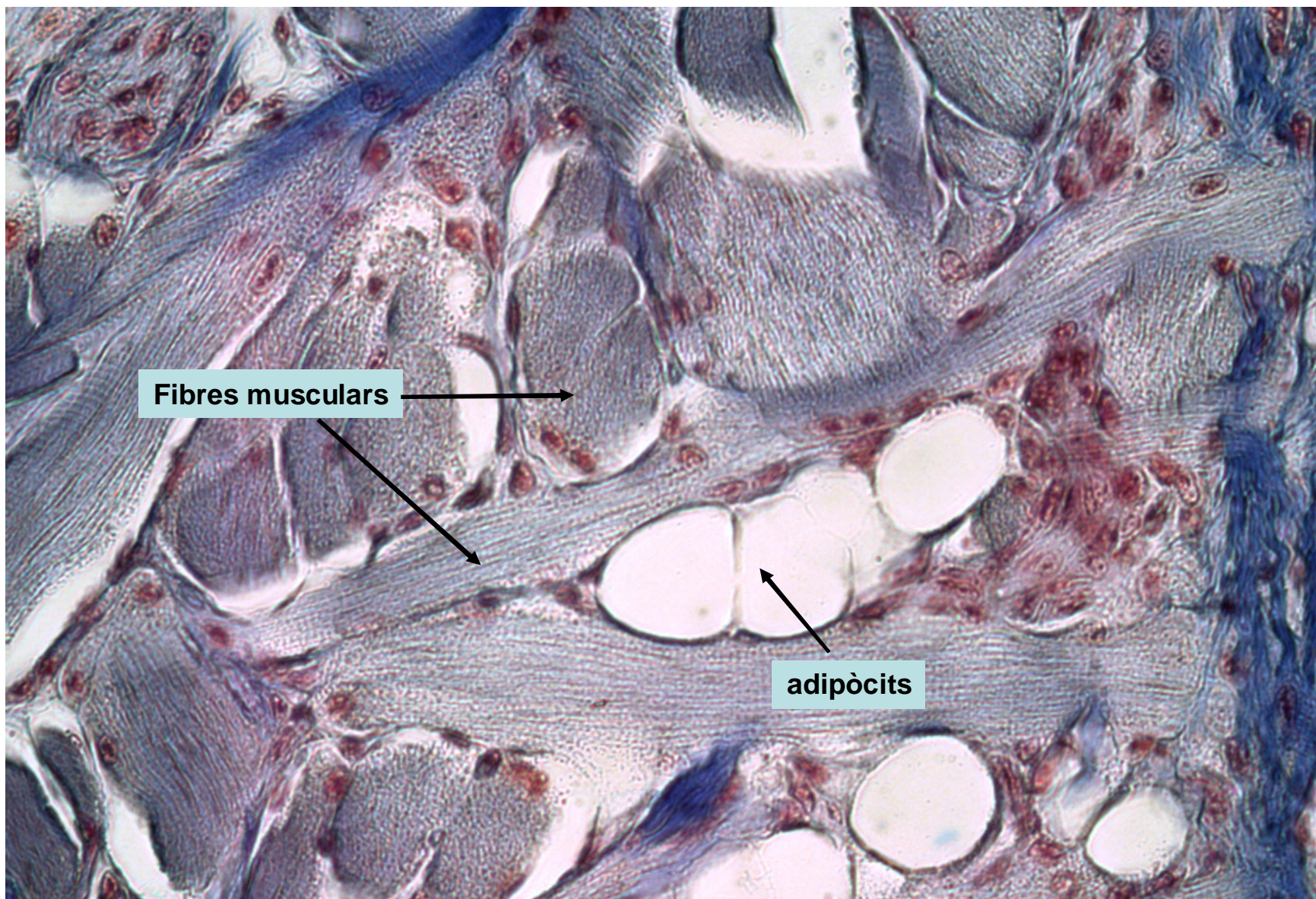
**Figura 2.1.10. Parènquima muscular de la llengua. Es poden distingir fibres musculars esquelètiques disposades en tres direccions diferents (H/E).**





**Figura 2.1.11. Parènquima muscular de la llengua. Es poden distingir els feixos de fibres musculars en secció transversal. S'observa també la secció transversal d'un nervi (H/E).**



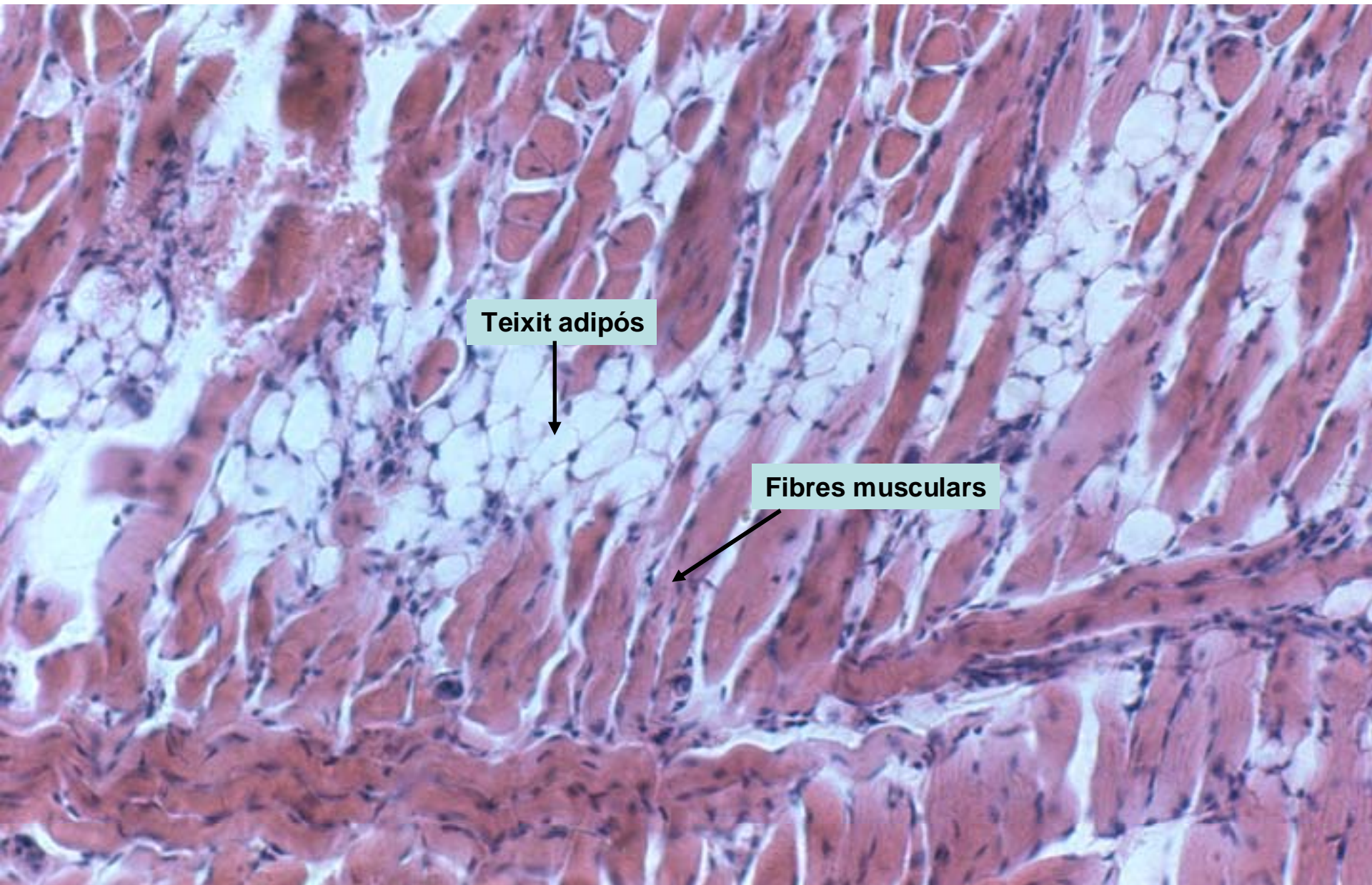


Fibres musculars

adipòcits

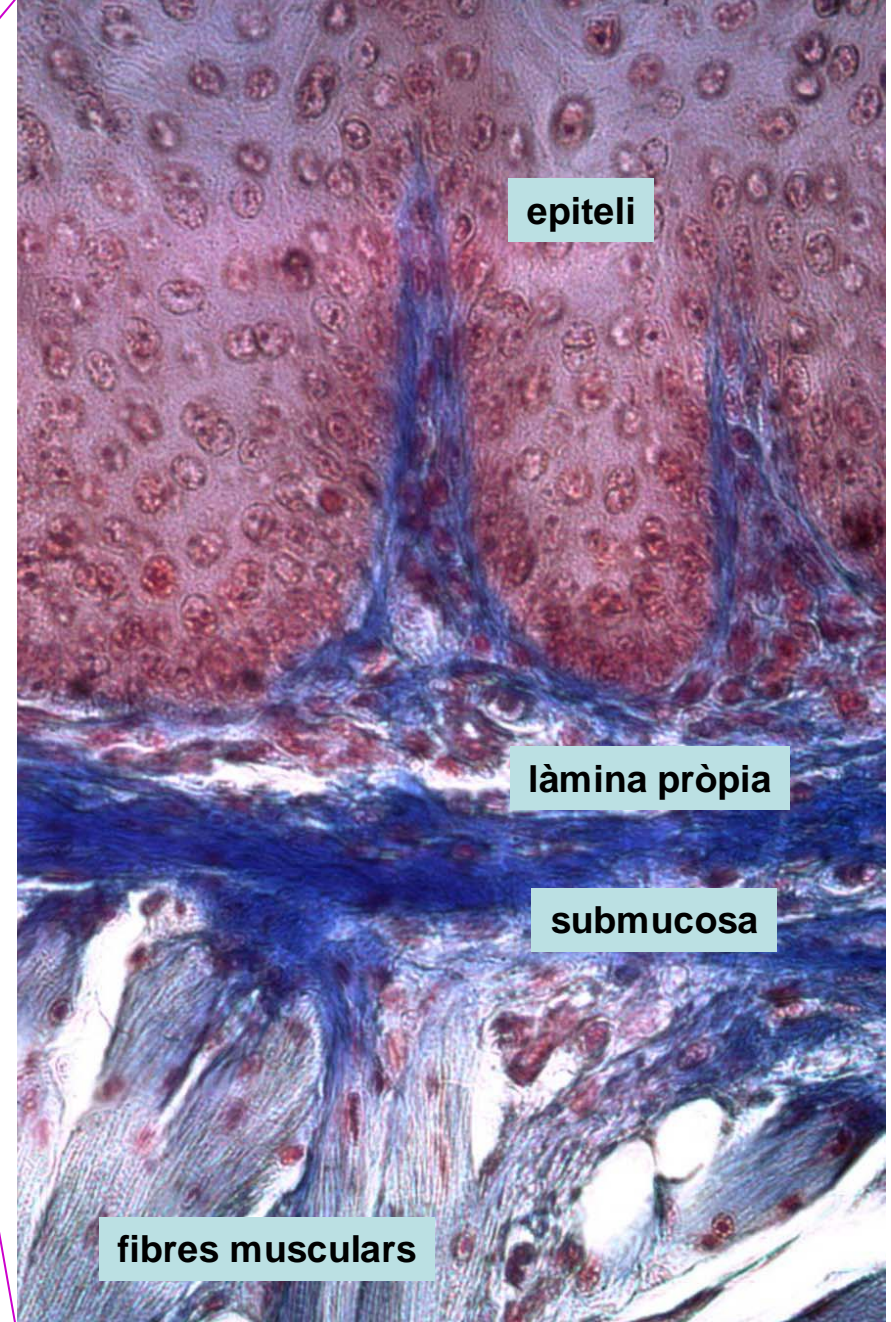
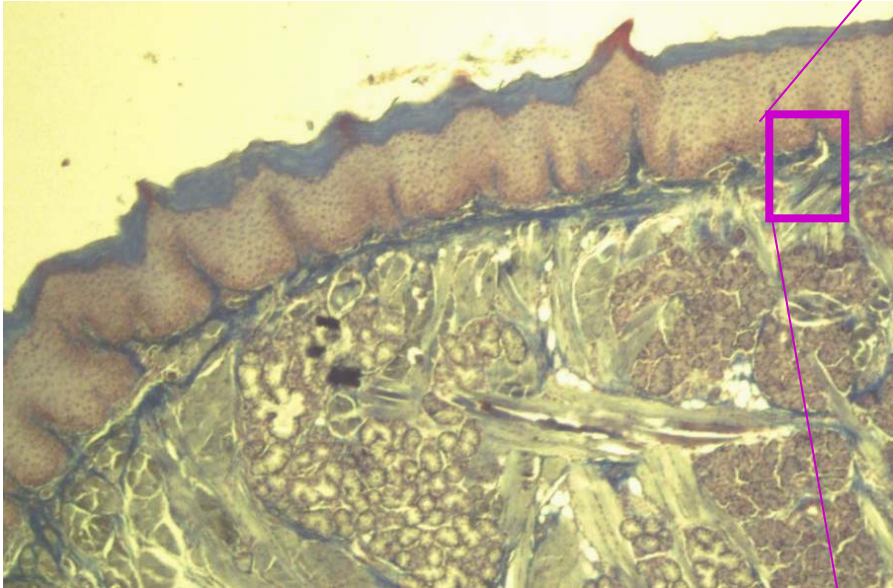
**Figura 2.1.12. Parènquima muscular de la llengua. Es poden distingir fibres musculars esquelètiques, disposades en diferents direccions, i adipòcits (coloració tricròmica).**





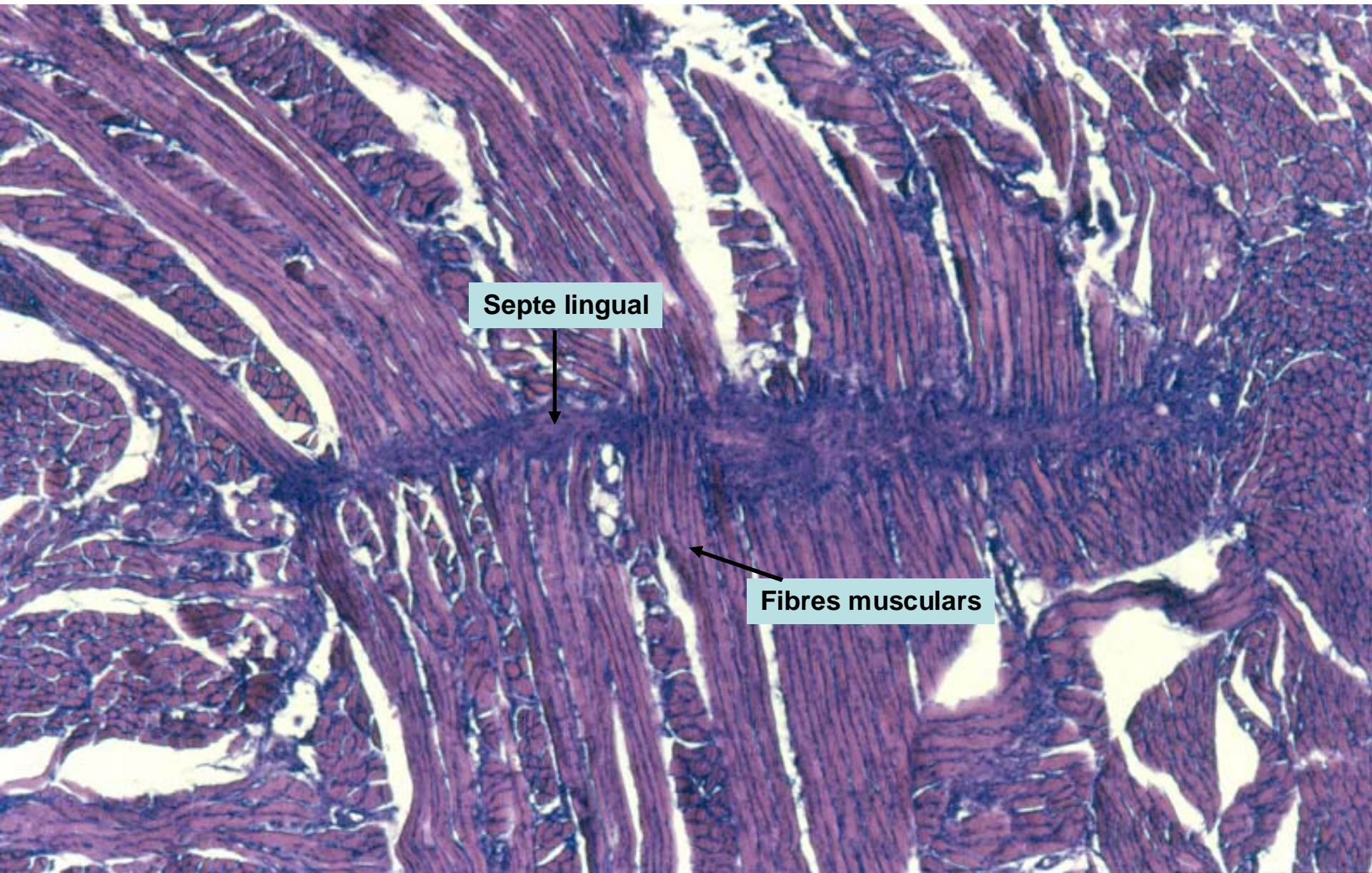
**Figura 2.1.13. Parènquima muscular de la llengua amb teixit adipós intercalat (H/E).**





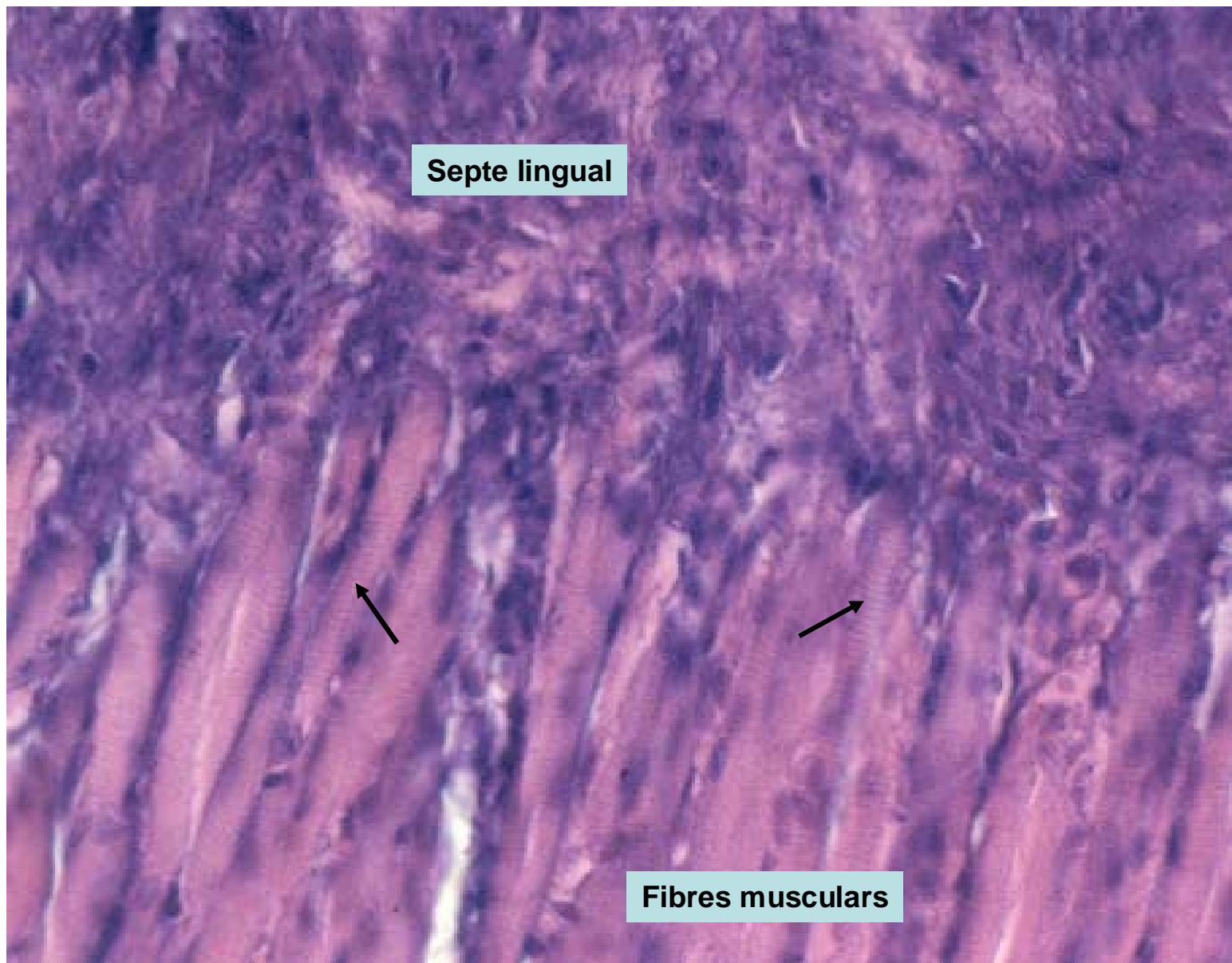
**Figura 2.1.14. El parènquima muscular de la llengua està envoltat per una capa de teixit connectiu dens, la submucosa (coloració tricròmica).**





**Figura 2.1.15. Aponeurosi de la llengua o septe lingual (H/E)**



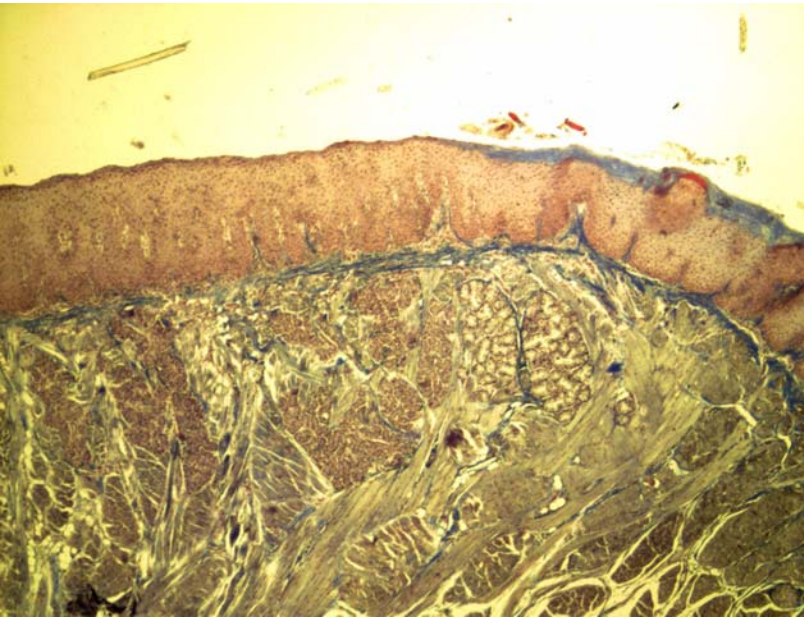


**Figura 2.1.16. Detall de la zona del septe lingual. En algunes fibres musculars es distingeix l'estriació periòdica (fletxes) (H/E).**



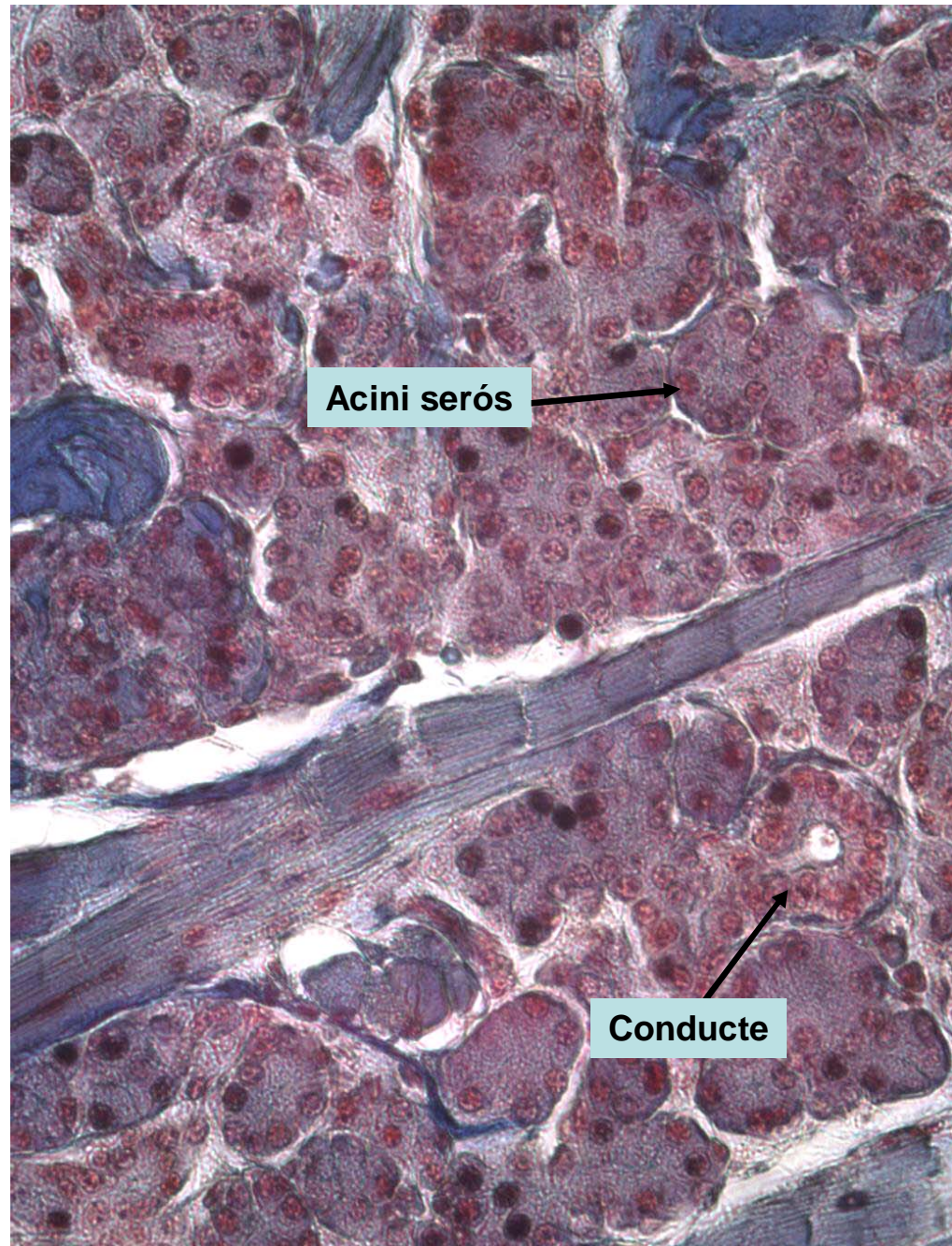
**Figura 2.1.17. Visió general a baix augment d'una secció longitudinal de llengua amb glàndules salivals situades entremig del parènquima muscular. Observeu l'obertura dels conductes glandulars entre les papil·les de la llengua (fletxes) (H/E).**





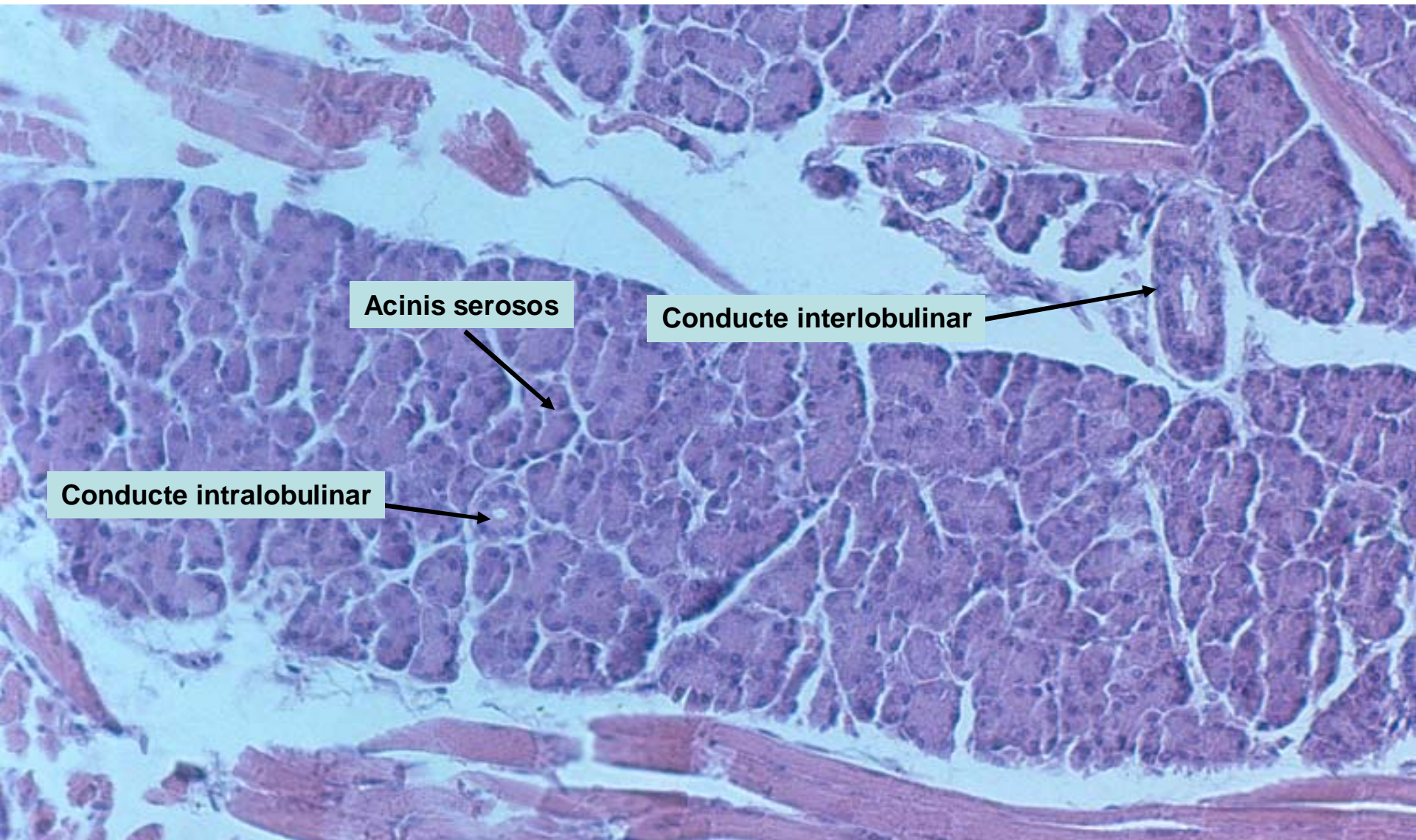
**Figura 2.1.18. Visió general i visió a mitjà augment de llengua amb glàndules salivals seroses i mucoses situades entremig del parènquima muscular (coloració tricròmica).**



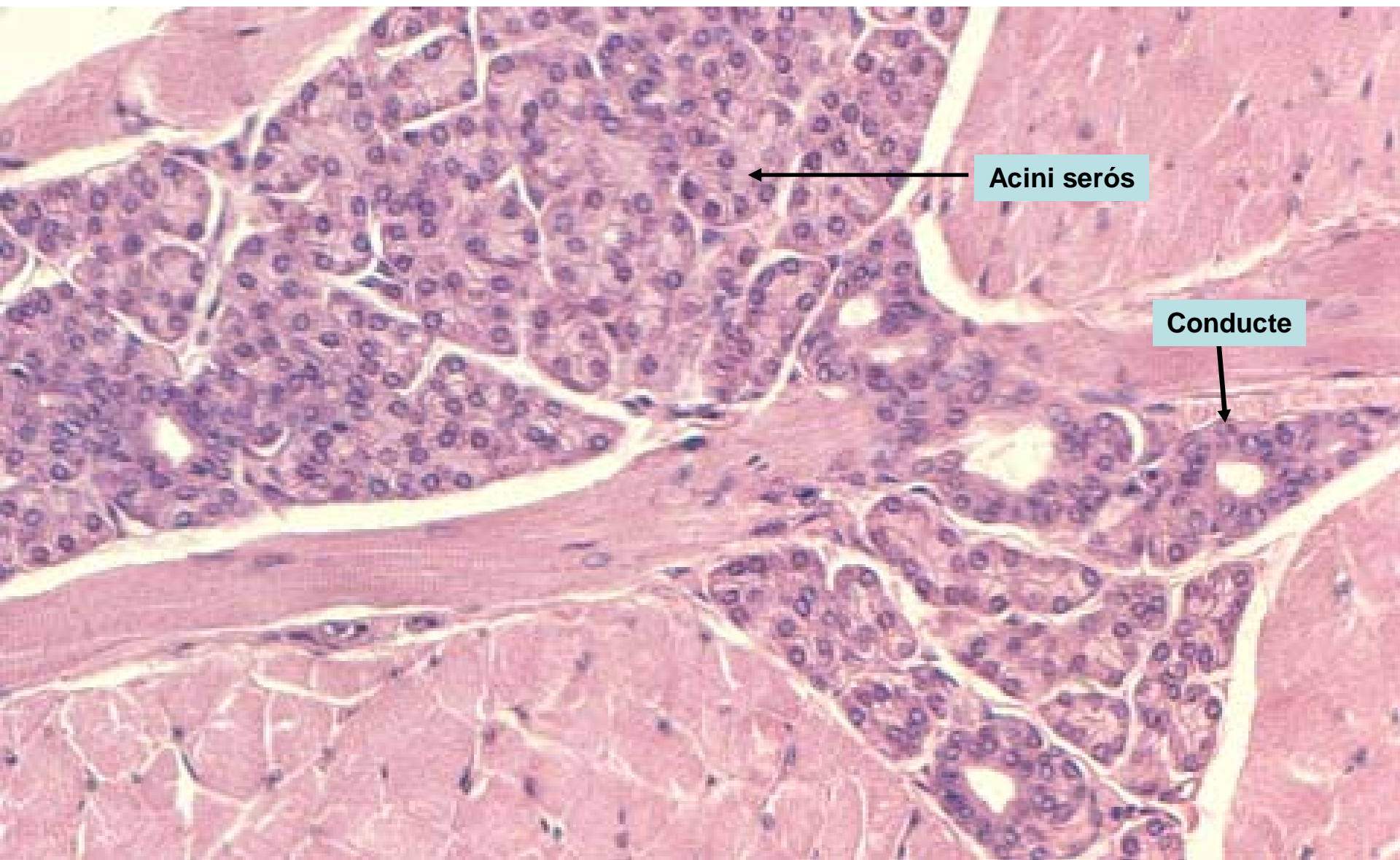


**Figura 2.1.19. Visió general i visió a mitjà augment de llengua amb glàndules salivals seroses i mucoses situades entremig del parènquima muscular (coloració tricròmica).**





**Figura 2.1.20. Lòbul d'una glàndula salival serosa. S'observen les unitats secretores en forma d'acinis i els conductes, tant intralobulars com interlobulars (H/E)**

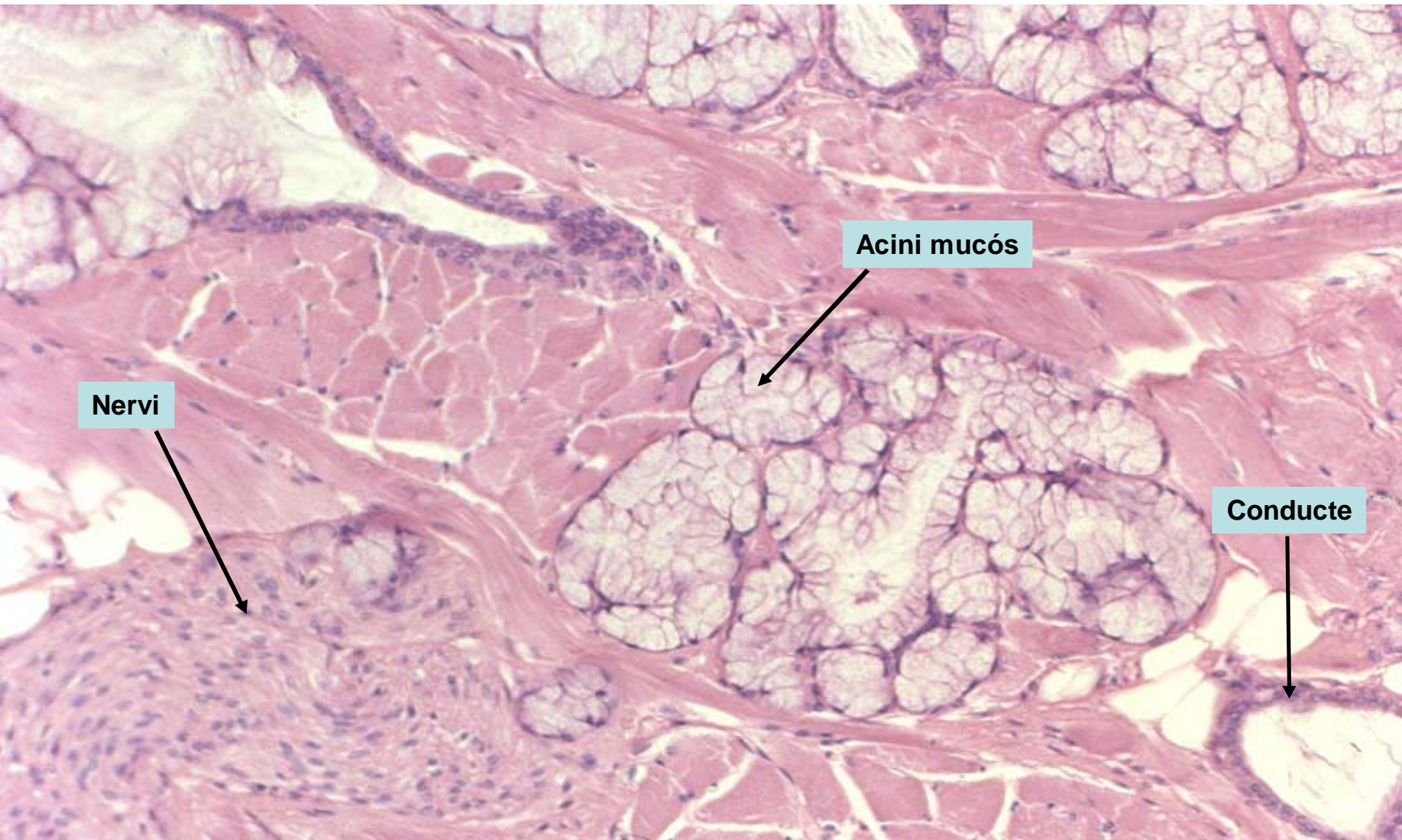


Acini serós

Conducte

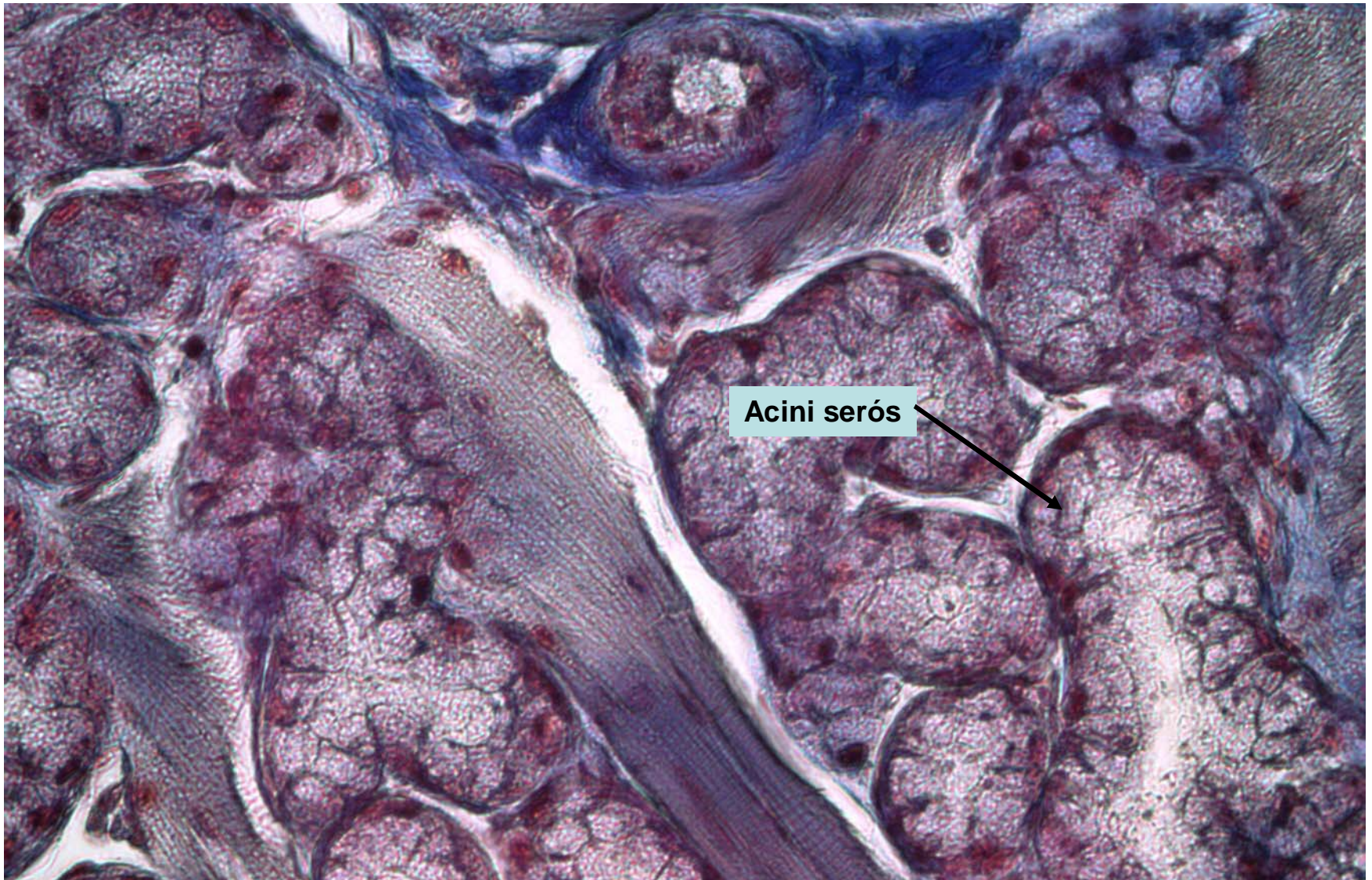
**Figura 2.1.21. Visió de detall d'una glàndula salival serosa. S'observen les unitats secretores en forma d'acinis i els conductes (H/E).**





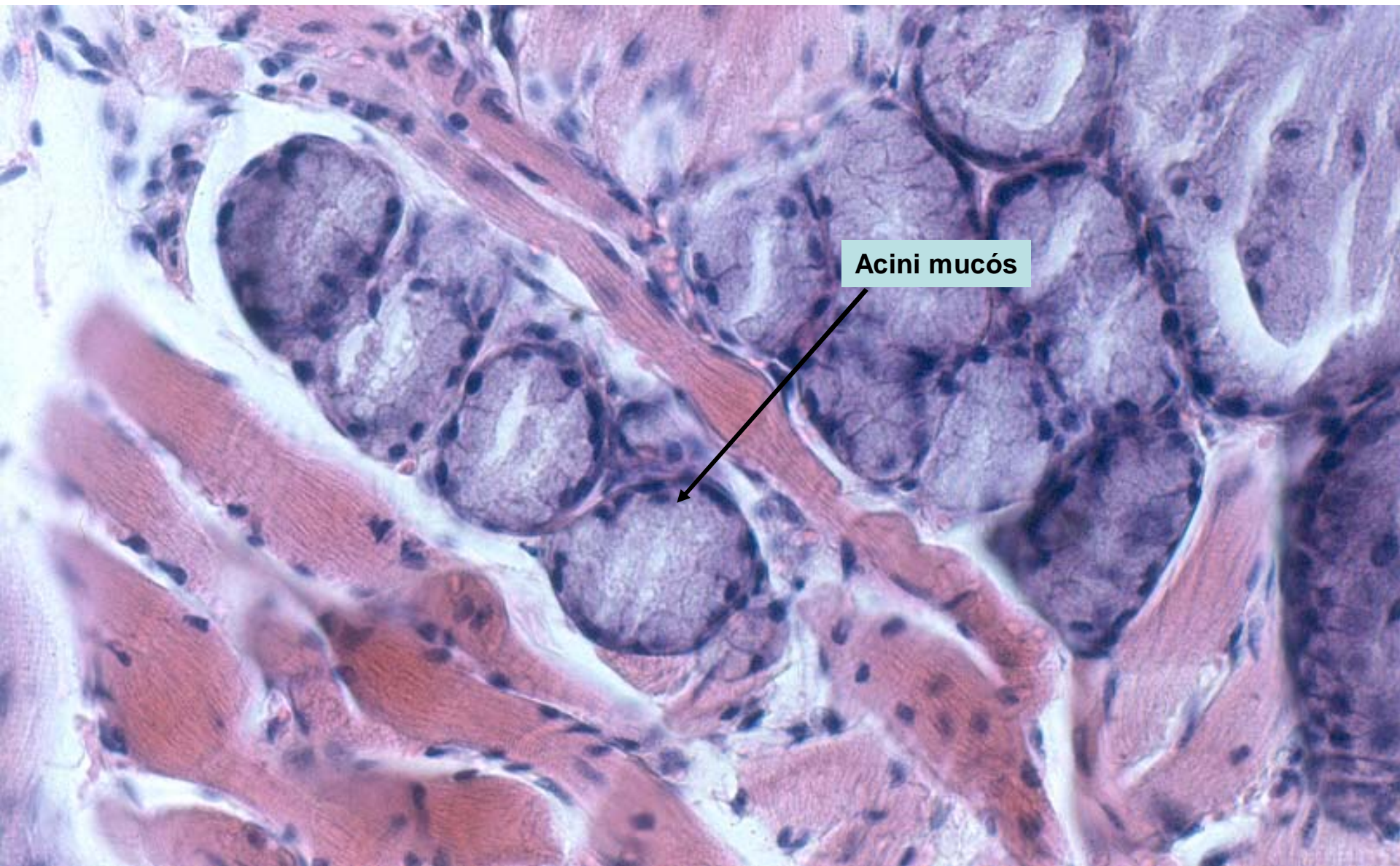
**Figura 2.1.22** Visió de detall d'una glàndula salival mucosa. S'observen les unitats secretores en forma d'acinis i els conductes (H/E).





**Figura 2.1.23 Visió general i visió a mitjà augment de llengua amb glàndules salivals seroses i mucoses situades entremig del parènquima muscular (coloració tricròmica).**

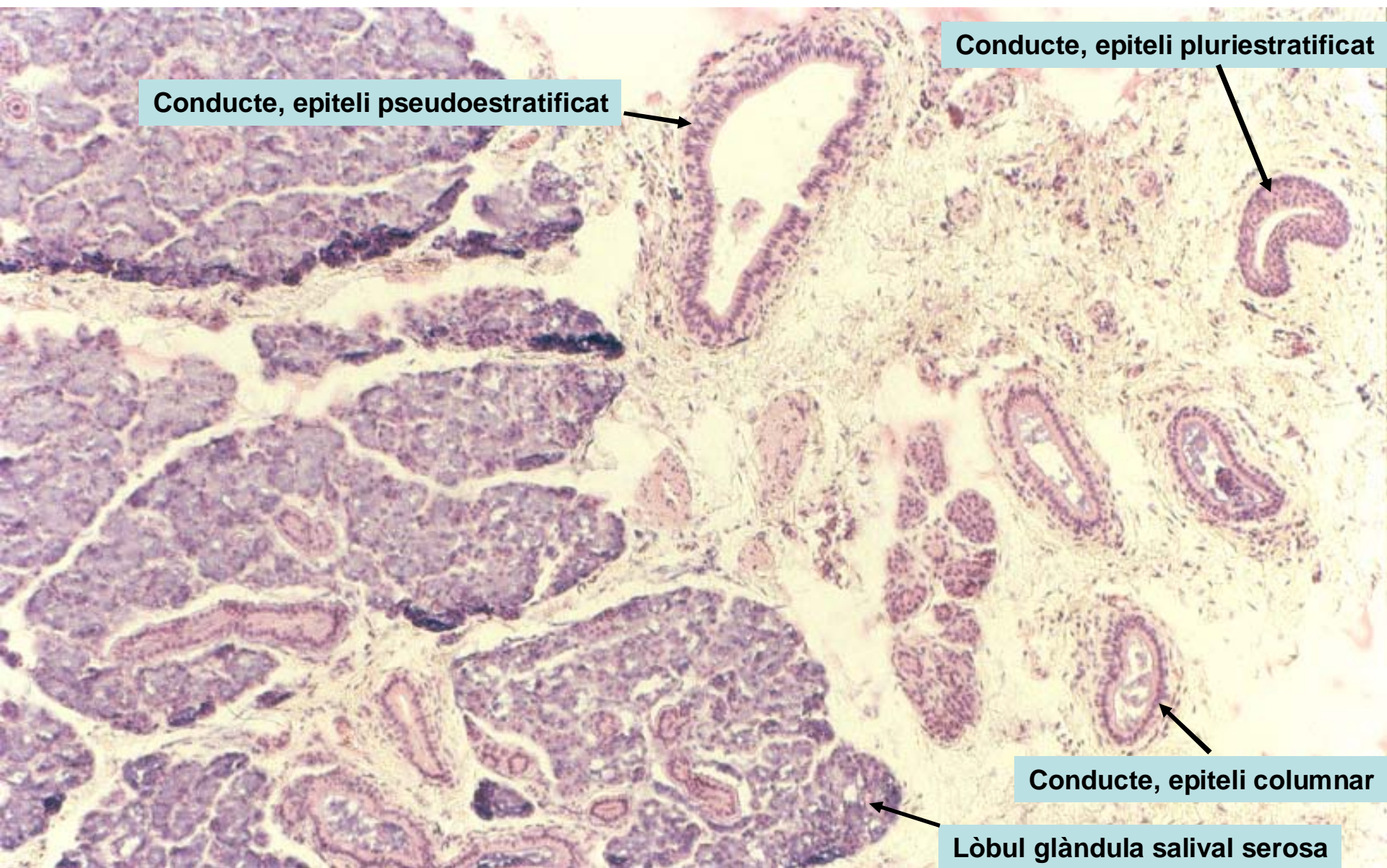




Acini mucós

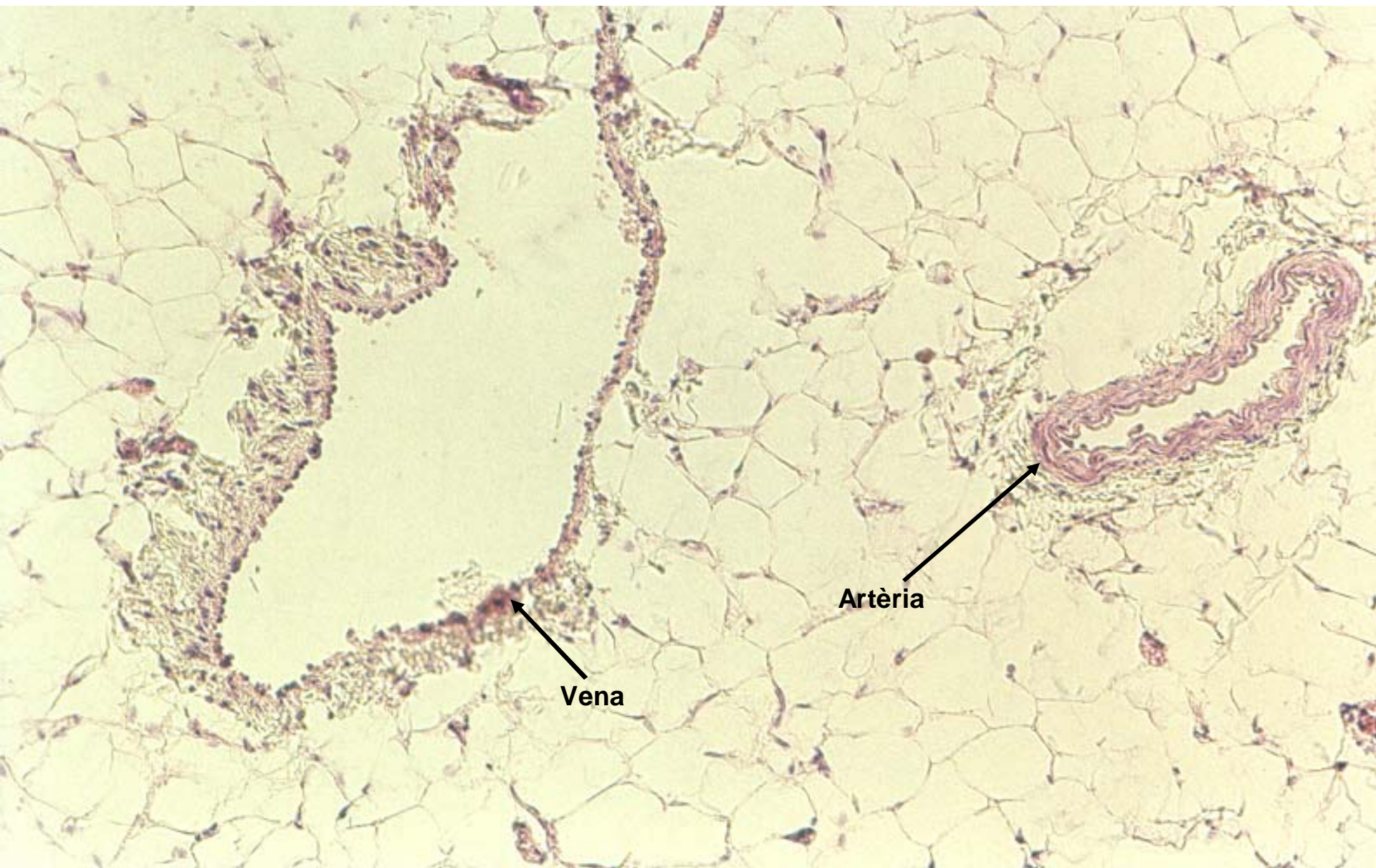
**Figura 2.1.24** Visió de detall dels acinis mucosos d'una glàndula salival mucosa (H/E).





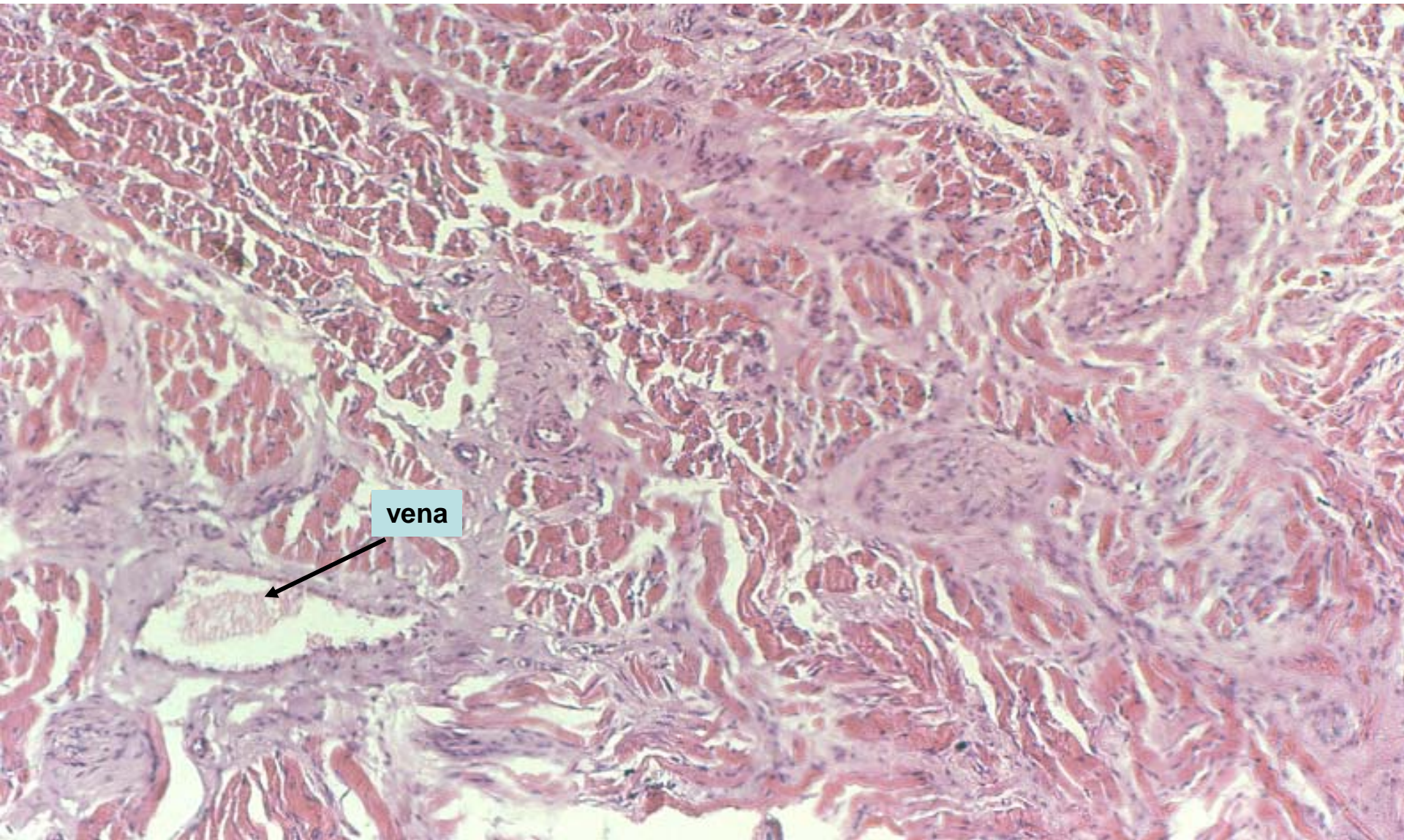
**Figura 2.1.25 Glàndula salival serosa. S'observen diversos lòbuls i el conducte secretor tallat a diferents nivells. Es pot apreciar la variació de l'epiteli del conducte, de simple columnar a pluriestratificat, passant per pseudoestratificat (H/E)**





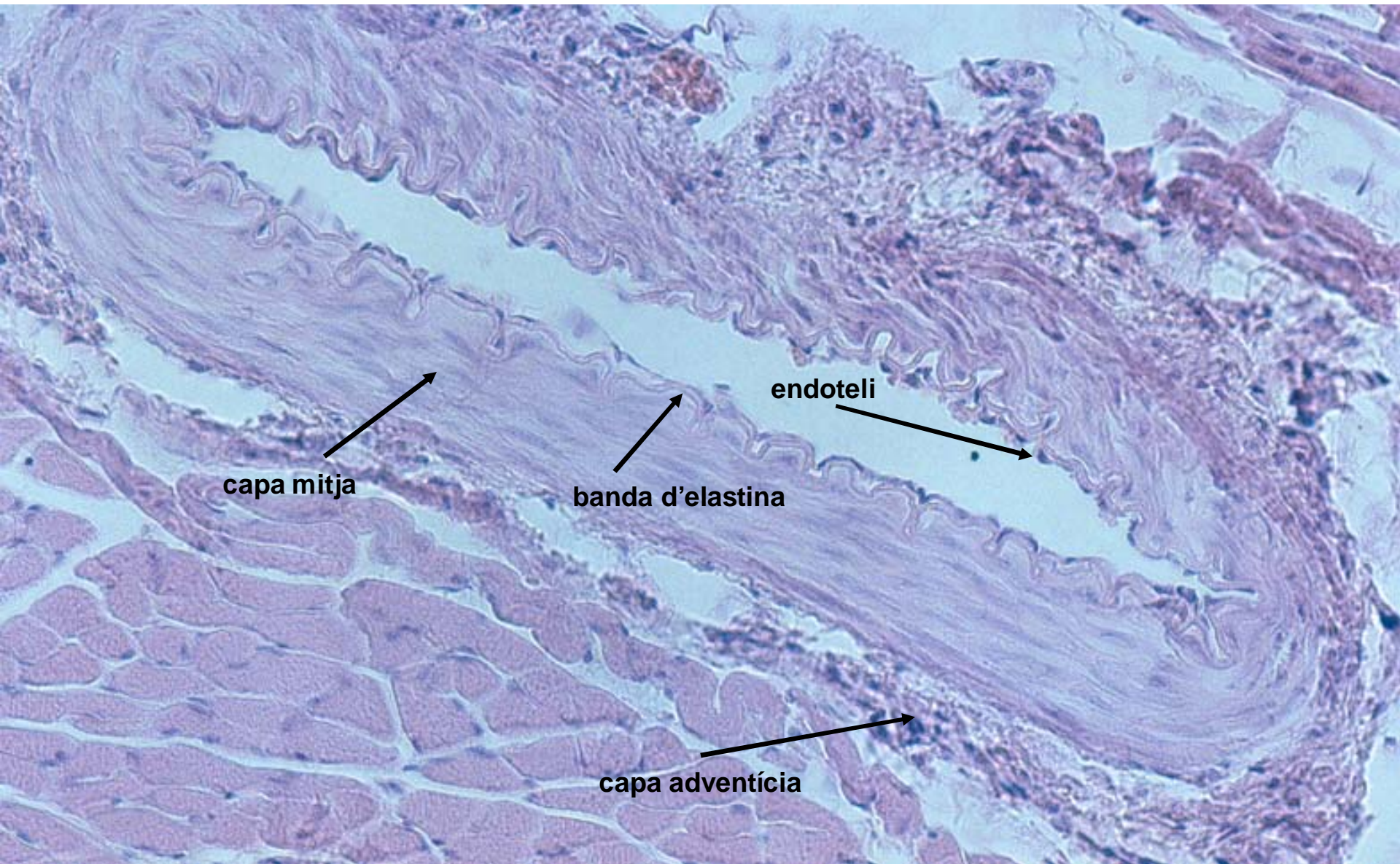
**Figura 2.1.26. Seccions transversals d'una vena i d'una artèria passant entremig de teixit adipós de la llengua (H/E).**





**Figura 2.1.27. Secció transversal d'una vena de la llengua (H/E).**





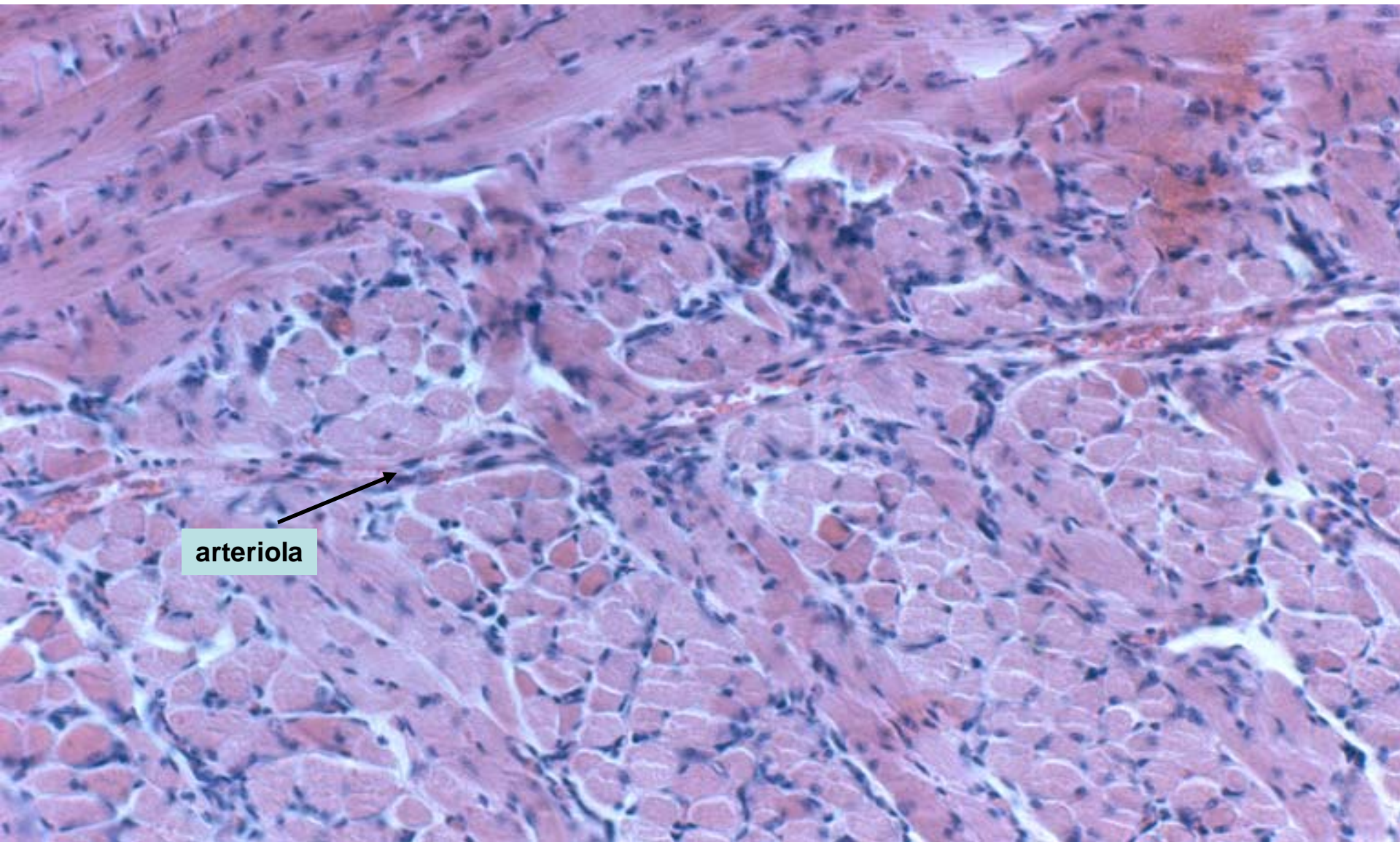
**Figura 2.1.28. Secció transversal d'una artèria de la llengua. Es distingeixen l'endoteli, la banda d'elastina, la capa mitjana (muscular) i la capa adventícia (H/E).**





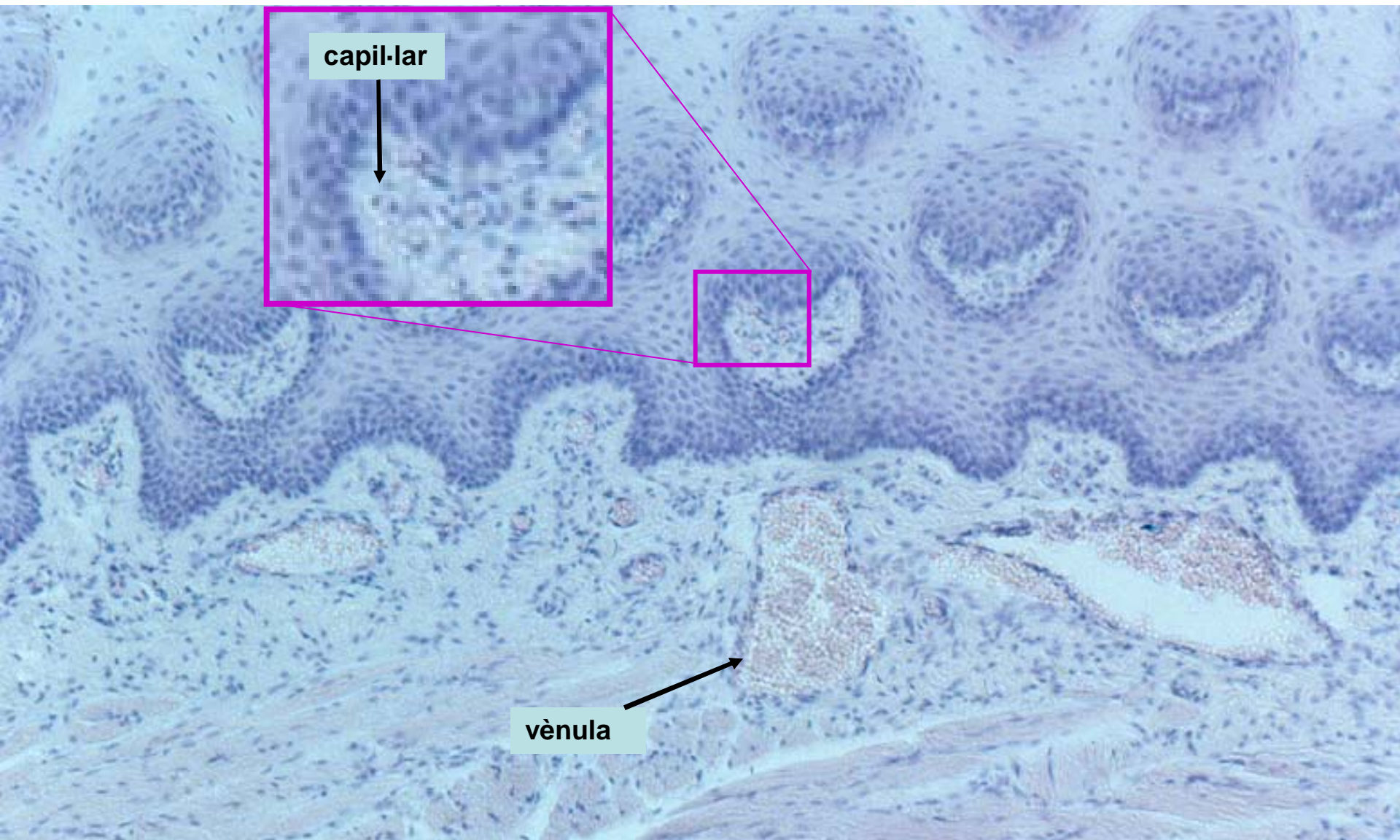
**Figura 2.1.29. Secció transversal d'una artèria de la llengua. Es distingeixen l'endoteli, la banda d'elastina i la capa mitjana (muscular) (H/E).**





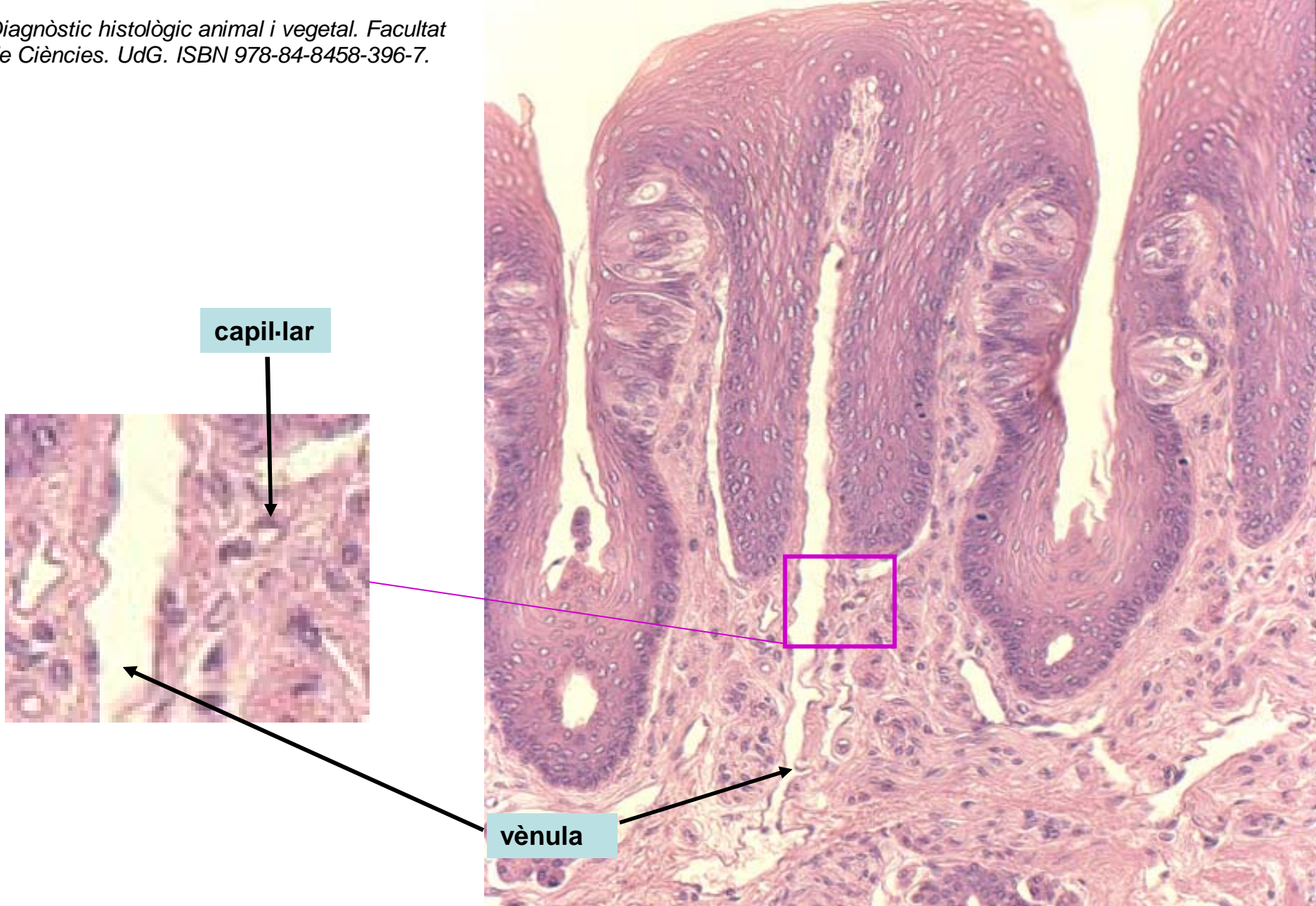
**Figura 2.1.30. Secció longitudinal d'una arteriola de la llengua (H/E).**





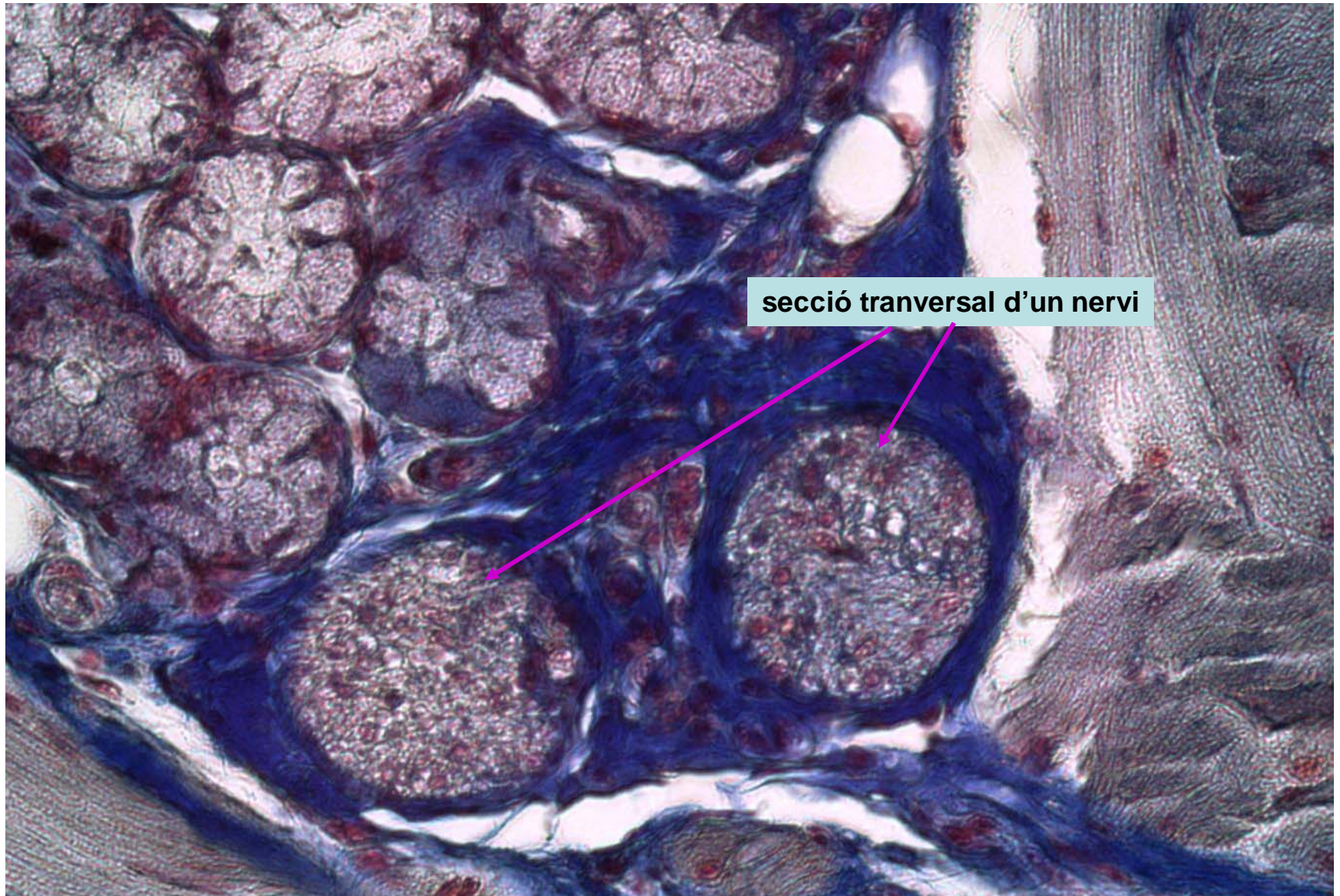
**Figura 2.1.31. Vènules i capil·lars al nivell de la làmina mitjana de la llengua. Observeu que les papil·les estan tallades obliquament (H/E).**





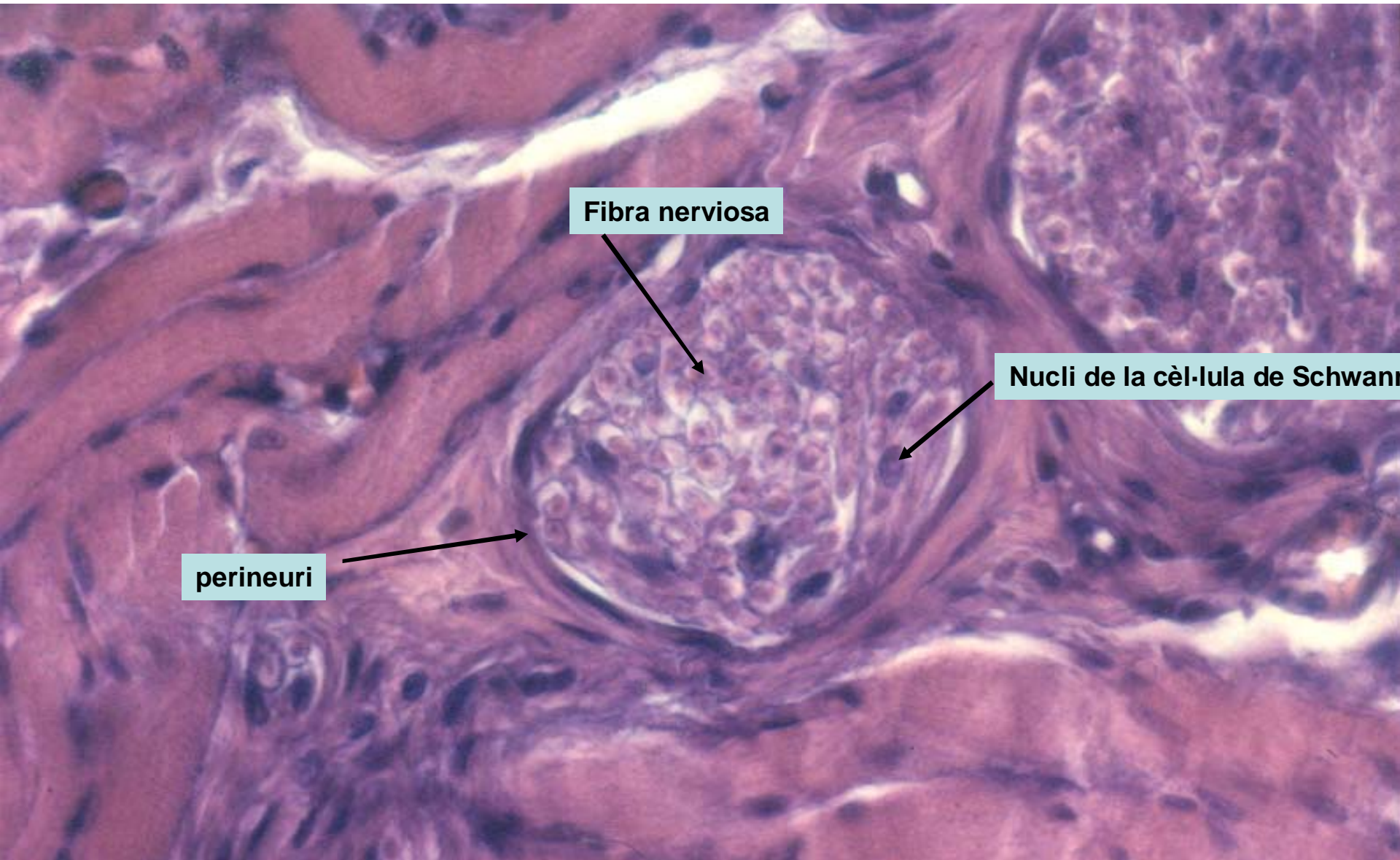
**Figura 2.1.32. Vènules i capil·lars al nivell de la làmina mitjana de la llengua (H/E).**





**Figura 2.1.33. Secció transversal de dos nervis de la llengua (coloració tricròmica).**





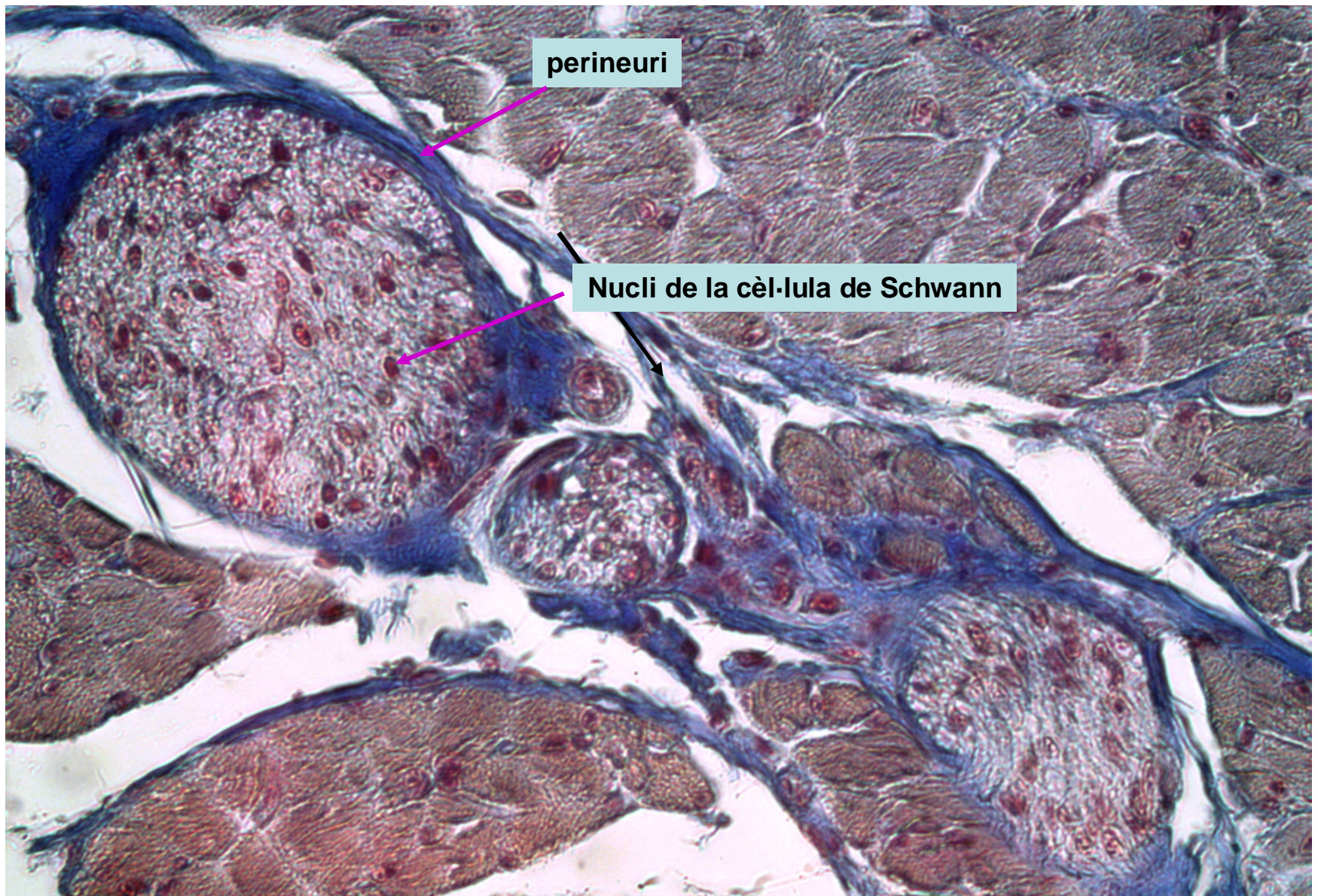
Fibra nerviosa

Nucli de la cèl·lula de Schwann

perineuri

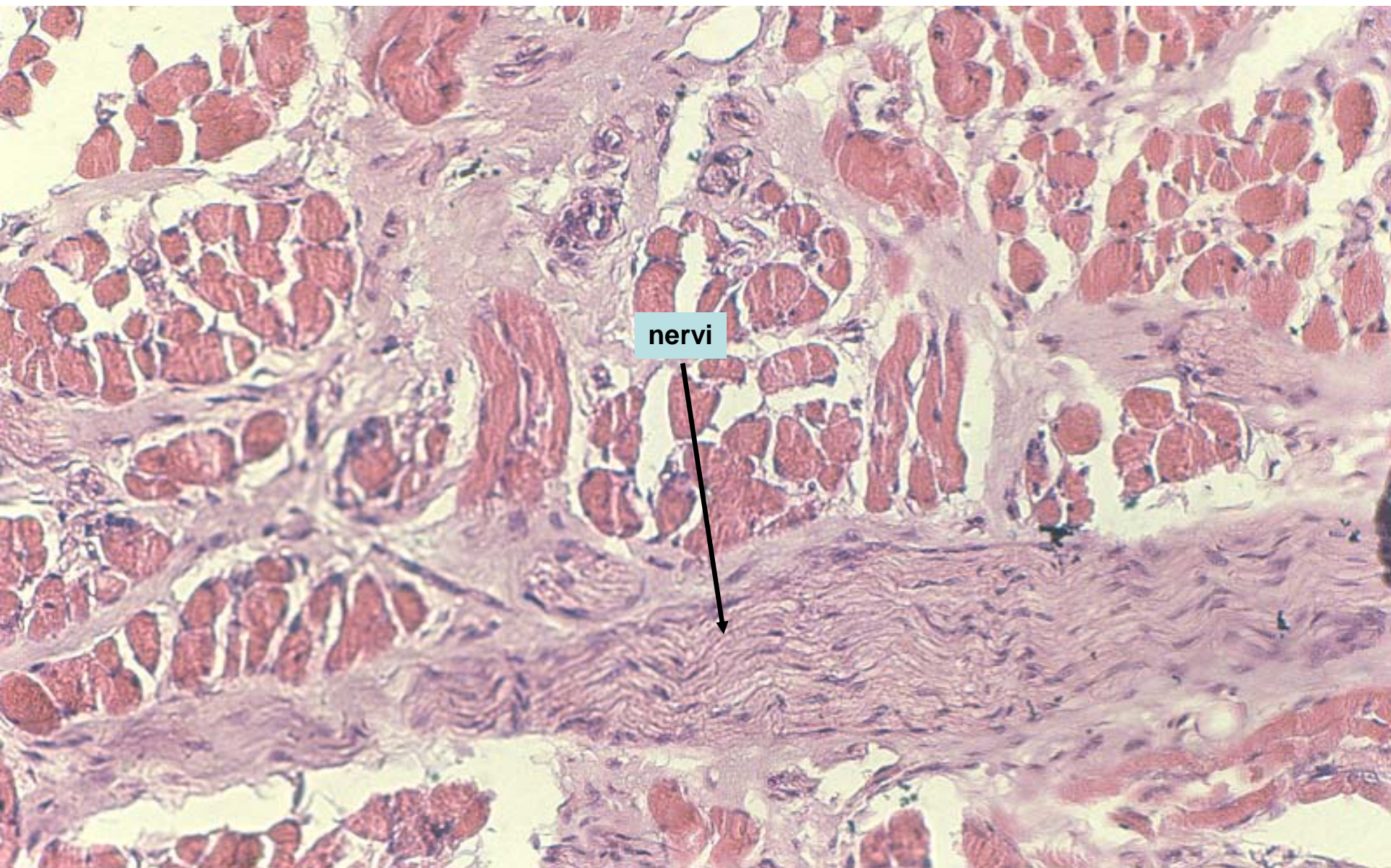
**Figura 2.1.34. Secció transversal d'un nervi de la llengua. Es distingeixen les fibres nervioses constituïdes pels axons amb la beina de mielina, els nuclis de les cèl·lules de Schwann i el perineuri (H/E).**





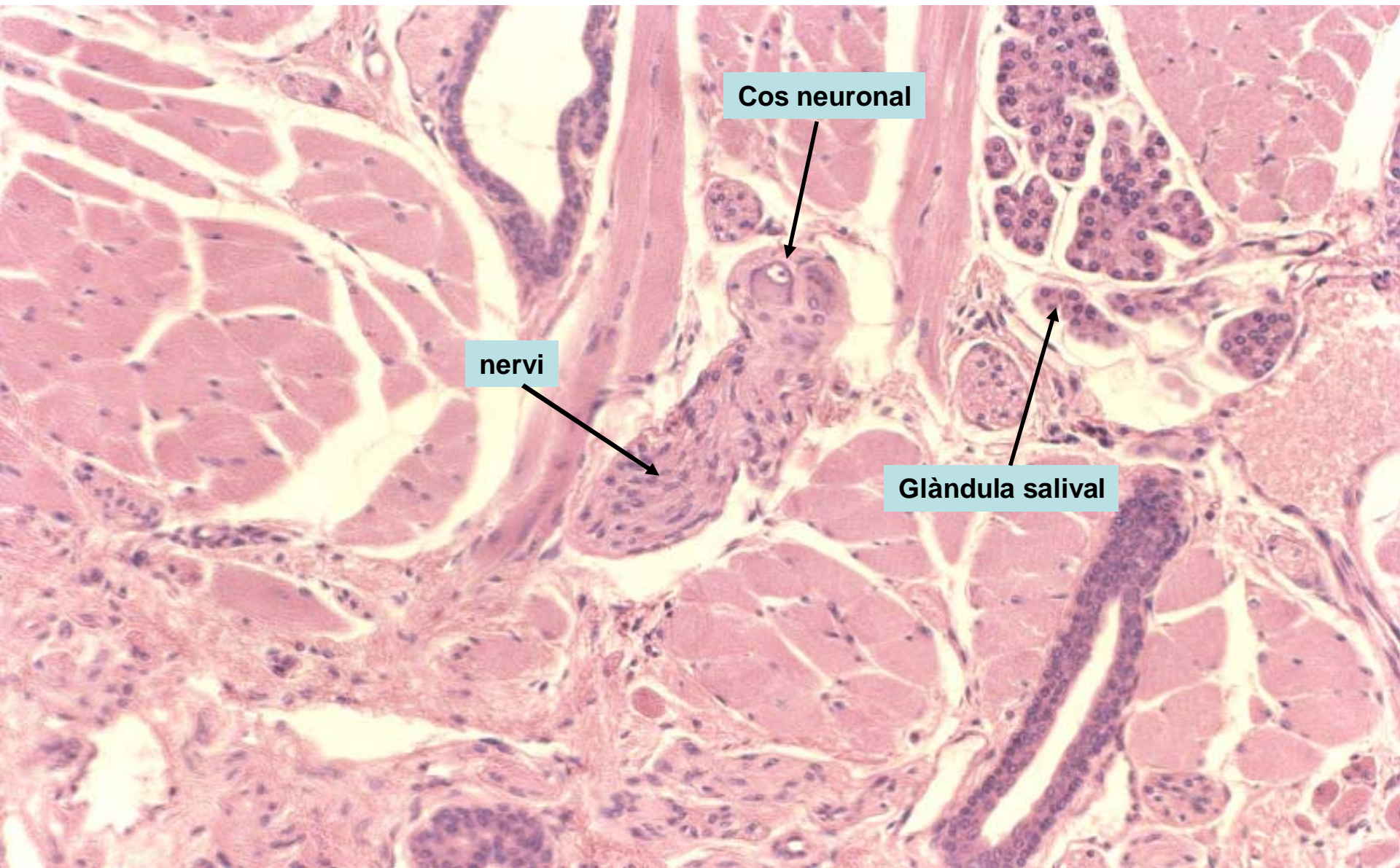
**Figura 2.1.35. Secció transversal d'un nervi de la llengua. Es distingeixen bé els nuclis de les cèl·lules de Schwann i el perineuri (coloració tricròmica).**





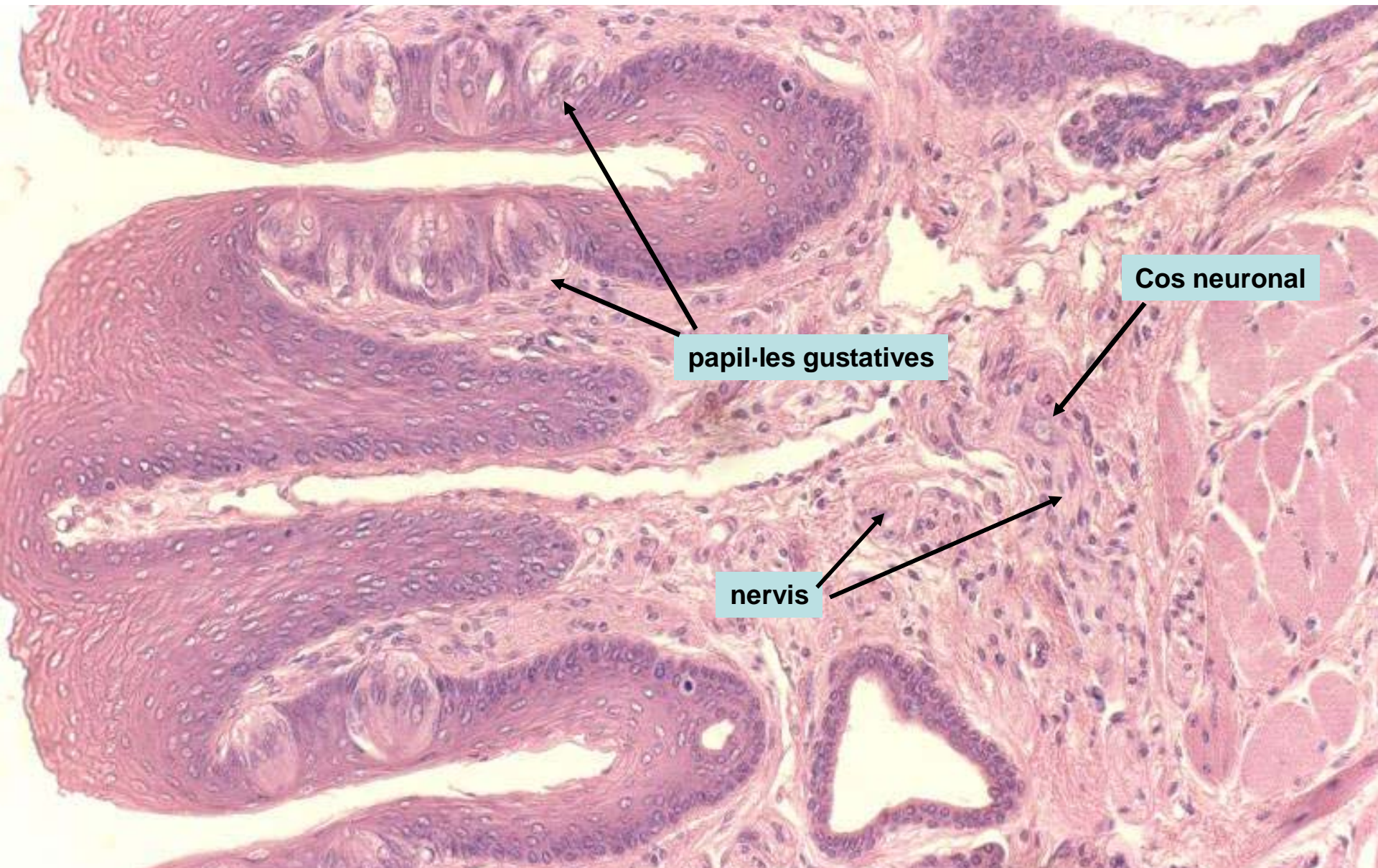
**Figura 2.1.36. Secció longitudinal d'un nervi de la llengua (H/E).**





**Figura 2.1.37. Secció d'un nervi de la llengua al costat del qual es pot distingir el cos neuronal d'una neurona pertanyent a un plexe nerviós (H/E).**





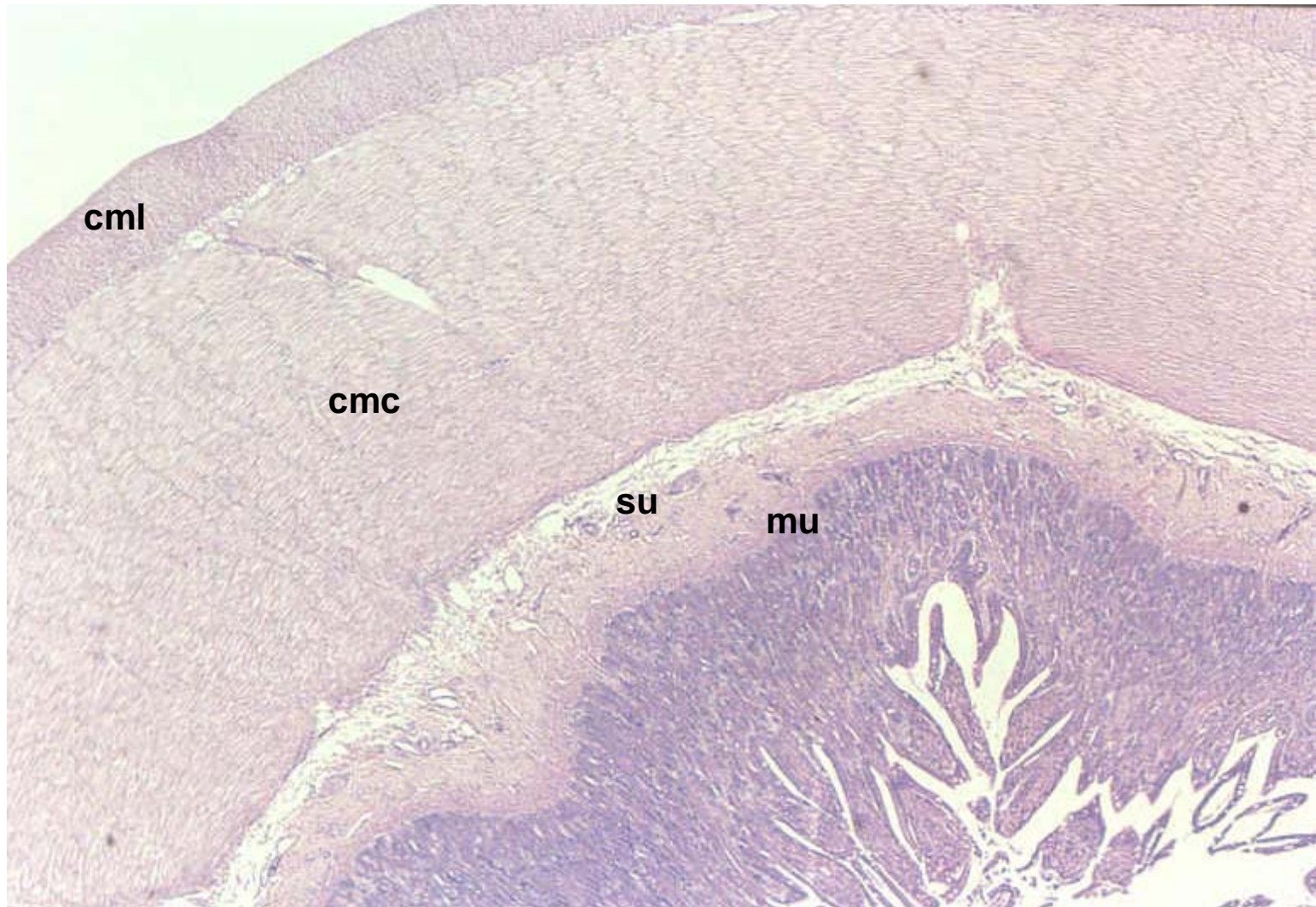
**Figura 2.1.38. Secció de la llengua al nivell de les papil·les gustatives. Es poden distingir els botons gustatius, diversos nervis i un cos neuronal (H/E).**





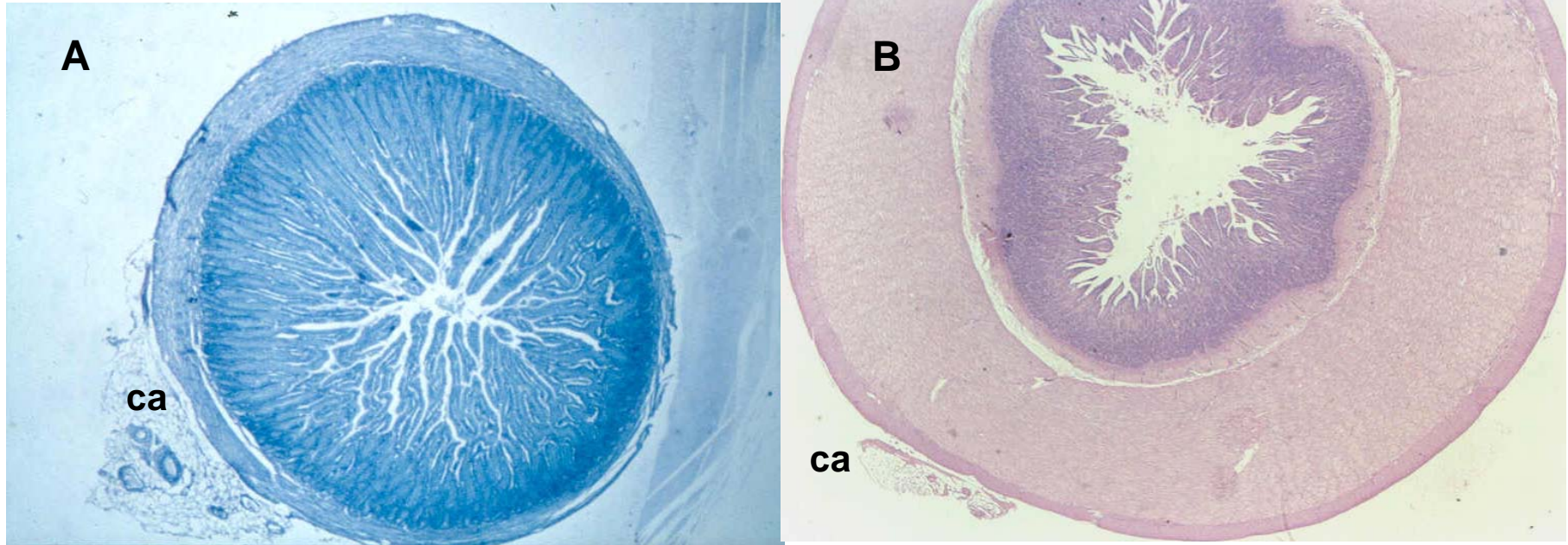
**Figura 2.2.1 - Visió general a baix augments d'una porció d'intestí de ratolí corresponent al duodè tallat transversalment (H/E).**



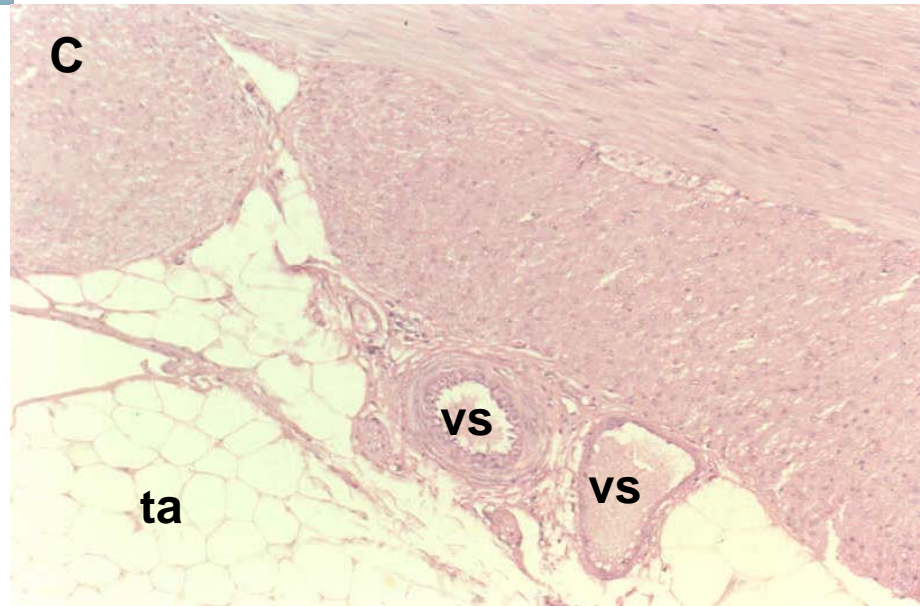


**Figura 2.2.2 - Microfotografia de la paret intestinal en tall transversal on es poden observar 4 de les 5 capes que la constitueixen: mucosa (mu), submucosa (su), capa muscular circular (interna) (cmc) i capa muscular longitudinal (externa) (cml) (H/E).**

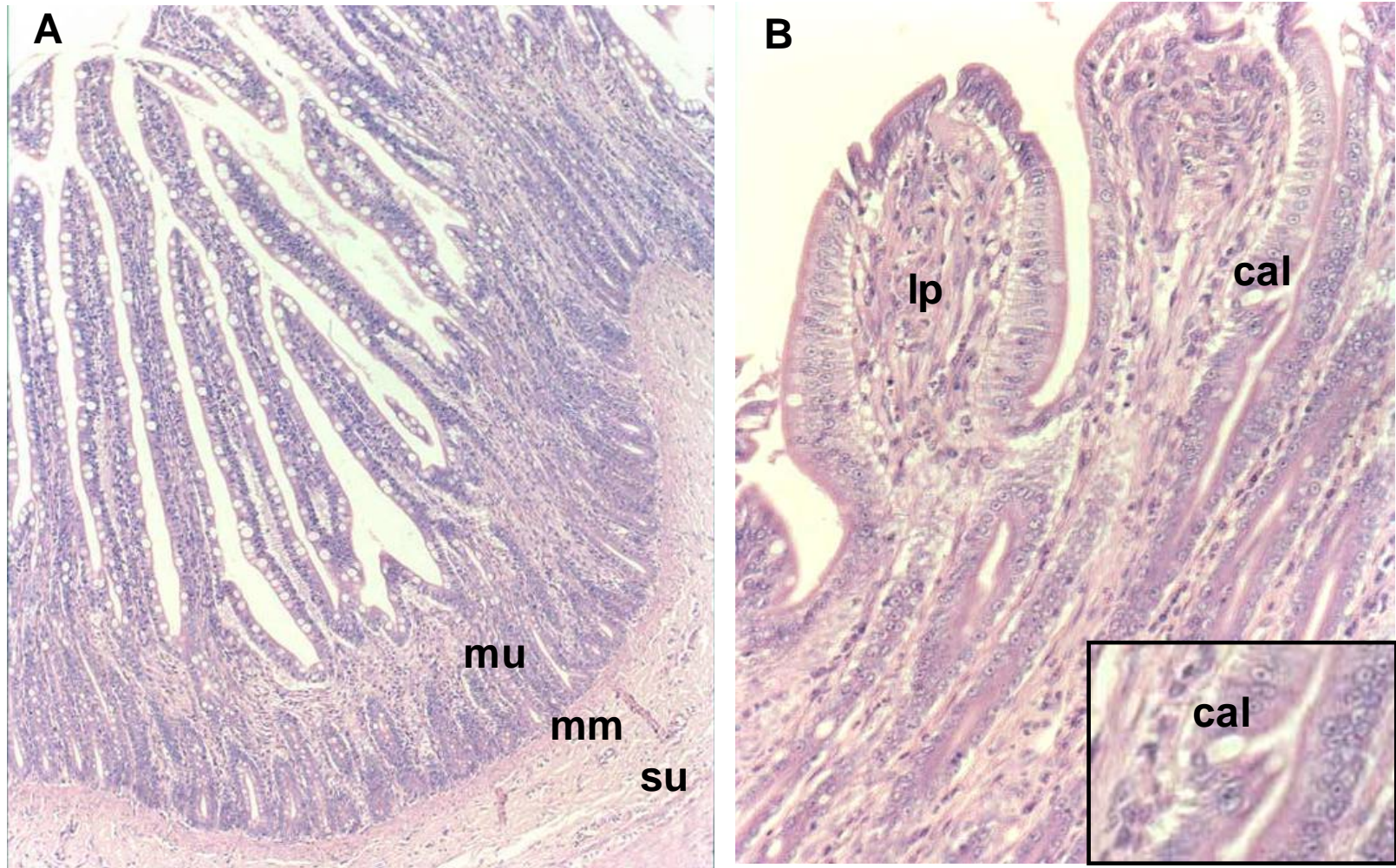




**Figura 2.2.3 - Microfotografies de la paret intestinal en tall transversal tenyida amb H-Blau d'anilina (A) i H/E (B) on es pot observar una porció de la capa adventícia (ca). C) Detall de la capa adventícia en contacte amb capa muscular longitudinal on s'observa la presència de teixit adipós (ta) i vasos sanguinis (vs) (H/E).**

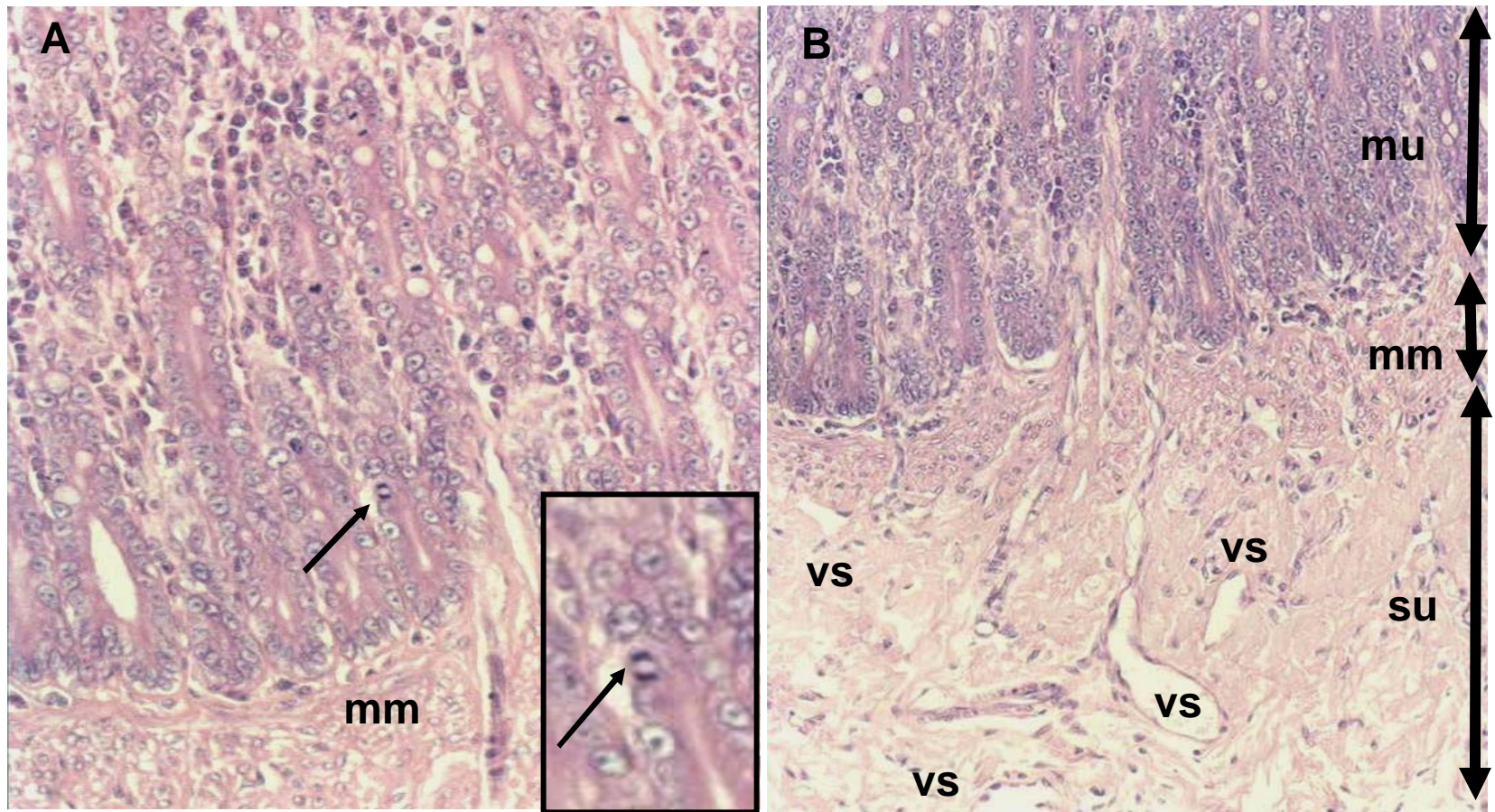






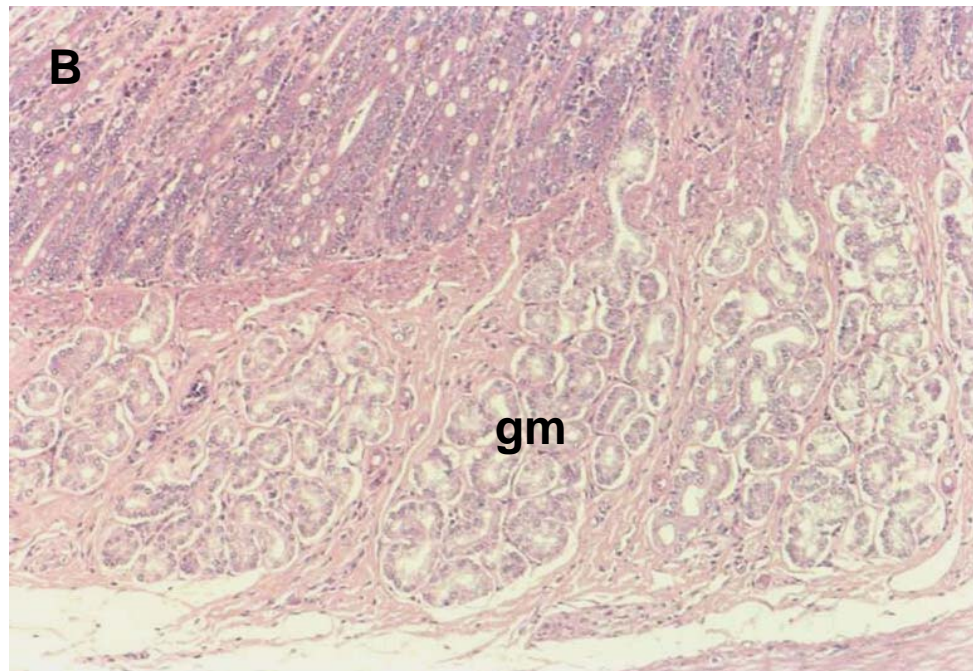
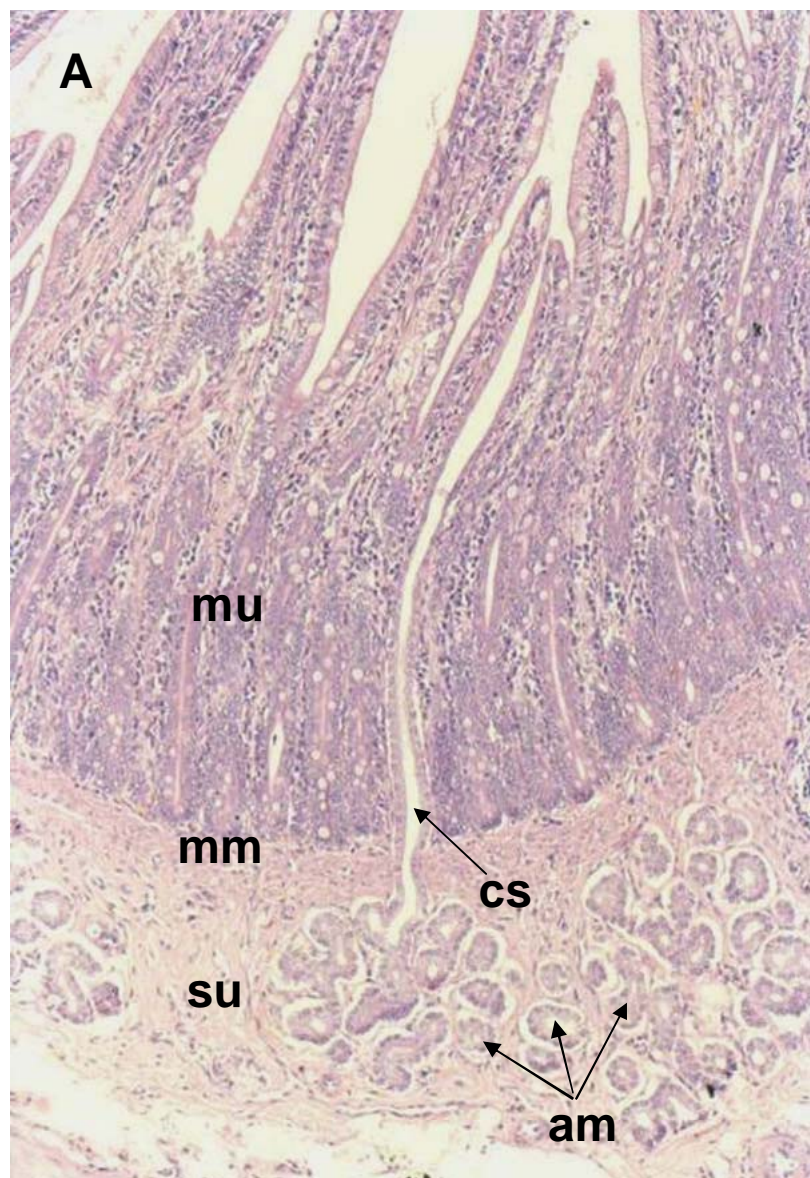
**Figura 2.2.4 - A) Microfotografia de la mucosa intestinal on es pot observar la presència de nombroses vellositats intestinals. En el límit entre la mucosa (mu) i submucosa (su) es localitza la muscular de la mucosa (mm). B) Detall de les vellositats intestinals on s'observa l'epiteli cilíndric monoestratificat amb nombroses cèl·lules caliciformes (cal) (amb un citoplasma molt poc tenyit) i la làmina pròpia (lp) situada tot just per sota (H/E).**





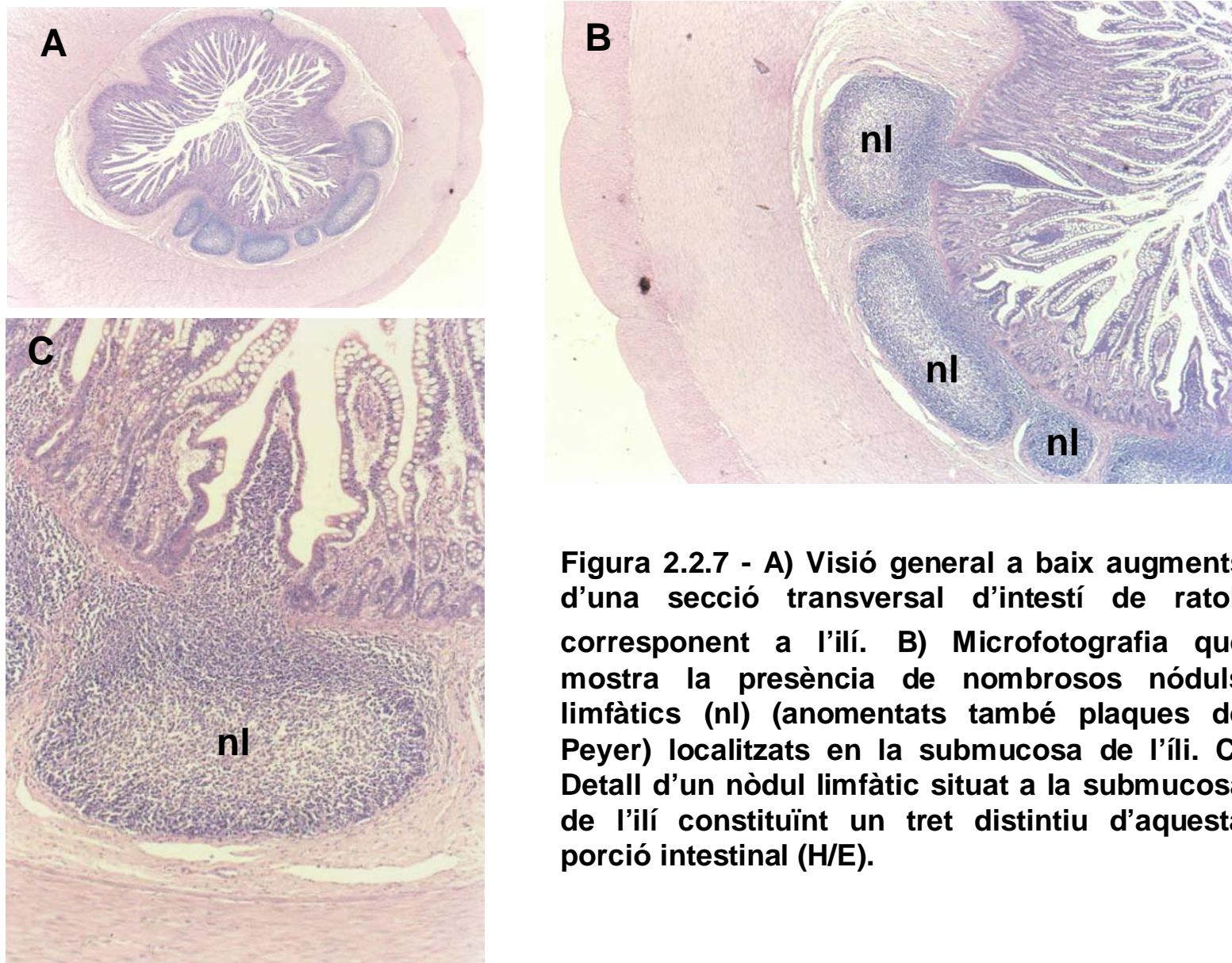
**Figura 2.2.5 - A) Detall de la part basal de la mucosa intestinal on es pot observar alguna figura mitòtica que demostra la presència de cèl·lules amb capacitat proliferativa (ccp) en aquests nivells. B) Microfotografia on s'observa part de la mucosa (mu), muscular de la mucosa (mm) i la submucosa (su) on es localitzen nombrosos elements vasculars (vs) (H/E).**



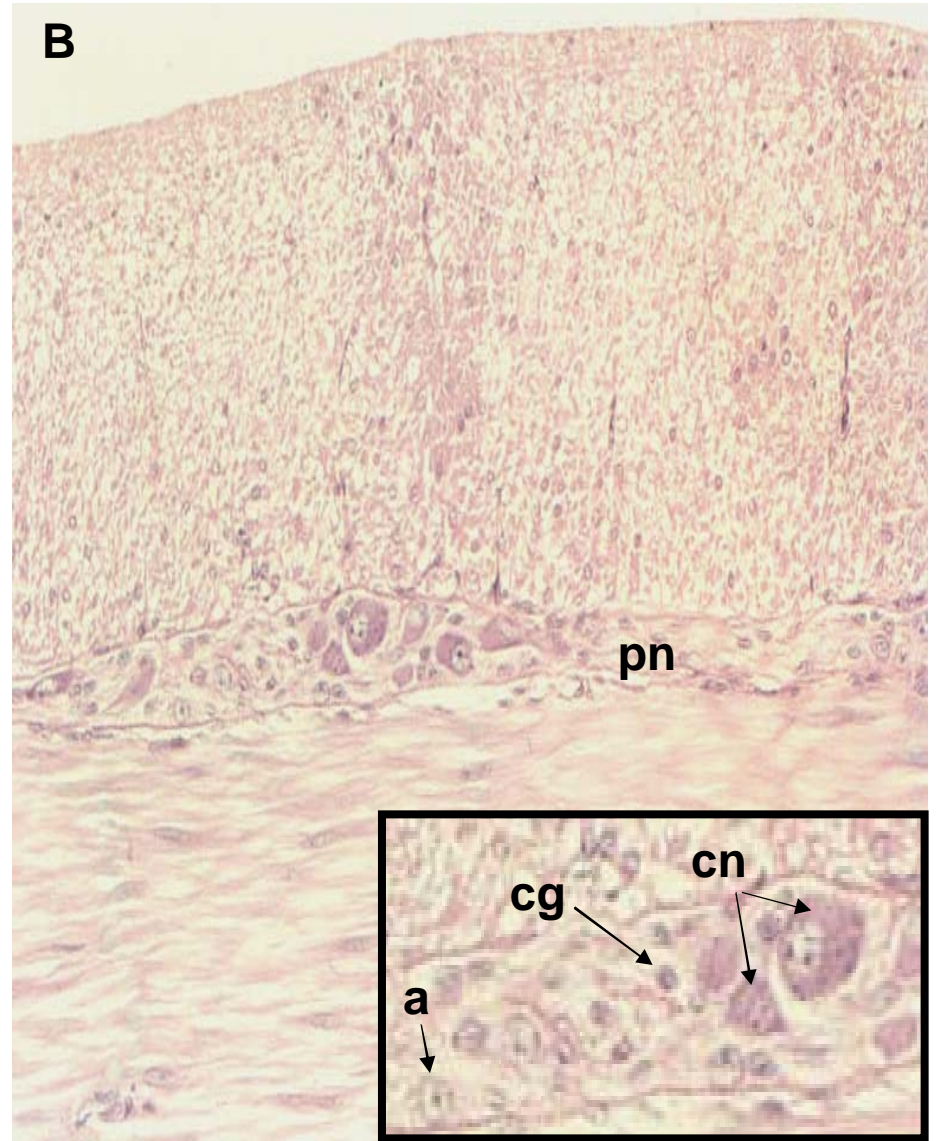
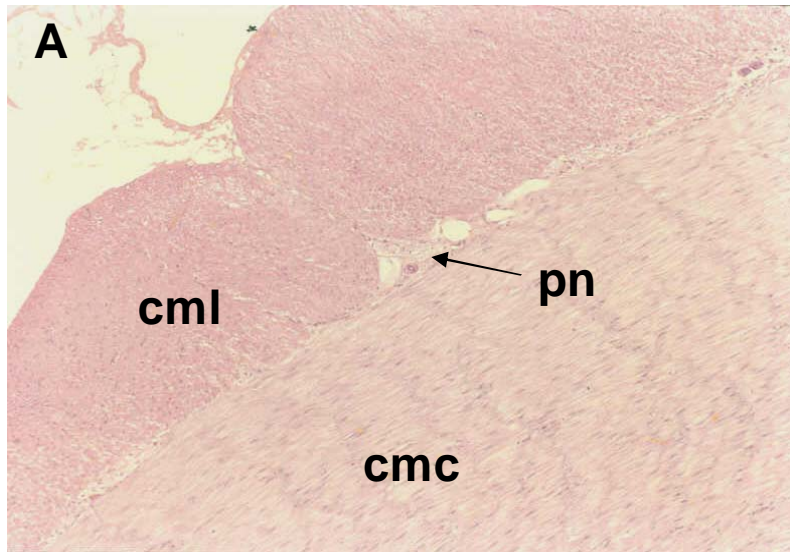


**Figura 2.2.6 - A) Microfotografia que mostra la mucosa (mu), la muscular de la mucosa (mm) i submucosa (su) d'una porció intestinal de duodè. S'observen també nombrosos acinis mucosos (am) i un conducte secretor (cs) en secció longitudinal que des de la submucosa arriba a la mucosa per abocar el contingut a la llum intestinal. B) Detall de la submucosa on evidencia la presència de glàndules mucoses, també anomenades glàndules de Brunner, com a tret característic de la porció duodenal de l'intestí (H/E).**



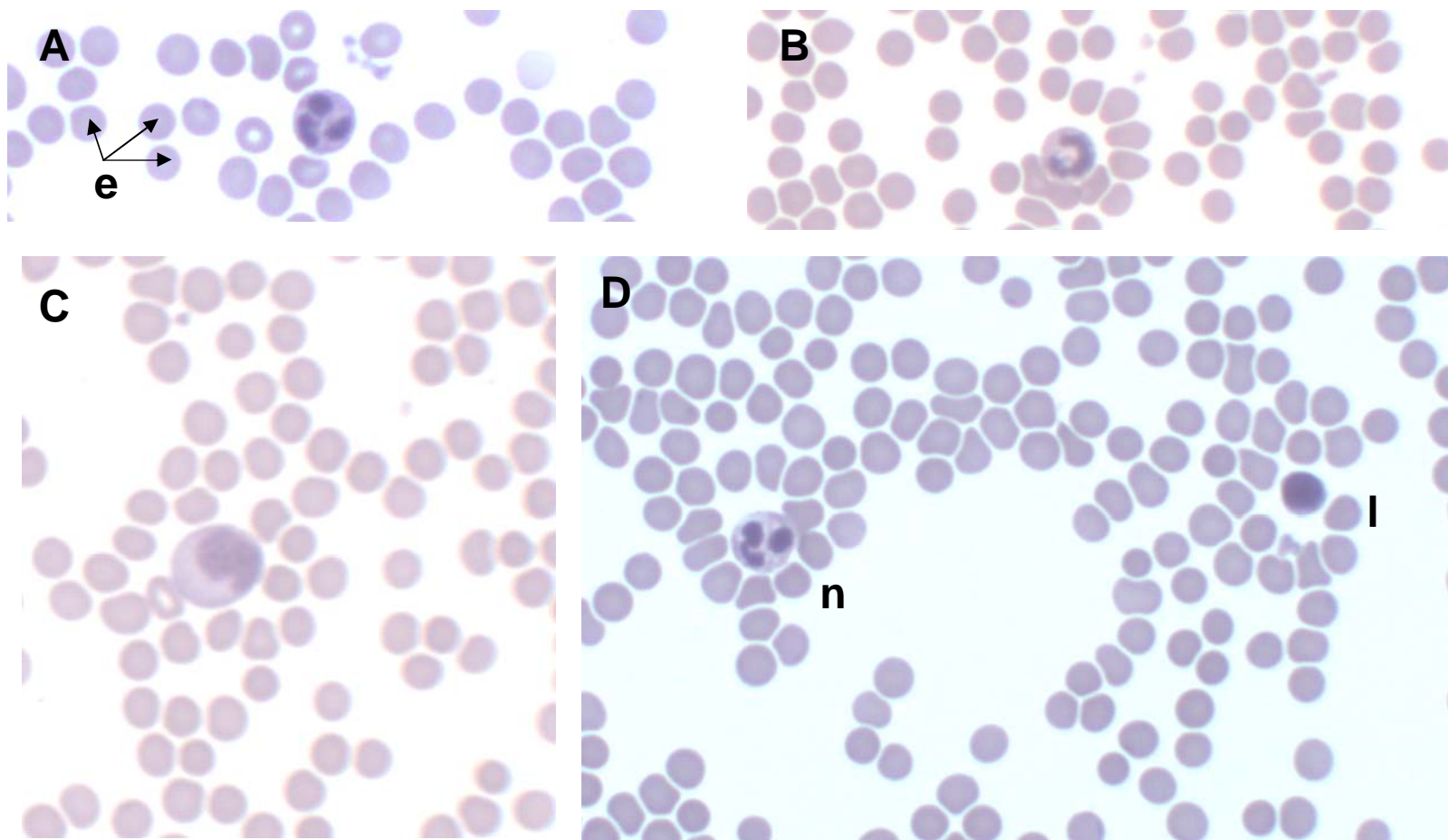


**Figura 2.2.7 - A) Visió general a baix augments d'una secció transversal d'intestí de ratolí corresponent a l'íli. B) Microfotografia que mostra la presència de nombrosos nòduls limfàtics (nl) (anomenats també plaques de Peyer) localitzats en la submucosa de l'íli. C) Detall d'un nòdul limfàtic situat a la submucosa de l'íli constituint un tret distintiu d'aquesta porció intestinal (H/E).**

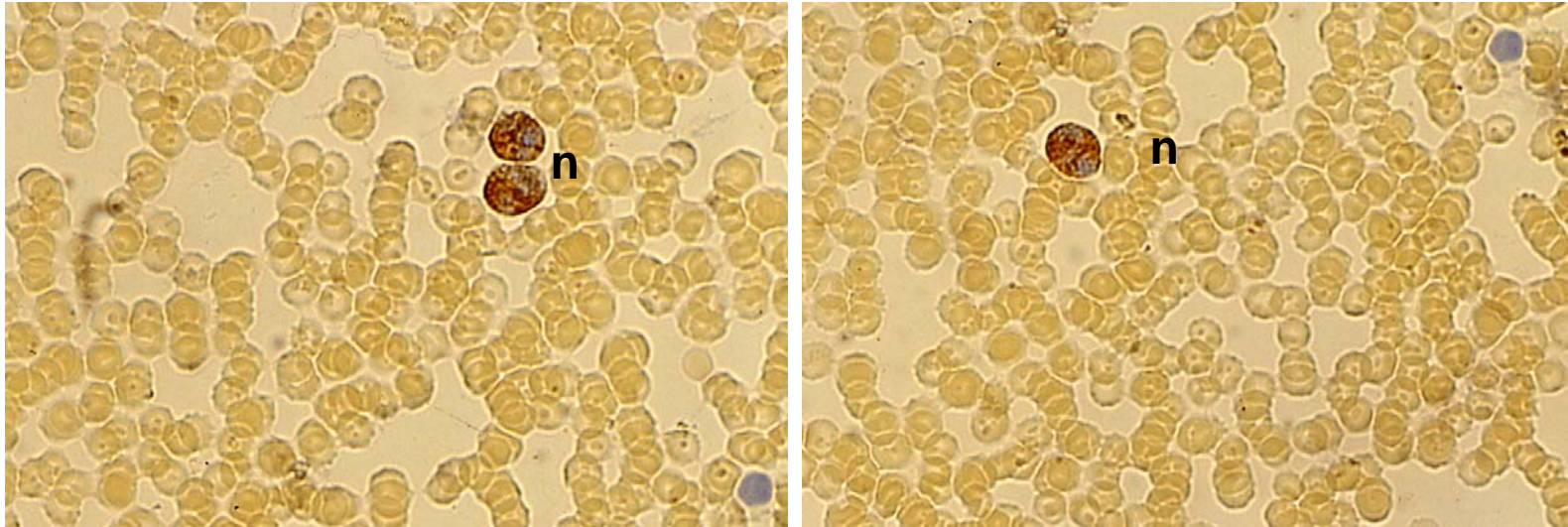


**Figura 2.2.8 – A) Microfotografia corresponent a les capes musculars circular (cmc) i longitudinal (cml) de la paret intestinal de la porció del jejú, entre les quals se situa el plexe nerviós d’Auerbach (pn). B) Detall que mostra el plexe nerviós on es poden observar diferents cossos neuronals (cn), nuclis de cèl·lules de glia (cg) i alguns axons en secció transversal (a) (H/E).**



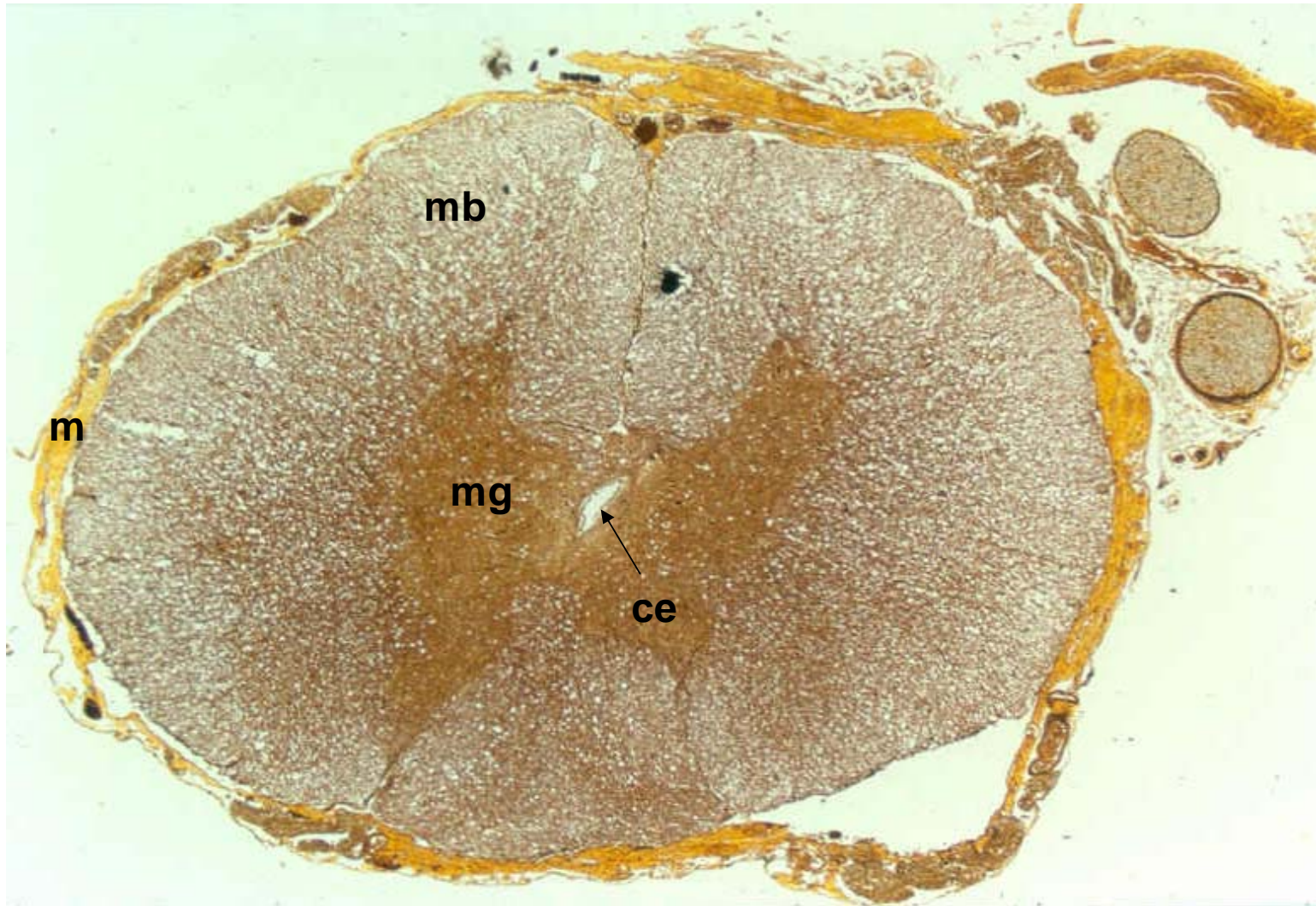


**Figura 2.3.1 – Microfotografies d’una extensió de sang humana on es poden observar els eritròcits (e), granulòcits tipus neutròfils (n) (B i C), monòcits (C) i limfòcits (l) (D) Observis les proporcions relatives entre eritròcits i leucòcits en sang (Diff-Quick).**



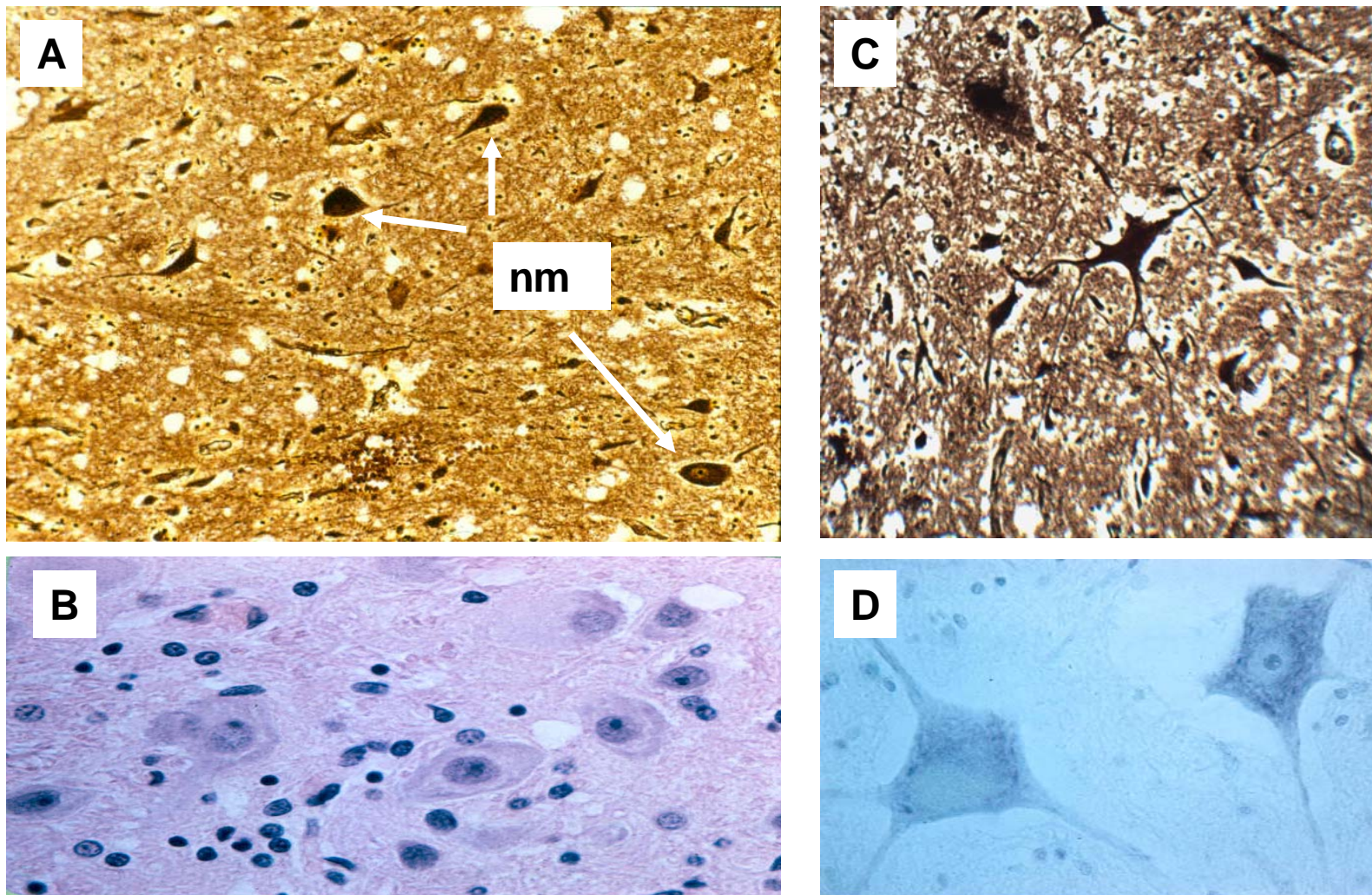
**Figura 2.3.2 – Microfotografies d’una extensió de sang humana tractades segons el protocol per a la detecció de l’enzim peroxidasa present majoritàriament en els neutròfils. S’observen un total de tres neutròfils (n) amb precipitat marró, resultant de l’oxidació del substrat DAB i que és indicatiu de la presència de l’enzim peroxidasa en el seu citoplasma. Igualment, s’observen els nuclis tenyits amb hematoxilina de dos limfòcits (l) sense cap precipitat, indicatiu de l’absència de peroxidasa endògena.**





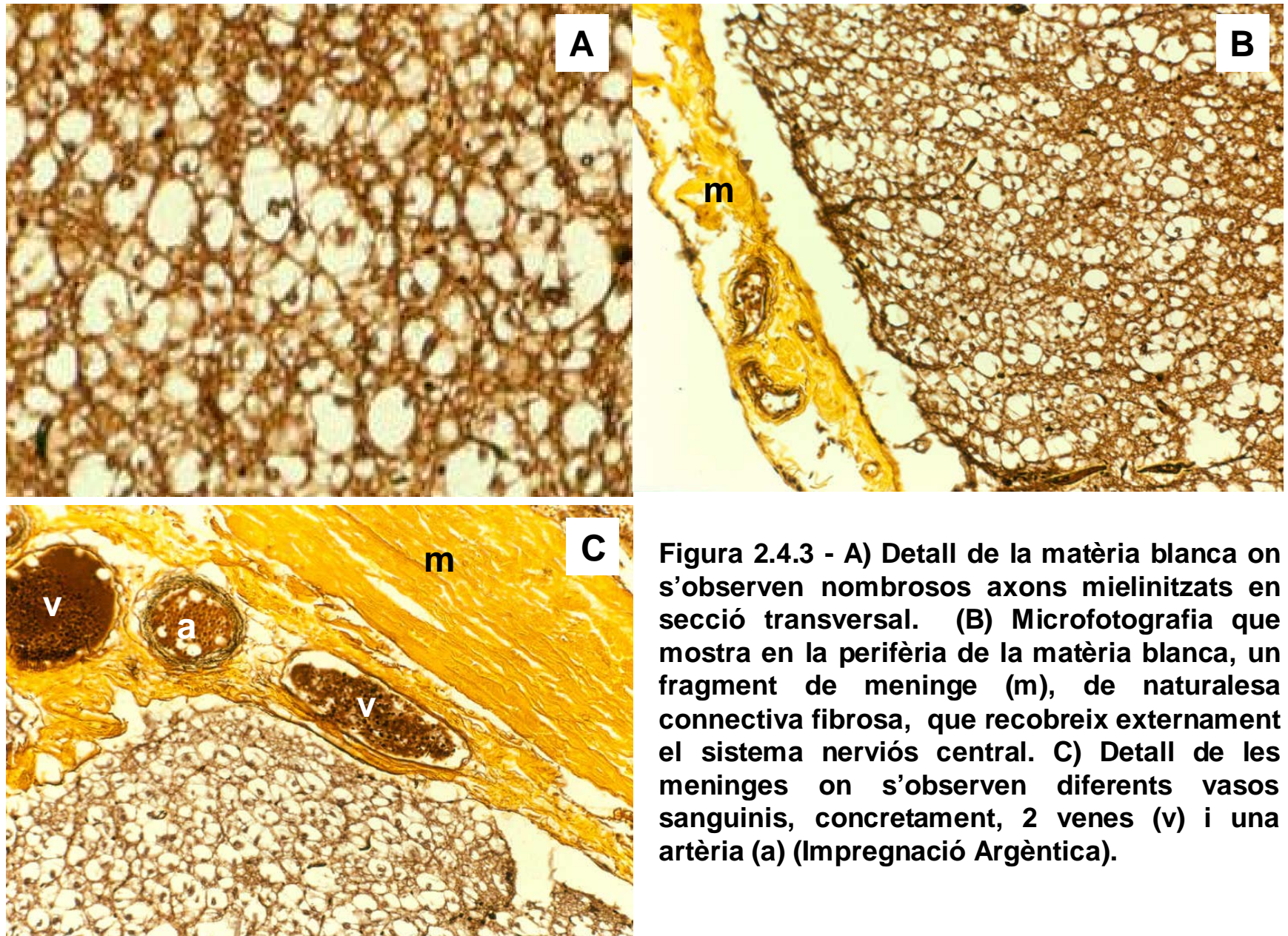
**Figura 2.4.1 - Visió general a baix augments d'una secció transversal de medul·la espinal de ratolí on es distingeix la matèria grisa (mg), la matèria blanca (mb) i les meninges (m). S'observa també el conducte endimari (ce) (Impregnació Argèntica).**





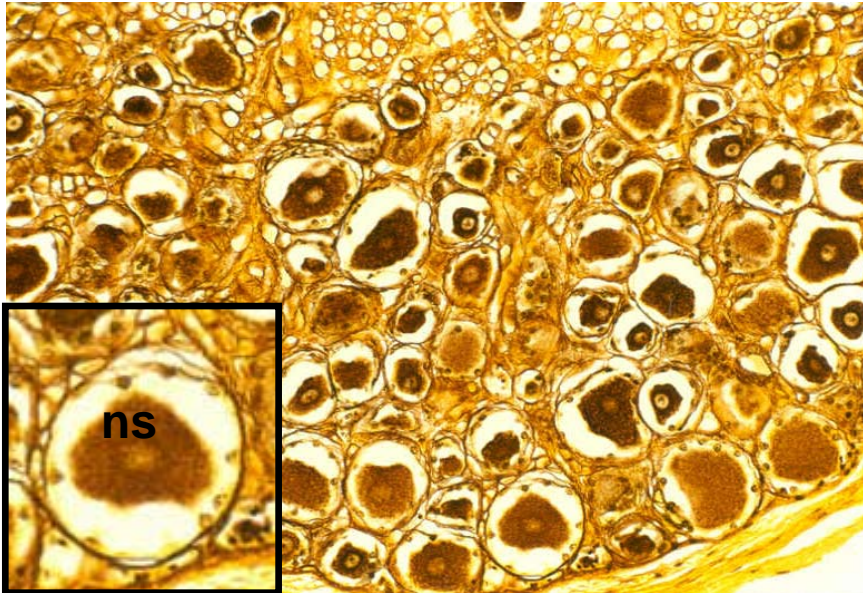
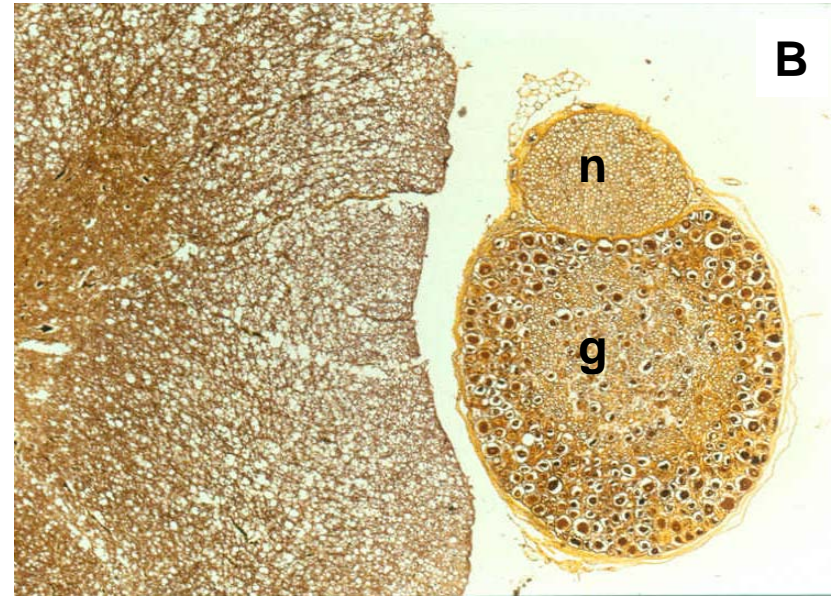
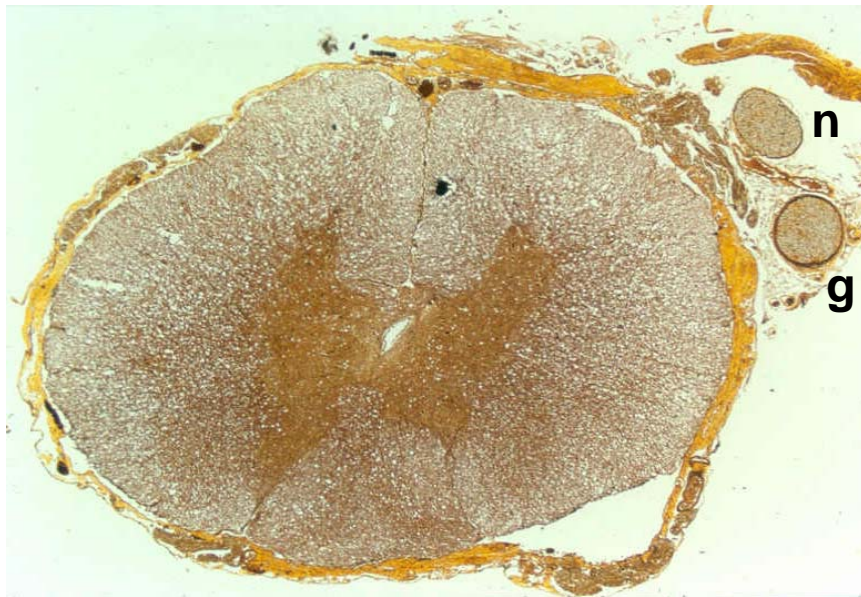
**Figura 2.4.2 - Detall de la matèria grisa de la medul·la espinal amb impregnació argènica (A) o tinció H/E (B) on es distingeixen molt bé els cossos de les neurones motores (nm), caracteritzades per les seves grans dimensions, a més de nuclis de cèl·lules de glia (més petits) i abundants capil·lars sanguinis. Detall dels somes de neurones motores després d'una impregnació argènica (C) i tinció H/E (D) amb nuclèols (nu) prominents.**





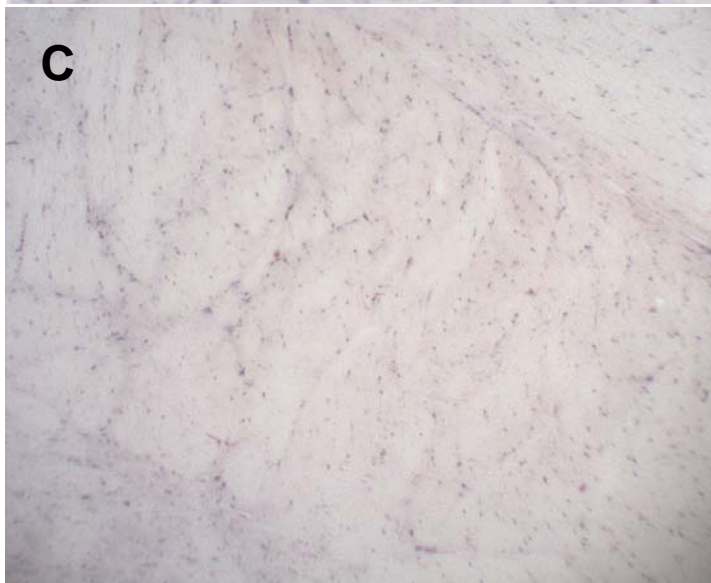
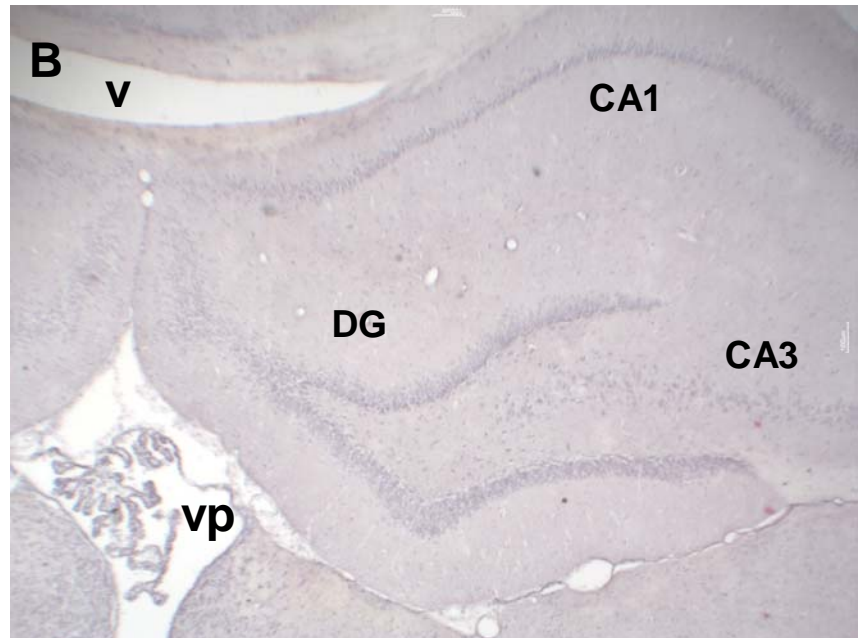
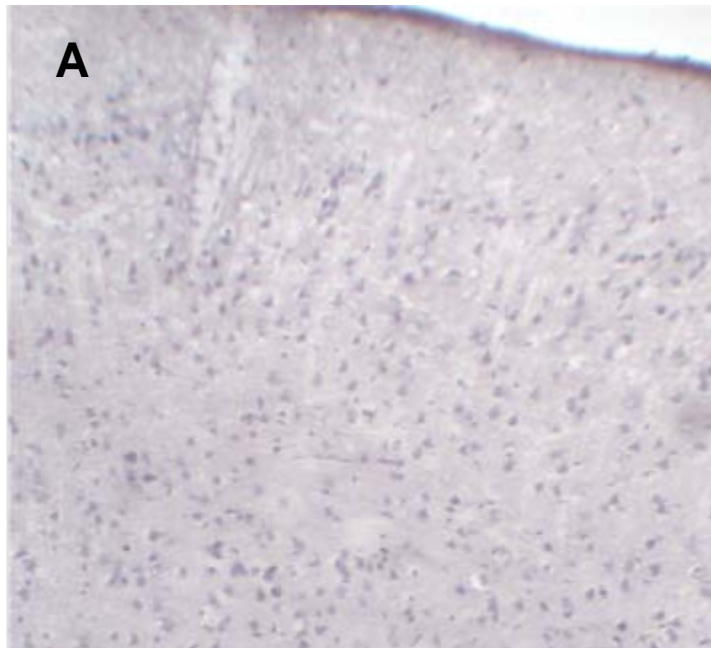
**Figura 2.4.3 - A) Detall de la matèria blanca on s'observen nombrosos axons mielinitzats en secció transversal. (B) Microfotografia que mostra en la perifèria de la matèria blanca, un fragment de meninge (m), de naturalesa connectiva fibrosa, que recobreix externament el sistema nerviós central. C) Detall de les meninges on s'observen diferents vasos sanguinis, concretament, 2 venes (v) i una artèria (a) (Impregnació Argèntica).**



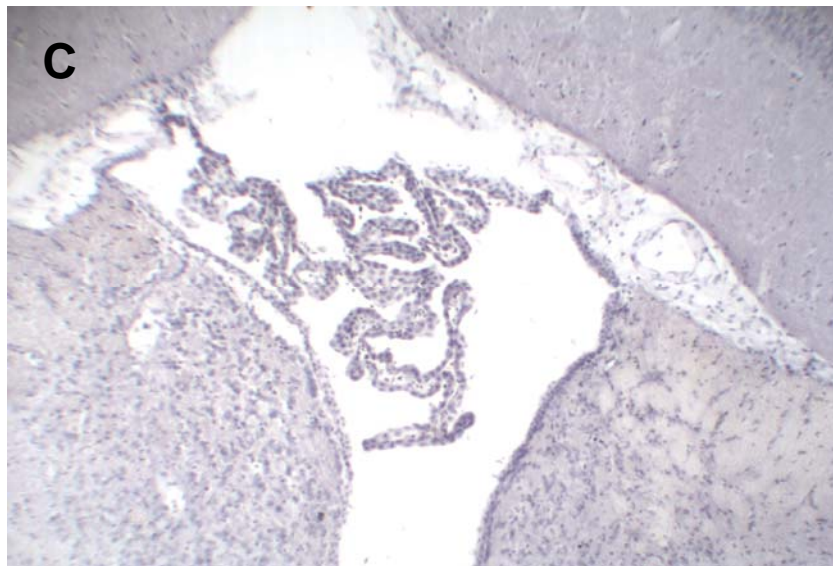
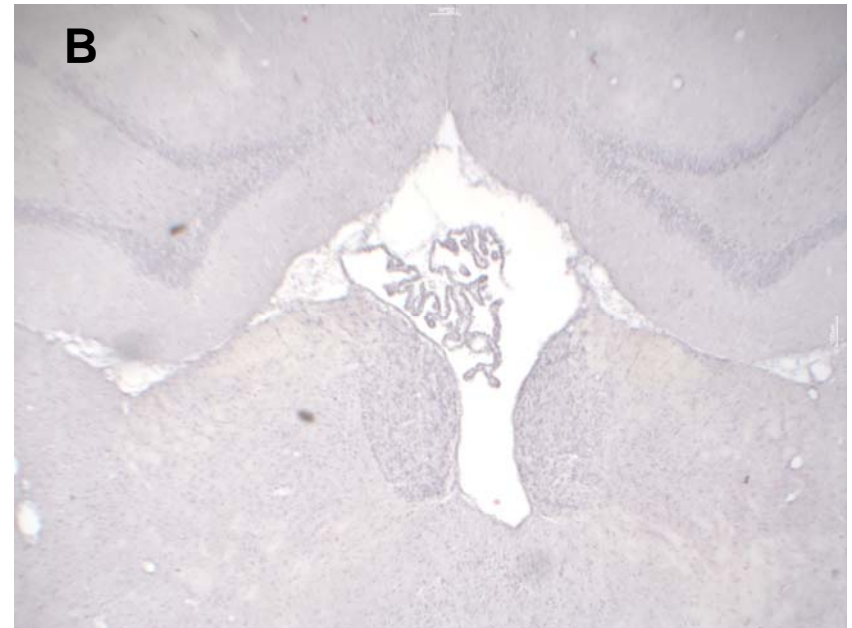
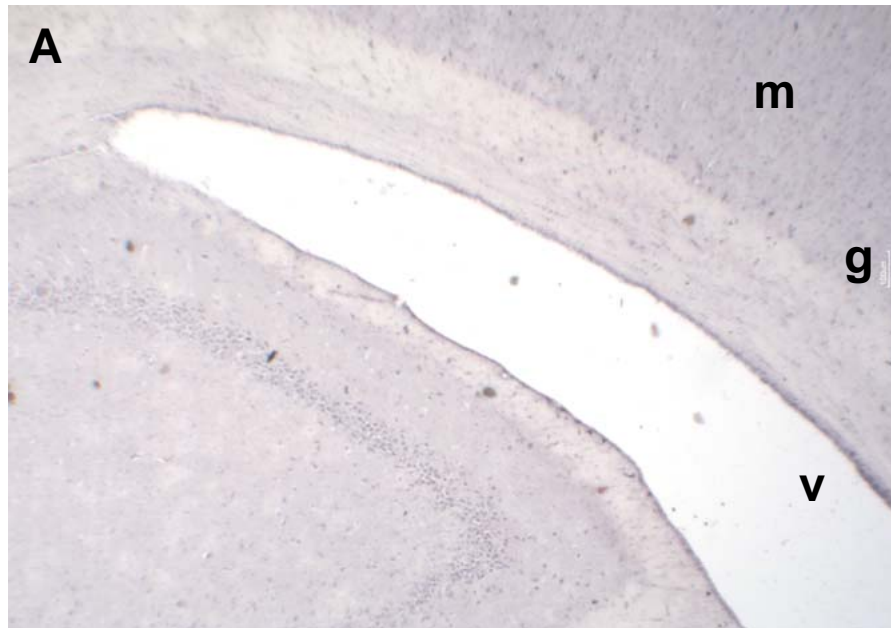


**Figura 2.4.4 - A) Visió general de la médula espinal on s'observen adjacents un nervi (n) i un gangli (g) en secció transversal. B) Detall d'un gangli nerviós adjacent on es pot observar el teixit conjuntiu que encapsula aquesta estructura. C) Detall dels cossos de les neurones sensibles (ns) que constitueixen part del gangli nerviós, envoltades de cèl·lules glials anomenades cèl·lules satèl·lit. L'espai buit que s'observa al voltant dels cossos neuronals és un espai artefactual inexistent en el teixit viu (Impregnació Argèntica).**



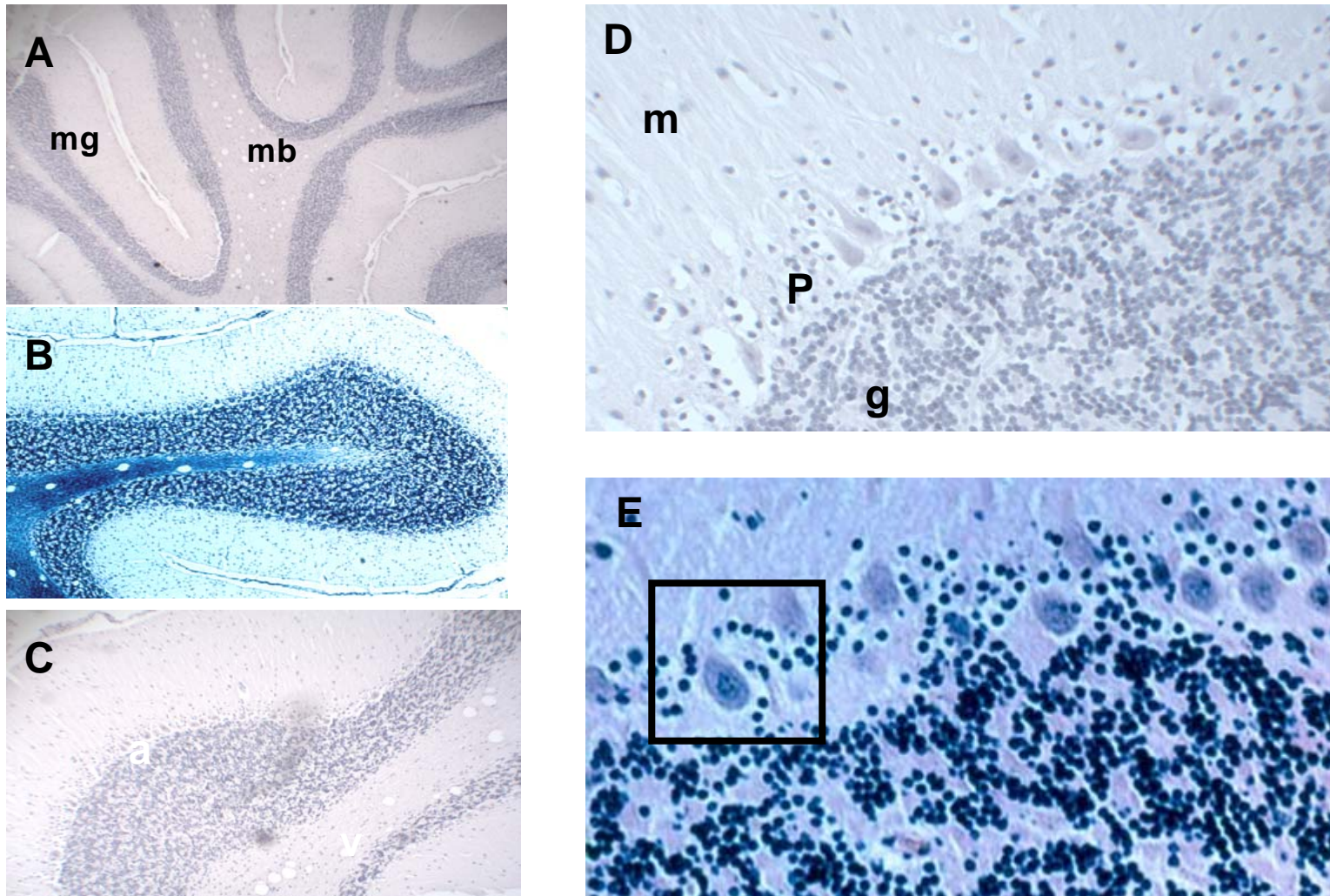


**Figura 2.4.5 - A) Detall de l'escorça cerebral tenyida amb H/E, on s'observen gran quantitat de cossos neuronals. B) Detall de l'hipocamp, una estructura encefàlica interna relacionada amb memòria i aprenentatge. S'observa la característica distribució dels cossos neuronals formant les capes CA1, CA3 i DG. S'observen també part dels ventricles amb (vp) i sense plexe corioide visible (v). C) Detall de matèria blanca en la zona més interna de l'encèfal. Els nuclis que s'observen corresponen majoritàriament a nuclis de cèl·lules glials.**



**Figura 2.4.6 – Microfotografies que mostren un ventricle (cavitat encefàlica interna plena de líquid cefaloraquí i tapiçada per un epiteli pla monoestratificat format per cèl·lules endimàries) a l'interior del qual es localitza amb plexe coroide . B) Detall d'un ventricle on es visualitza el plexe coroide, organitzat en vellositats prominents a l'interior dels ventricles. C) Detall del plexe coroide, situat en el sostre ventricular i tapiçat per cèl·lules epitelials endimàries modificades productores del líquid cefaloraquí (H/E).**



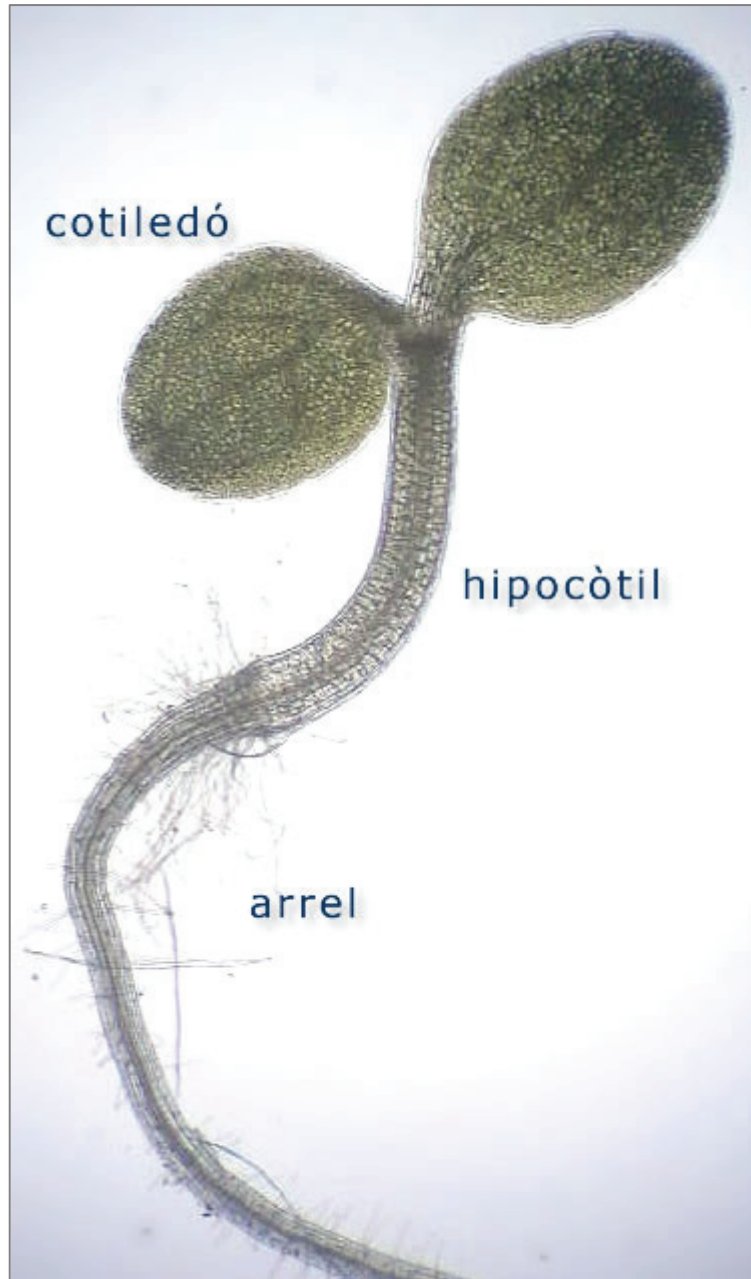


**Figura 2.4.7 - A) Microfotografia de cerebel amb la matèria blanca (mb) en posició central i la matèria grisa (mg) en posició perifèrica. Visió general (B) i més detallada (C) de l'escorça cerebelosa. D) Detall de les tres capes d'escorça cerebelosa: molecular (m), de Purkinje (P) i granular (g) . E) Detall de les cèl·lules de Purkinje (H/E: A-E excepte B: Blau de Toloudina).**

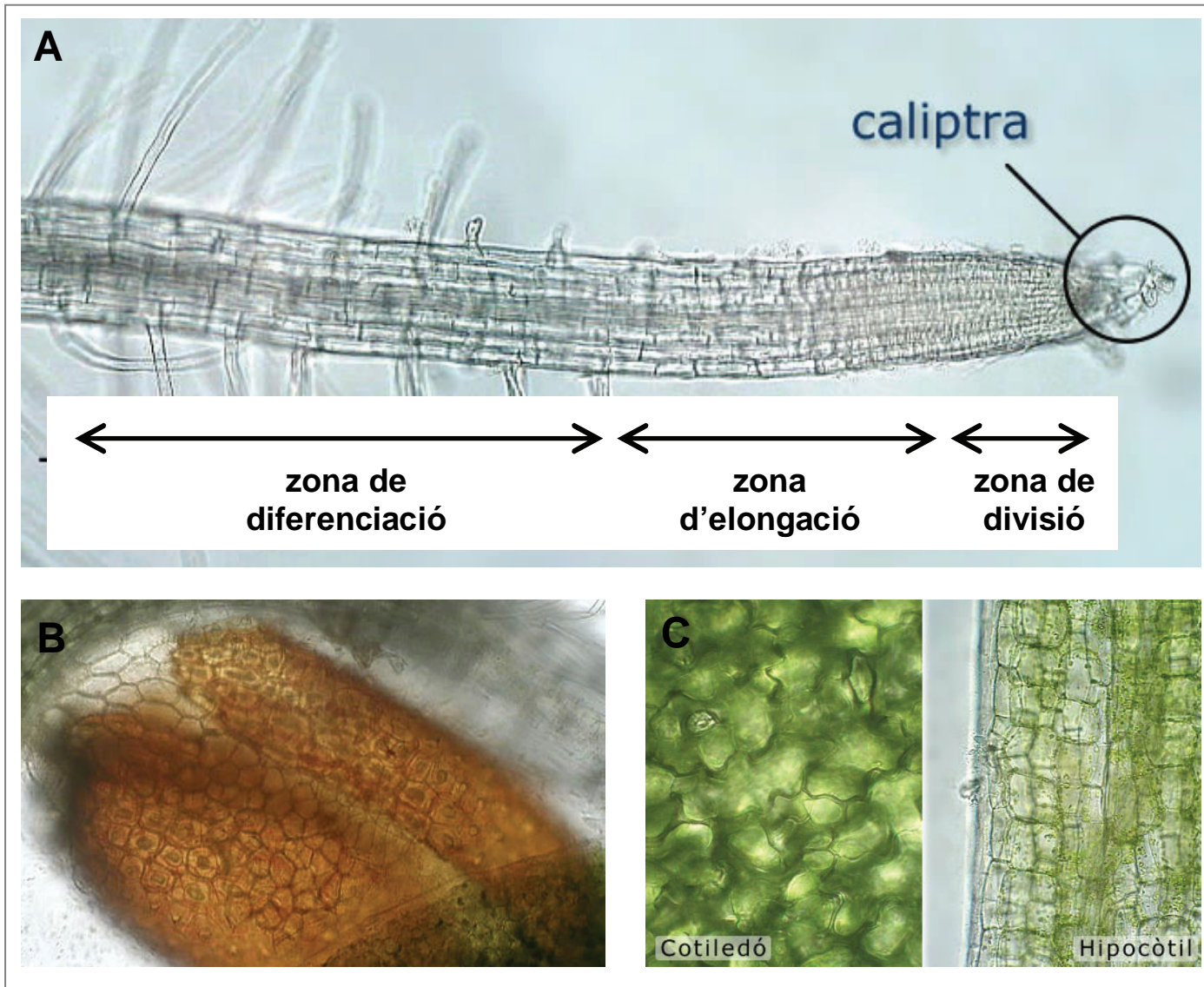


# Col·lecció de microfotografies de citologia i histologia vegetal

*Diagnòstic histològic animal i vegetal. ISBN 978-84-8458-396-7. UdG.*

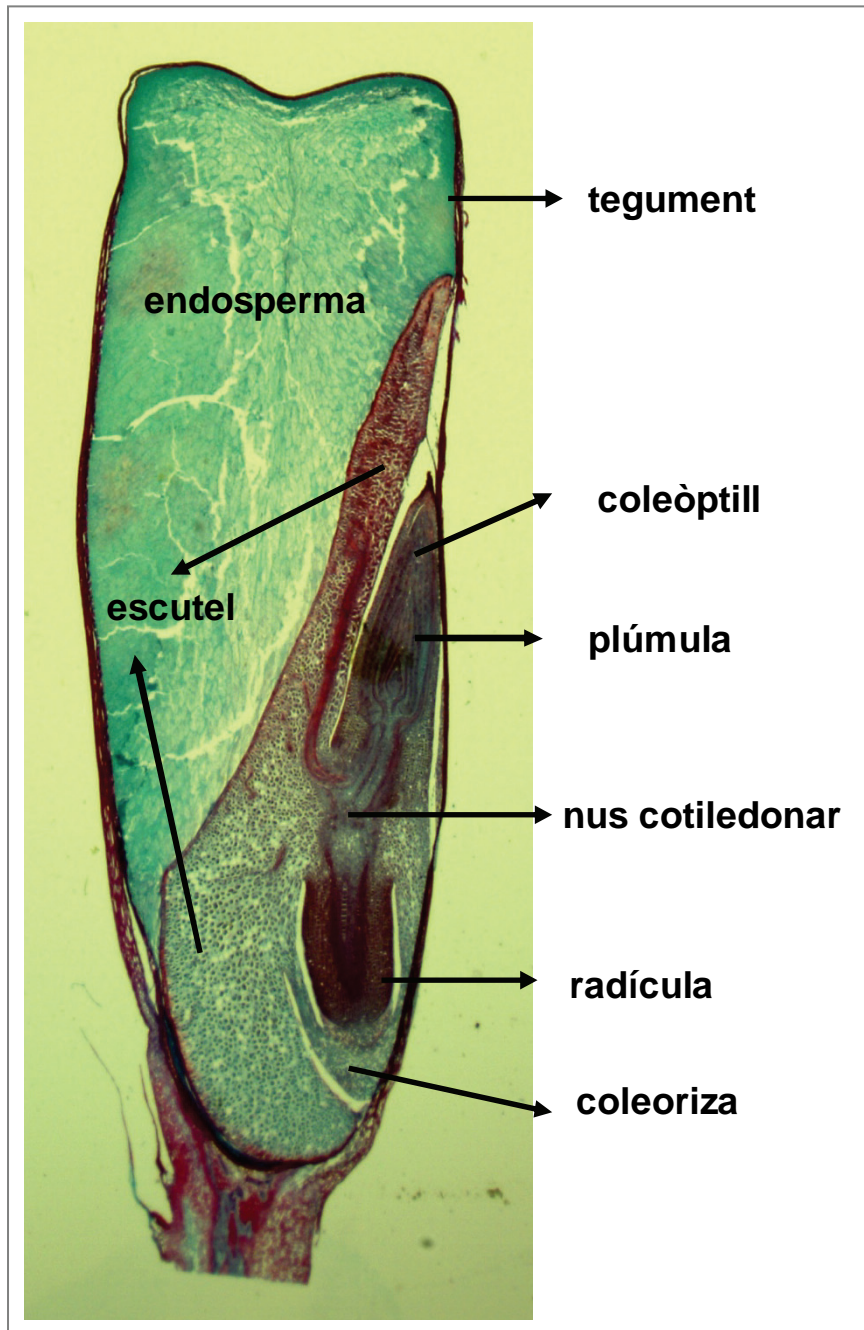


**Figura 3.1.1. - Plàntula d'*Arabidopsis thaliana* 3 dies després de la germinació, microscopi de camp clar. S'observen els cotilèdons, l'hipocòtil i l'arrel amb els pèls absorbents. Noteu la continuïtat del sistema vascular a l'interior dels òrgans de la planta.**



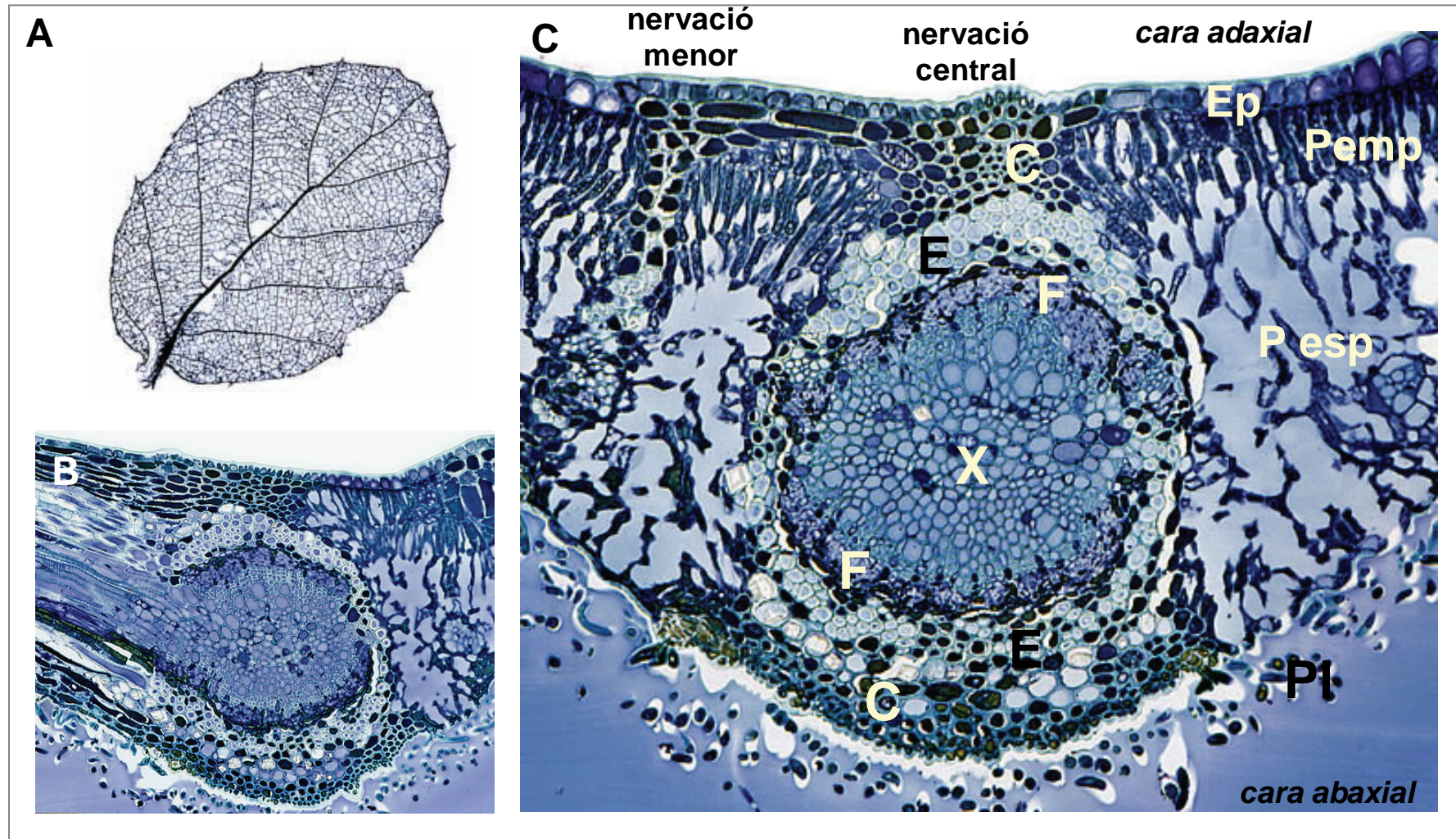
**Figura 3.1.2. - Plàntula d'*Arabidopsis thaliana*. A. Arrel primària mostrant la caliptra i les zones de divisió, d'elongació i el gradient de diferenciació de l'arrel. B. Càpsula de la llavor mostrant l'epidermis esclerificada. C. Imatge del cotiledó (esquerre) i de l'hipocòtil (dreta) mostrant les cèl·lules que els componen.**





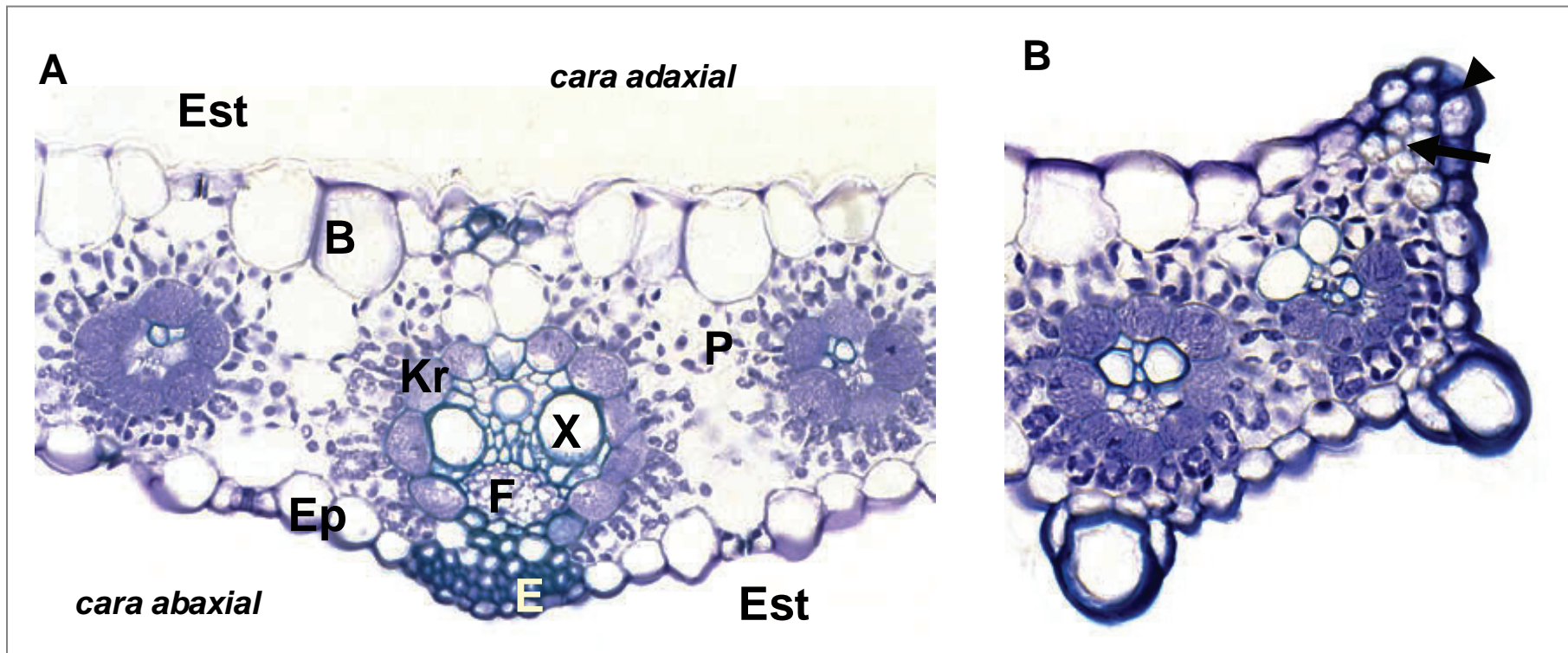
**Figura 3.1.3. - Llavor de blat de moro (*Zea mays*) en secció longitudinal. S'observa el tegument, l'endosperma, l'escutel (cotilèdon) i l'embrió. Aquest últim està format per la plúmula i la radícula, unides per l'eix embrionari i protegides per dues beines embrionàries anomenades coleòptil i coleoriza respectivament. L'embrió i l'escutel estan connectats pel nus cotiledonar.**





**Figura 3.2.1. - Fulla de surera (*Quercus suber*). A .Fulla clarificada que mostra la distribució pennada de la nervació i la xarxa de nervis menors. B. Tall transversal mostrant el nervi central i l'inici d'una nervació secundària tallada obliquament. C. Tall transversal mostrant el nervi central, nervació menor, l'epidermis i el mesofil·le de la fulla amb el parènquima. X:xilema, F: floema, E: esclerènquima, C: col·lènquima, Pemp: Parènquima empalissat; Pesp: Parènquima esponjós, Ep: epidermis, PI: pèls.**





**Figura 3.2.2. – Fulla de blat de moro (*Zea mays*) en secció transversal tenyida amb blau de Toluidina. Observeu l'orientació en paral·lel de les nervacions i la disposició al seu voltant del parènquima formant una beina de cèl·lules grosses (beina de Kranz). A. Una nerviació major i dues menors mostren el teixit vascular, xilema i floema, en contacte amb les cèl·lules de Kranz. Observeu també la presència de cèl·lules d'esclerènquima per sostenir la nervació central. L'epidermis presenta estomes a totes dues cares i cèl·lules bulbiformes (B) a la cara adaxial (anvers). B. Tall pel marge de la fulla. Les cèl·lules de l'epidermis situades al caire de la fulla són petites i lignifiades (punta de fletxa) i envolten una petita massa de parènquima col·lenquimatós subepidèrmic (fletxa). X:xilema, F: floema, E: esclerènquima, Ep: epidermis, P: parènquima, Est: estoma, Kz: cèl·lules de Kranz.**



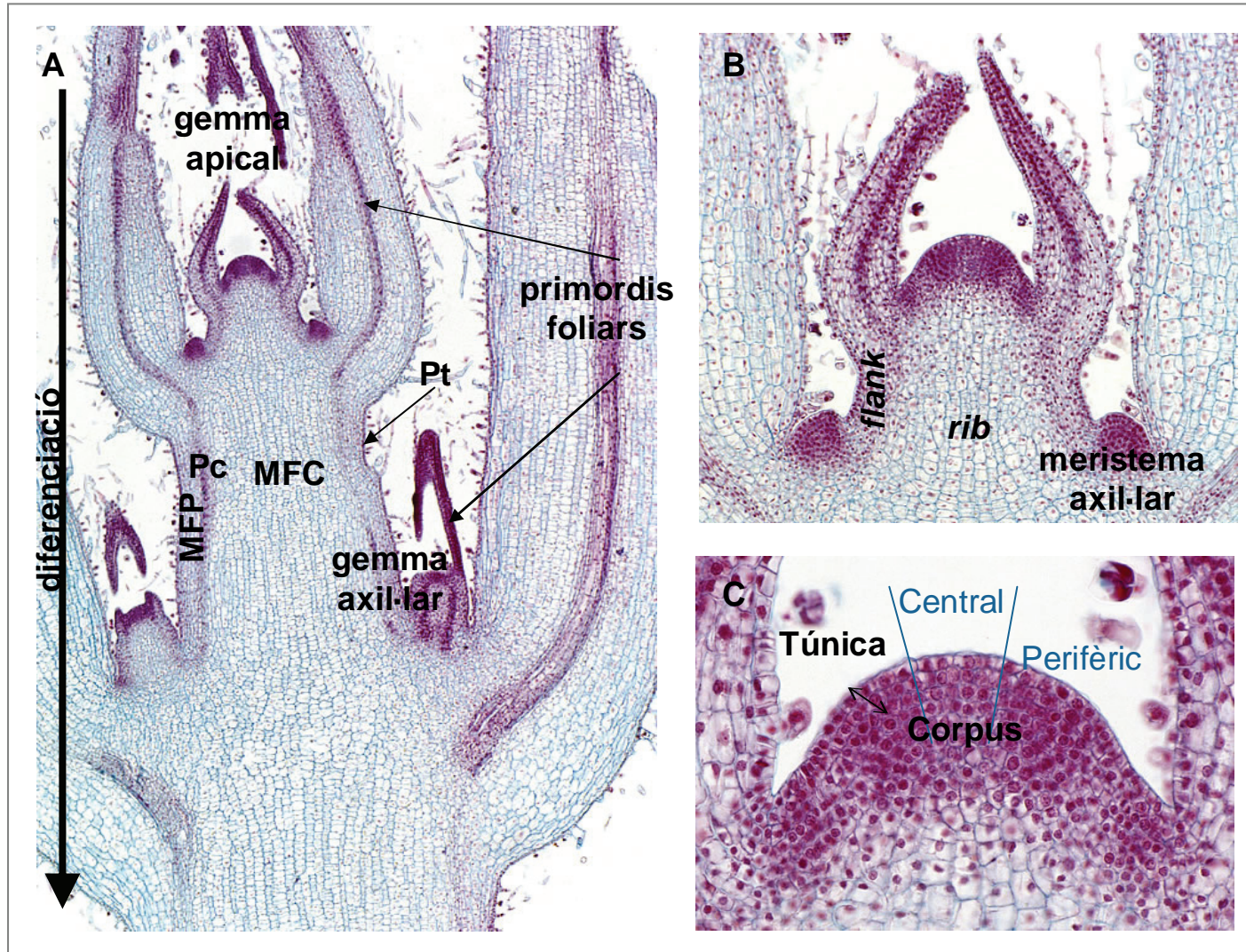
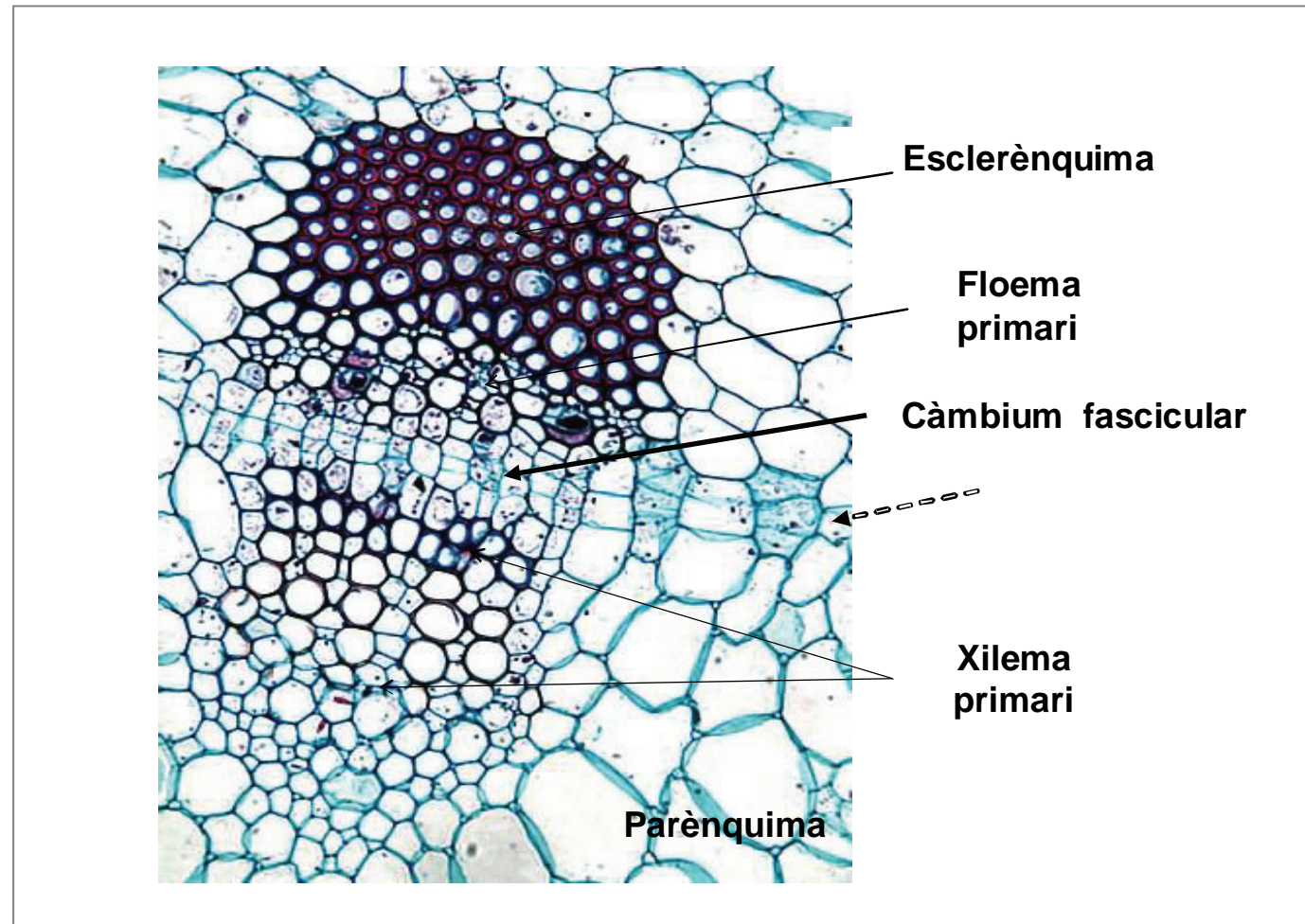


Figura 3.3.1. - Àpex de còleus (*Coleus sp.*) en secció longitudinal tenyit amb safranina/blau d'anilina. A. Visió general que mostra el gradient de diferenciació i la formació dels histògens: procàmbium, protoderma i meristema fonamental (central i perifèric). B. Detall de l'anterior on s'observen els meristemes *flank* (lateral) i *rib* (costal) i els meristemes axil-lars a la base dels primordis. C. Detall mostrant el promeristema amb les estructures túnica /corpus i central/perifèric. Pc: procàmbium, MFC: meristema fonamental central, MFP: meristema fonamental perifèric, Pt: protoderma.



**Figura 3.3.2. - Feix vascular primari d'una dicotiledònia. Tija de còleus (*Coleus sp.*). Observeu el caràcter obert del feix on s'inicia la transformació del procàmbium en càmbium fascicular. S'observen també senyals de la desdiferenciació les cèl·lules del parènquima interfascicular (fletxa discontinua).**



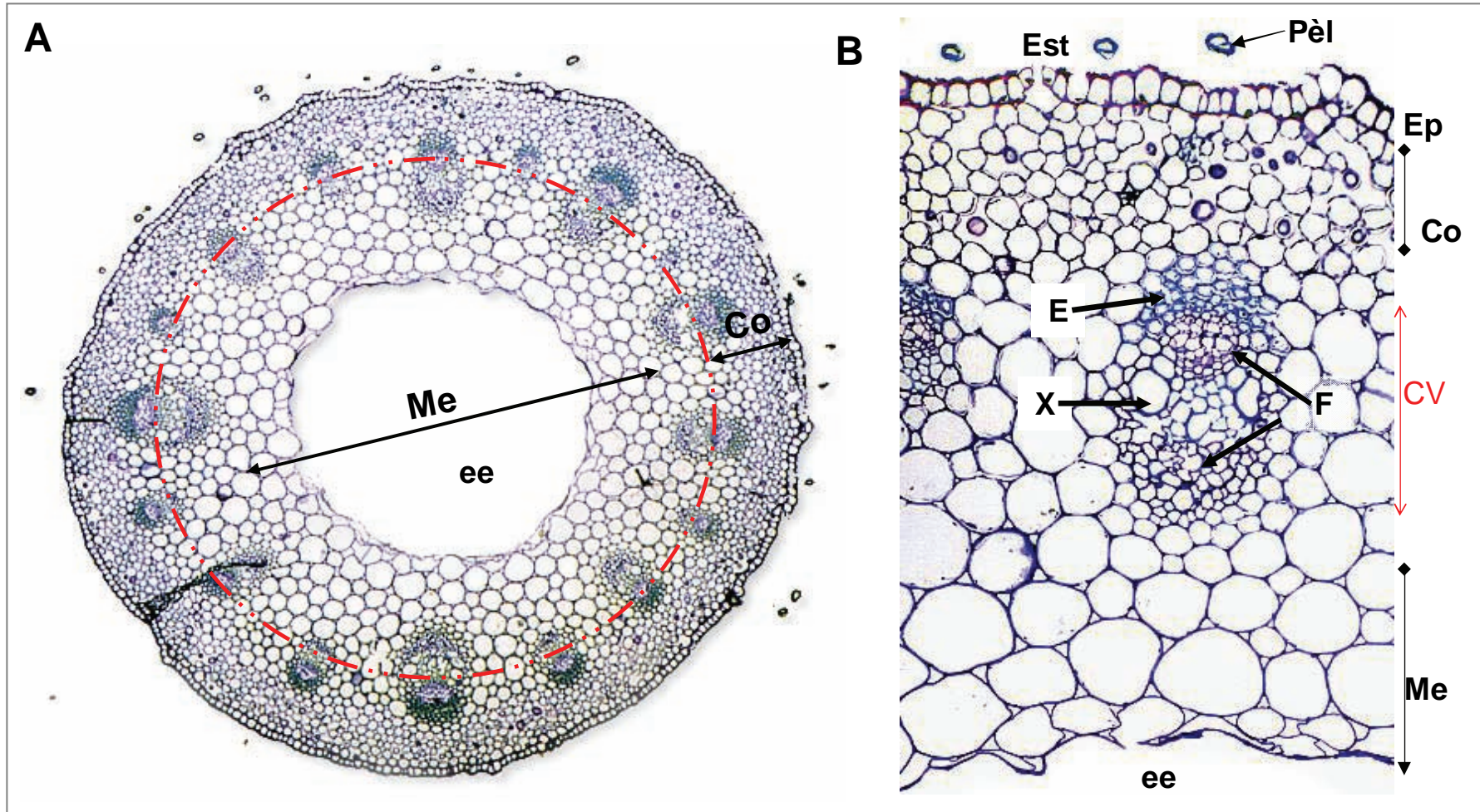
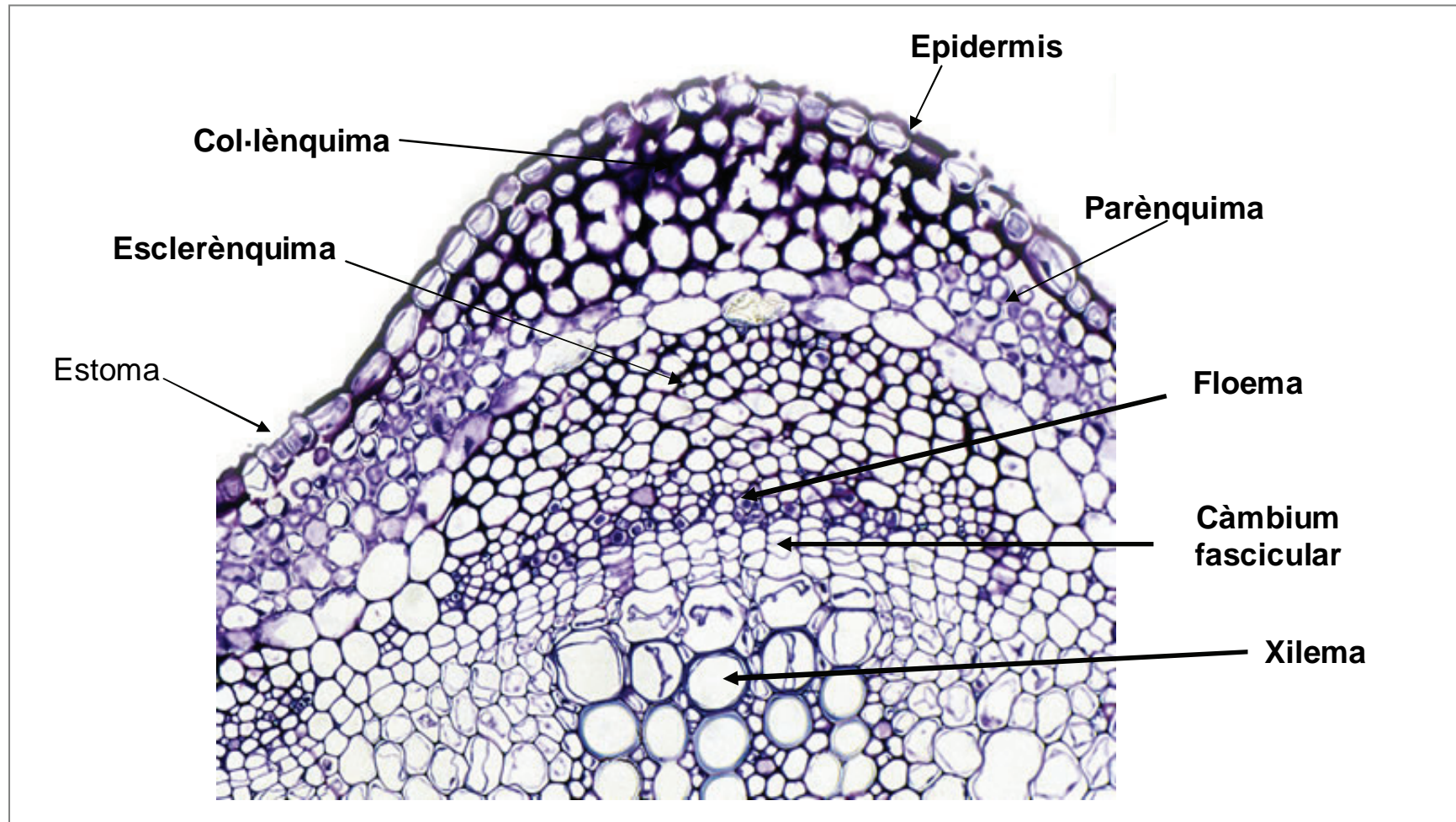


Figura 3.3.3. - Tija de ranuncle (*Ranunculus sp.*) (dicotiledònia) tallada transversalment. A. Vista general on s'observa la presència d'un cilindre vascular obert (marcat amb vermell discontinu) i una àmplia medul·la amb un gran espai esquizogènic central. B. Detall de l'anterior. Ep: epidermis, Co: Còrtex, CV: cilindre vascular, Me: medul·la, Est: estoma, F: floema, X: xilema, E: esclerènquima.





**Figura 3.3.4. - Tija primària de menta (*Mentha sp.*) (dicotiledònia). S'observa l'epidermis amb estomes. El còrtex mostra el parènquima fotosintètic i un feix de col·lènquima situat oposadament al feix vascular. El feix vascular és obert i a l'interior ha començat la formació del càmbium fascicular.**

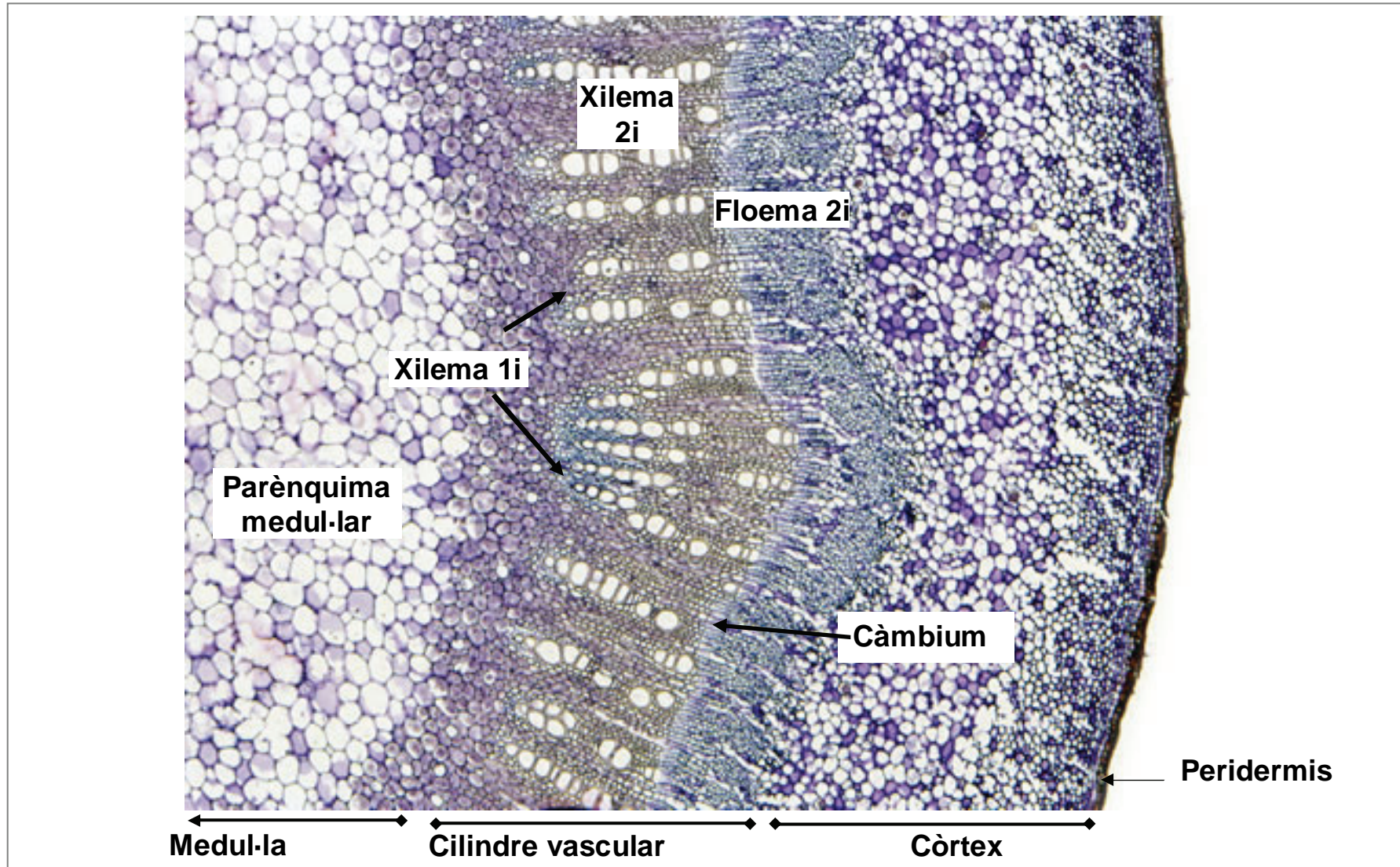
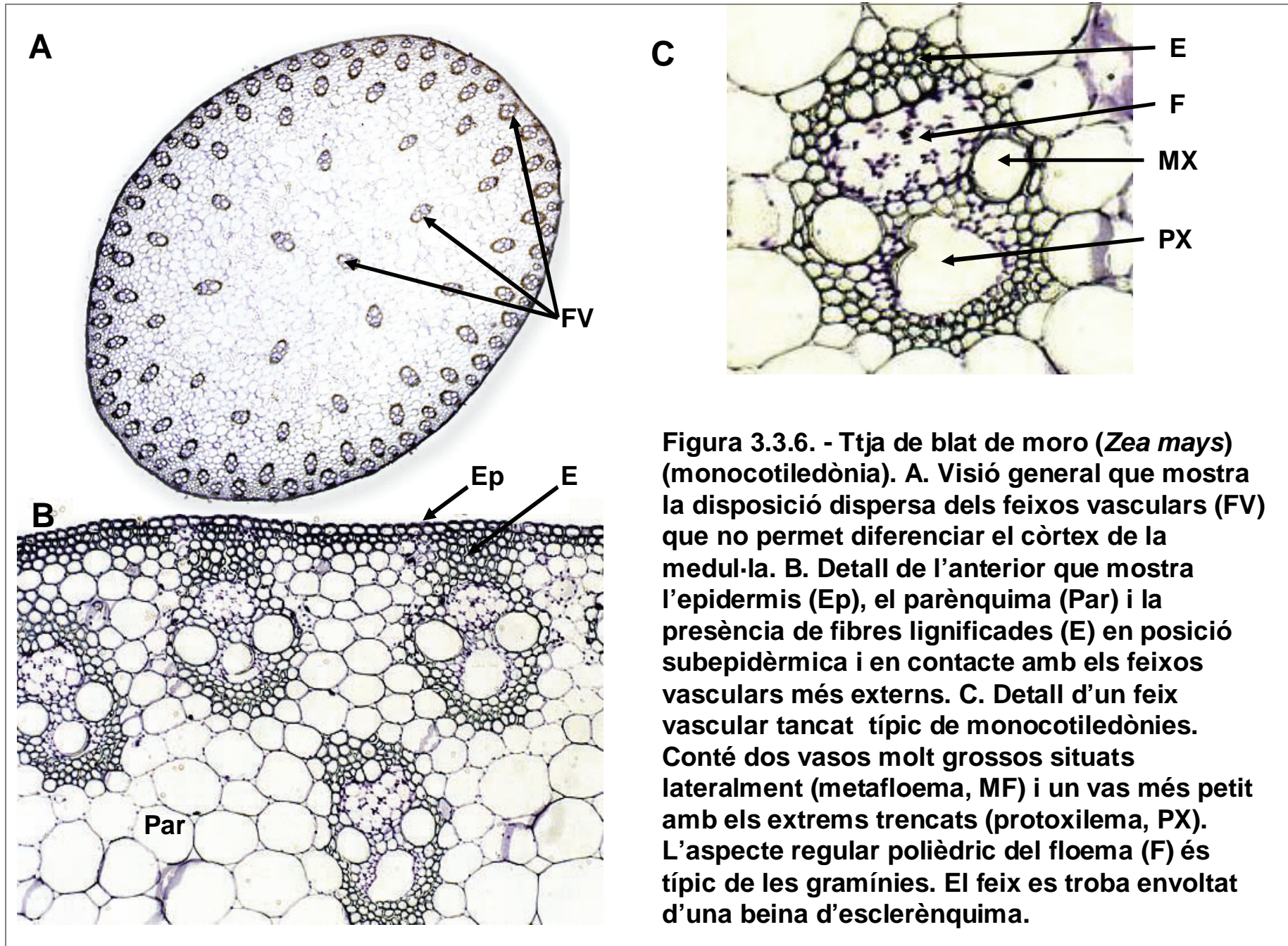


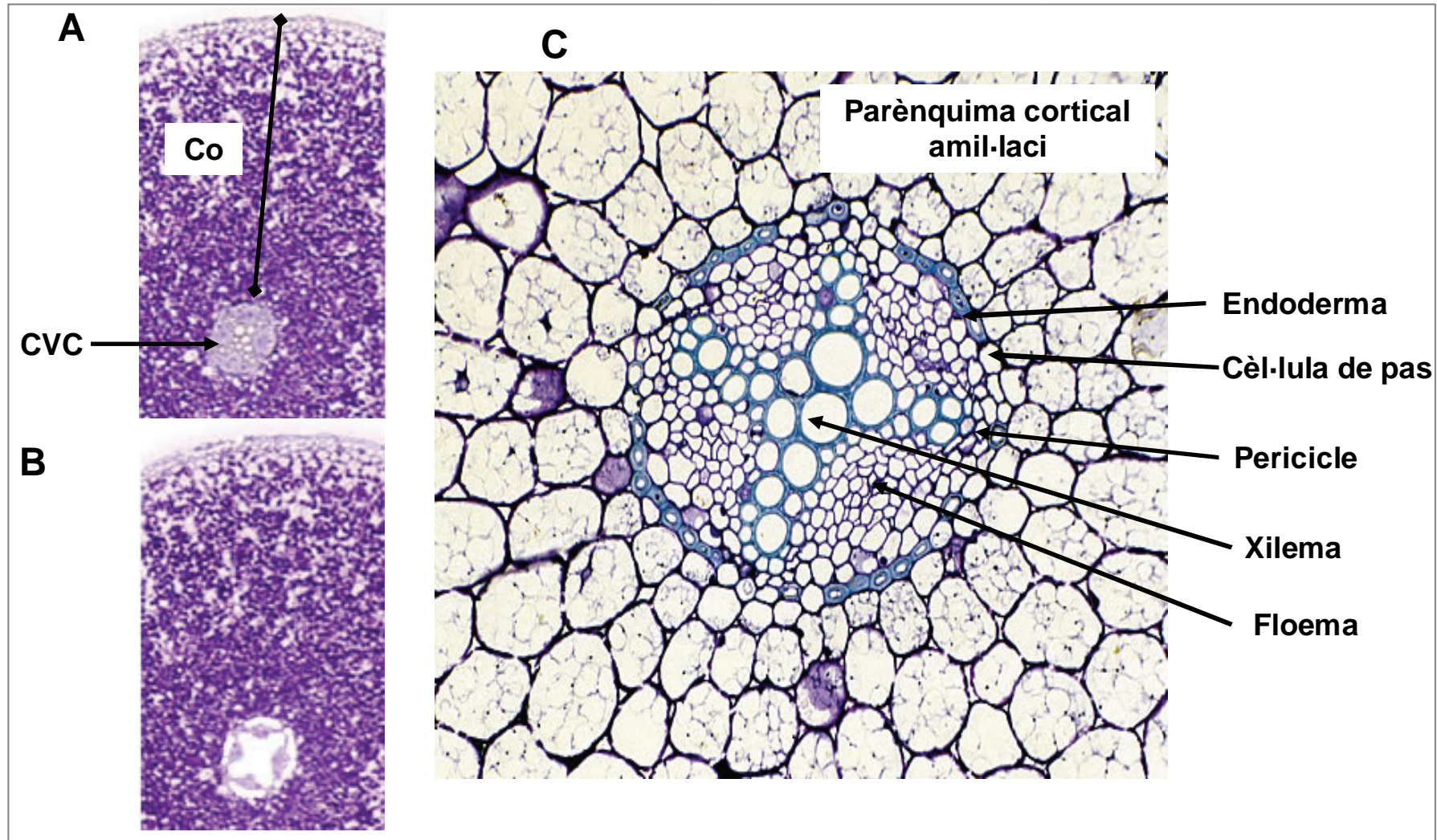
Figura 3.3.5. - Brot jove de figuera (*Ficus carica*) quan ha iniciat el creixement secundari. S'observa la fina línia del càmbium entre el xilema i el floema secundaris.





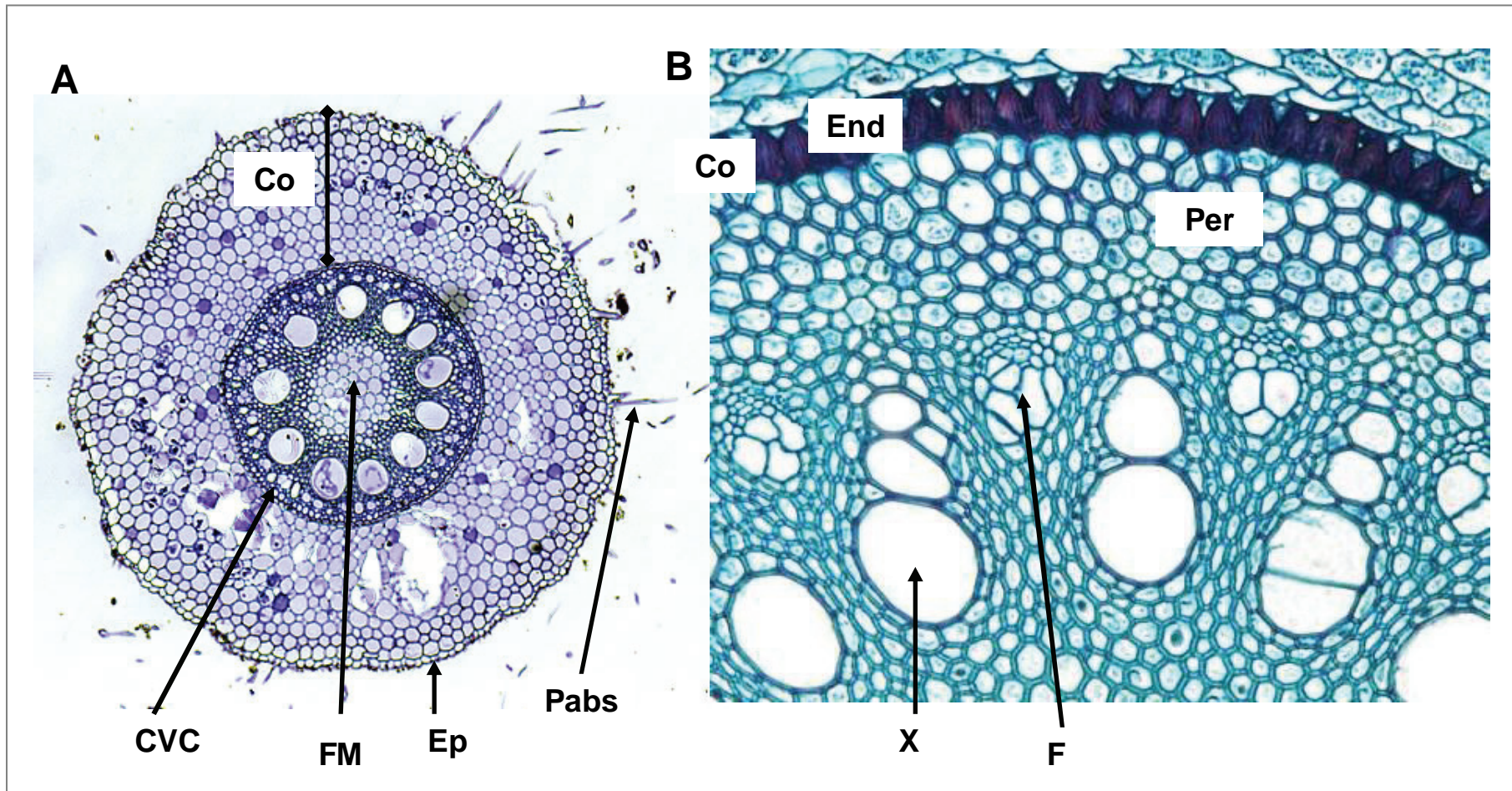
**Figura 3.3.6. - Ttja de blat de moro (*Zea mays*) (monocotiledònia). A. Visió general que mostra la disposició dispersa dels feixos vasculars (FV) que no permet diferenciar el còrtex de la medul·la. B. Detall de l'anterior que mostra l'epidermis (Ep), el parènquima (Par) i la presència de fibres lignificades (E) en posició subepidèrmica i en contacte amb els feixos vasculars més externs. C. Detall d'un feix vascular tancat típic de monocotiledònies. Conté dos vasos molt grossos situats lateralment (metafloema, MF) i un vas més petit amb els extrems trencats (protoxilema, PX). L'aspecte regular polièdric del floema (F) és típic de les gramínies. El feix es troba envoltat d'una beina d'esclerènquima.**



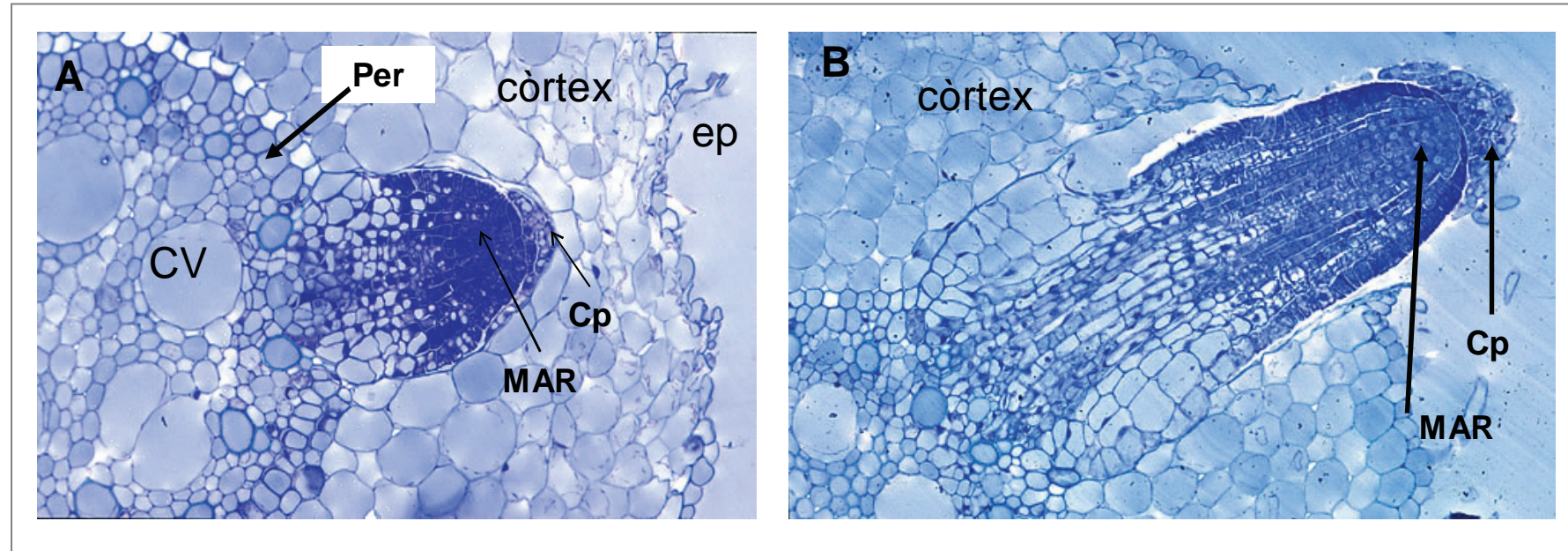


**Figura 3.4.1. - Arrel de ranuncle (*Ranunculus sp.*) (dicotiledònia) en secció trasnversal. A. Visió general que mostra el cilindre vascular central (CVC) i el còrtex (Co). B. Ídem anterior amb llum polaritzada. C. Detall del cilindre central on s'observa la presència de quatre pols de xilema i quatre de floema (arrel tetrarca). Vegeu també el endoderma amb les cèl·lules amb paret secundària lignificada i suberificada que manté les cèl·lules de pas amb paret prima.**





**Figura 3.4.2. - Arrel de blat monocotiledònies en secció transversal. A. Visió general d'una arrel de blat de moro (*Zea mays*) on s'observa el còrtex (Co) i el cilindre vascular central (CVC) el qual presenta onze pols de xilema i floema (arrel poliarca) i el centre ocupat per teixit parenquimàtic derivat del procàmbium (falsa medul·la, FM). B. Detall d'una arrel de gramínia on s'observa l'alternança de pols de xilema (X) i floema (F), el pericicle (Per) pluriestratificat i l'endodermis (End) lignificada i/o suberificada. Ep: epidermis, Pabs: pèls absorbents.**



**Figura 3.4.3. – Formació d’una arrel secundària en blat de moro (*Zea mays*) (monocotiledònia). A. Estadi inicial mostrant el desenvolupament del meristema apical i la caliptra i el creixement a través del còrtex. B. Estadi més avançat quan l’arrel arriba a l’exterior. S’observa la connexió del procàmbium amb el sistema vascular de l’arrel mare. MAR: meristema apical de l’arrel, Cp: caliptra, CV: cilindre vascular.**



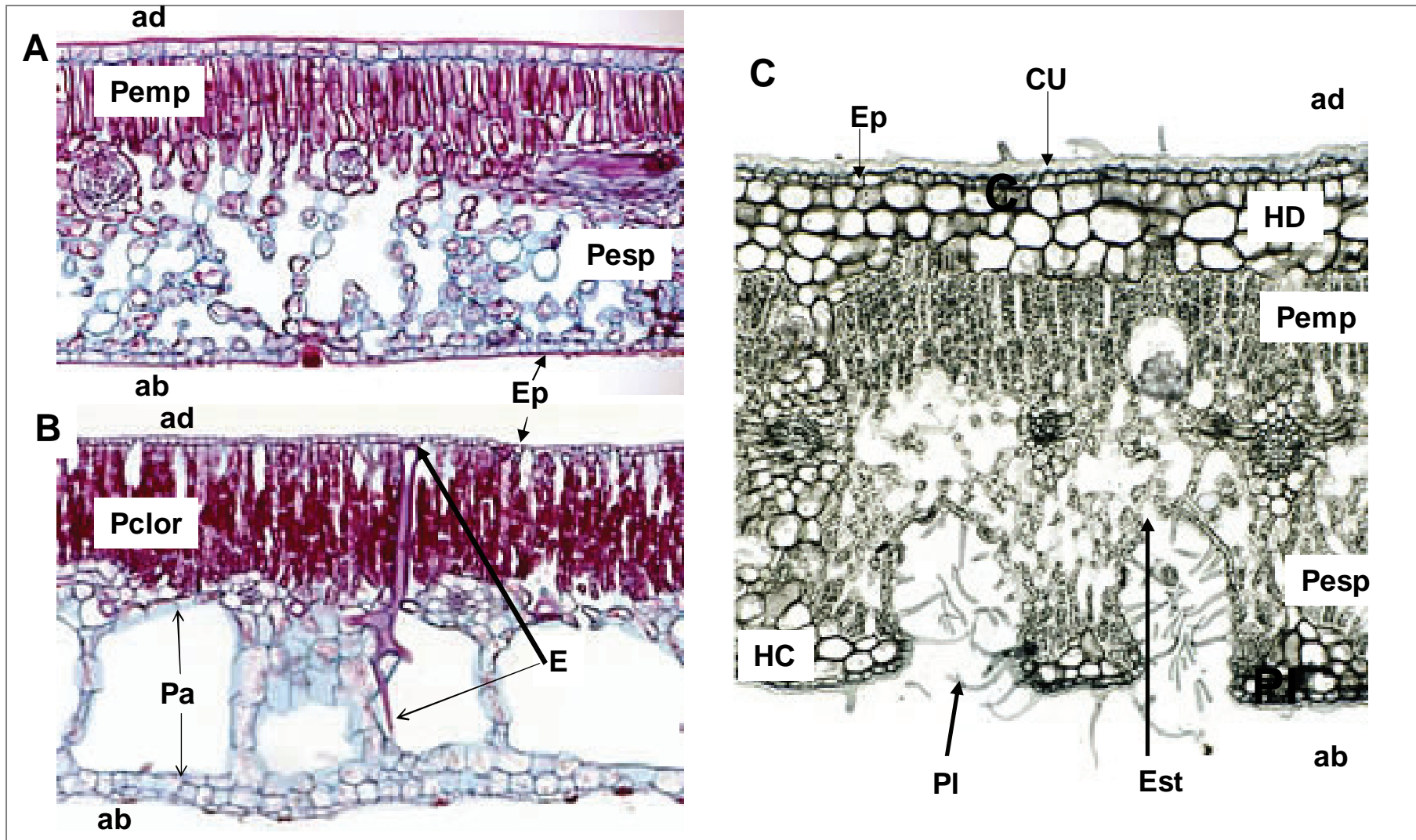


Figura 3.6.1. - Adaptació de les fulles a ambients mesofítics, hidrofítics i xerofítics amb desenvolupaments diferencials de l'epidermis i la cutícula i la disposició de parènquima fotosintètic i d'altres estructures específiques. A. Fulla de perera (*Pyrus communis*) (mesofítica). B. Fulla de nenúfar (*Nymphaea alba*) (hidrofítica). C. Fulla de baladre (*Nerium oleander*) (xerofítica). Pemp: Parènquima empalissat; Pesp: Parènquima esponjós, Pa: parènquima aerífer, Pclor: parènquima clorofític, Ep: epidermis, PI: pèls, est: estoma, CU: cutícula, E: esclereida, HC: hipodermis de col·lènquima, ad: cara adaxial, ab: cara abaxial.

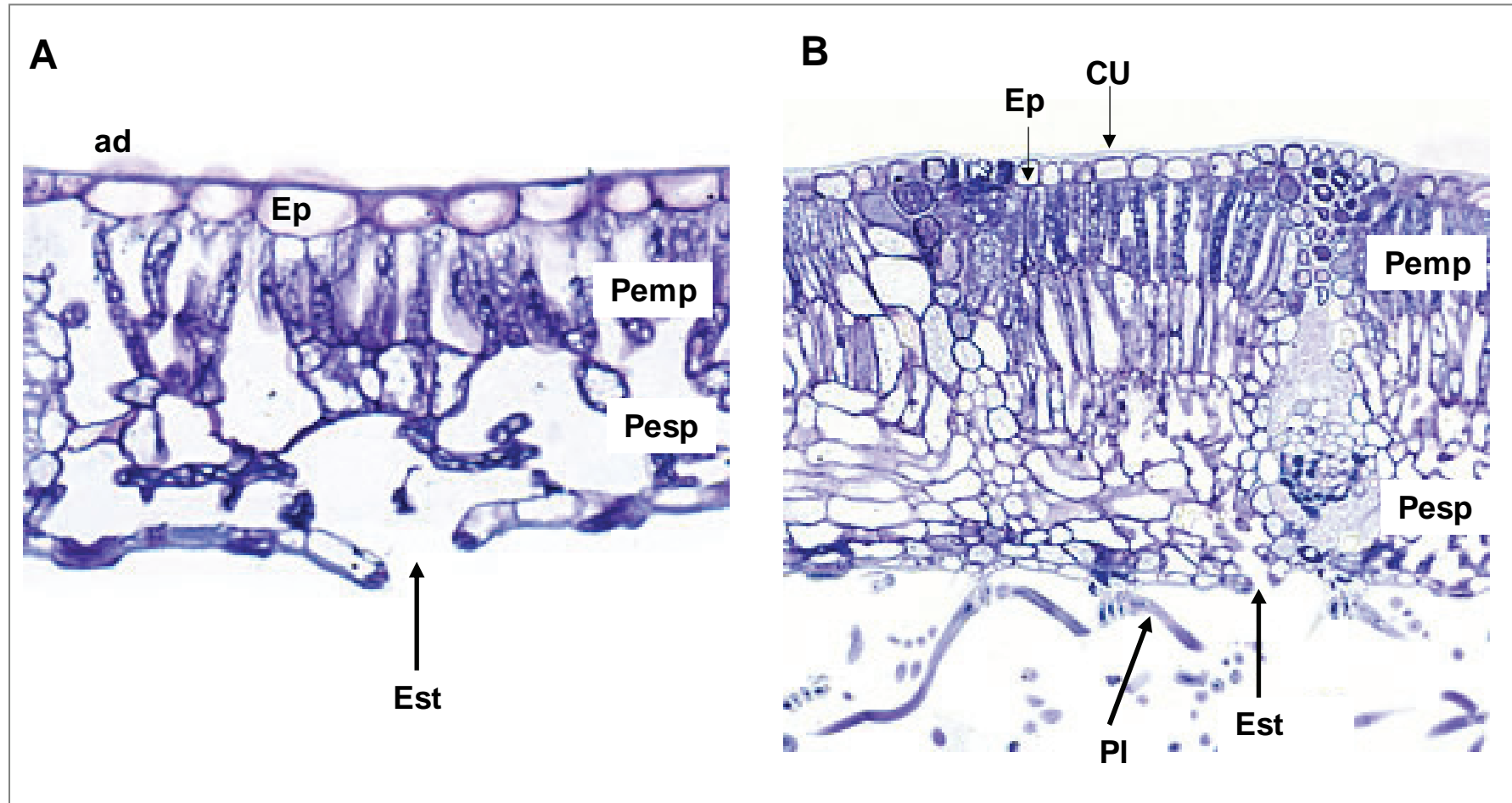


Figura 3.6.2. - Secció transversal de fulles d'alzina surera (*Quercus suber*) desenvolupades en diferents ambients, es mostra el mesofil·le i les epidermis. A. Fulla d'ombra prima i poc cutinitzada. B. Fulla de sol més cutinitzada, amb més capes de parènquima imesofil·le més compacte (menys espais). Pemp: Parènquima empalissat; Pesp: Parènquima esponjós, Ep: epidermis, Pl: pèls, est: estoma, CU: cútícula, ad: cara adaxial, ab: cara abaxial.