

---

## Sotto le lenti del microscopio.

### Parte terza: nuovi strumenti per una migliore conoscenza delle cellule

Alessandro Minelli

---

This is the third and final part of the history of microscope observations begun in issue no. 3/2021 of the magazine and continued in no. 1/2022. A new series of innovations between the eighteenth and nineteenth centuries makes it possible to identify cellular structures whose existence was not even suspected. Among the cells, the gametes are the object of particular attention: the new observations allow the full understanding of fertilization. The historical narration stops with the end of the XIX century. The twentieth century will see, among other things, the advent of electron microscopy, through which it will be possible to push the eye on incredibly fine details of the organization of living things.

Keywords: *History of science, Microscope observations, Cellular structures*

---

### Innovazioni tecniche in microscopia

Alla fine degli anni 30 del secolo XIX, l'avvento della teoria cellulare ha risvegliato l'interesse per un'analisi della struttura fine degli esseri viventi, per un rinnovamento di quell'anatomia microscopica che fino a quel momento ha incontrato tante difficoltà tecniche, soprattutto nell'esame dei tessuti animali.

Il microscopio, peraltro, già non è più il primitivo strumento di Hooke, di Leeuwenhoek e di Swammerdam.

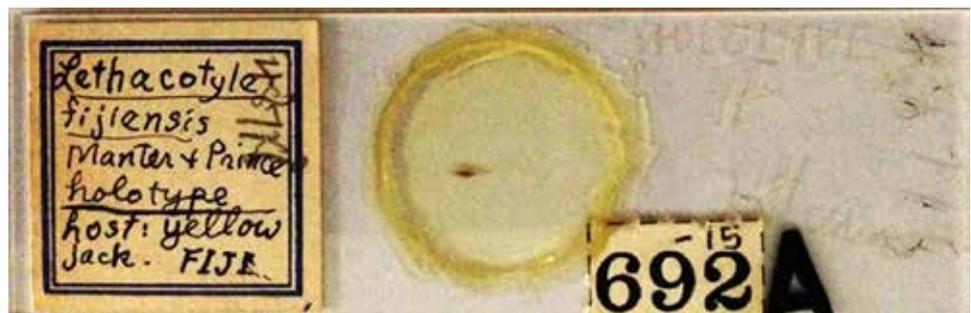
Il microscopio semplice è stato definitivamente abbandonato e i microscopi composti in uso nell'Ottocento sono ormai simili, nella struttura, ai meno sofisticati fra i microscopi in uso ancor oggi.

Verso la metà del Settecento, l'inglese John Cuff (1708-1772) ottiene il primo brevetto nella storia della microscopia: è il segno dell'ingresso del nostro strumento nel mondo delle invenzioni di rilevanza economica.

Un grosso problema da superare sarà presto rappresentato dalla correzione delle aberrazioni ottiche, cioè delle deformazioni dell'immagine dovute all'impiego di semplici lenti biconvesse o pianoconvesse, deformazioni via via più gravi a misura che si sale con gli ingrandimenti.

Del problema si occupano, oltre ai costruttori di microscopi, anche i matematici, che si esercitano nel non semplice compito di calcolare la curvatura ottimale da attribuire alle lenti, così da ridurre al minimo le aberrazioni.

Un contributo assai importante, in tal senso, lo dà il grande matematico svizzero Leonhard Euler detto Eulero (1707-1783), che negli anni 1762-64



**Preparato microscopico realizzato intorno al 1860: tutto il margine del vetrino coprioggetti – che è circolare, secondo l'uso prevalente allora – è sigillato per prevenire la penetrazione dell'aria.**

sviluppa una teoria delle lenti acromatiche, sulla base della quale Harmanus van der Deijl (1738-1809) costruisce le prime lenti corrette.

Un'altra innovazione, preziosa per la realizzazione di un microscopio composto, sta nell'introduzione del balsamo del Canada come mezzo per fissare tra loro due lenti. L'innovazione è introdotta da Jacques-Louis-Vincent Chevalier (1770-1841) e da suo figlio Charles-Louis (1804-1859). Il balsamo del Canada ha lo stesso indice di rifrazione del vetro, per cui la sua interposizione fra due lenti equivale, in termini ottici, a una completa saldatura di queste. Per questa stessa proprietà, il balsamo troverà presto impiego nell'allestimento di preparati microscopici permanenti, cioè quale mezzo per fissare un sottile vetrino coprioggetti al più robusto vetrino portaoggetti, sul quale sono disposti i piccoli materiali da osservare. Il coprioggetti era stato introdotto nel 1784 da Jan Ingen-Housz (1730-1799), lo scopritore dell'assimilazione del carbonio da parte delle piante.

È databile al 1746 la costruzione delle prima slitta per un rapido cambio degli obiettivi, da parte di Georg Adams (1708-1773), un tecnico inglese al quale si attribuisce la costruzione di ben 315 microscopi. Diventa così possibile eseguire quella sequenza di operazioni che poi è diventata la pratica corrente di ogni microscopista: si comincia con una prima esplorazione dell'intero preparato a basso ingrandimento, così da individuare le zone meritevoli di un esame più dettagliato; quindi, mediante una veloce sostituzione dell'obiettivo, senza spostare il preparato, si passa a ingrandimenti maggiori, così da osservare dettagli sempre più fini. Il microscopio, naturalmente, non viene usato solo per l'osservazione di oggetti minuscoli, ma anche per studiare dettagli fini della struttura di oggetti più grandi. Verso la metà del Settecento, ad esempio, vari microscopisti si cimentano nell'osservazione della circolazione del sangue, nella rana o in altri animali, attraverso le lenti dei loro strumenti e l'anatomico berlinese Johannes Nathanael Lieberkühn (1711-1756) giunge a costruire un vero e proprio "microscopio anatomico", convenientemente accessorizzato per consentire queste osservazioni.



**Microscopio compostodei primi anni del secolo XIX, costruito secondo un popolare modello di John Cuff.**

Altri problemi che la microscopia deve risolvere riguardano l'illuminazione dei preparati.

Della necessità di un'adeguata illuminazione, via via più intensa a mano a mano che si sale con gli ingrandimenti, si sono naturalmente accorti anche i primi microscopisti e già in qualche immagine seicentesca, come quella che raffigura il microscopio composto di Hooke, si vede come lo strumento ottico fosse corredato di un apparato per illuminazione: una fiammella, la cui luce giunge al preparato da osservare attraverso una sfera piena d'acqua, opportunamente disposta, così da concentrare i raggi luminosi. Ma già negli stessi anni Balthasar de Moncony (1611-1665) introduceva la lente di campo, atta a concentrare i raggi luminosi, e un secolo più tardi Lieberkühn realizzava lo specchietto che porta il suo nome.

I progressi della microscopia si legano, peraltro, alle innovazioni che la tecnica introduce in settori diversi, per cui intorno al 1845 Charles-Louis Chevalier applica per la prima volta ad un microscopio la luce proveniente da una lampada

elettrica ad arco: ricordiamo, per inciso, che le prime lampade ad arco di uso pratico venivano messe a punto proprio in quegli anni da William Edwards Staite (1809-1854), da Jean Bernard Léon Foucault (1819-1868) e da altri.

Grossi problemi restano, comunque, nell'osservazione delle strutture più fini, che richiedono ingrandimenti più forti.

Un decisivo passo verso un miglioramento delle condizioni di osservazione viene compiuto quando Giovan Battista Amici (1786-1863) propone di interporre una gocciolina d'acqua tra la lente frontale dell'obiettivo e il coprioggetti. È il 1850 e con questa innovazione nasce la tecnica dell'osservazione in immersione. Questa porta presto alla costruzione di appositi obiettivi, specie dopo che il grande ottico tedesco Ernst Abbe (1840-1905) ha dimostrato (1878) i vantaggi dell'impiego dell'olio di legno di cedro, in luogo dell'acqua. L'olio di cedro non evapora rapidamente come l'acqua e, soprattutto, ha un indice di rifrazione più opportuno.

Abbe è rimasto famoso anche per la messa a punto della camera lucida, un dispositivo che permette di eseguire disegni accurati di quanto si viene osservando al microscopio; dispositivo prezioso



**Fisico, matematico e ingegnere, Giovan Battista Amici portò fondamentali innovazioni alla tecnica microscopica; poi si dedicò in proprio allo studio delle piante a livello cellulare.**

che oggi tende ad essere dimenticato, a causa degli immensi progressi della tecnica fotografica. Il primo apparato per disegno, tuttavia, sembra sia stato applicato a un microscopio già nel 1807, da William Hyde Wollaston (1766-1822).

In stretto rapporto con la riproduzione grafica delle immagini ingrandite dal microscopio sta il problema della misura accurata delle dimensioni dei singoli particolari che compaiono nel campo d'osservazione. Anche questo problema viene affrontato con successo dai costruttori di lenti dell'Ottocento, in particolare da Friedrich Adolf Nobert (1806-1881), il quale costruisce una macchina che permette di incidere su un vetrino fino a 20 000 linee, regolarmente spaziate, nel breve intervallo di un pollice!

Tutte queste innovazioni tecniche riguardano, in sostanza, lo strumento, il microscopio. Altre e non meno importanti innovazioni sviluppate nel frattempo, hanno a che fare con la tecnica di allestimento dei preparati da osservare attraverso le lenti. Fino alla metà dell'Ottocento, infatti, i materiali collocati sul vetrino portaoggetti non subivano altra manipolazione se non quella, spesso necessaria, di una riduzione di spessore, mediante schiacciamento o con la realizzazione di rudimentali sezioni; tutt'al più, venivano usati a volte liquidi fissativi, come l'alcool, che prevenivano il rapido deterioramento del campione biologico. L'uso di sostanze colorate era limitato ai pochi preparati per iniezione, che prevedevano l'introduzione di liquidi di colore diverso nell'apparato circolatorio o in altri spazi dell'organismo, ma la tecnica, per ovvie ragioni, veniva applicata piuttosto agli animali macroscopici ed era seguita dall'osservazione a occhio nudo.

Intorno al 1855, però, Joseph von Gerlach (1820-1886) introduce la pratica della colorazione dei preparati istologici, basata sull'impiego di sostanze che si fissano ai materiali biologici, rendendoli assai più visibili, anche in sottili sezioni, sotto le lenti del microscopio. Questa innovazione non tarda a farsi strada. William Henry Perkin (1838-1907) introduce così nel 1856 i coloranti all'anilina, Wilhelm von Waldeyer-Hertz (1836-1921) sperimenta nel 1863 l'ematosilina; più

tardi, nel 1881, Paul Ehrlich (1854-1915) utilizzerà per primo il blu di metilene.

Alcune di queste sostanze colorano un po' tutto il materiale cellulare, pur fissandosi di più su certe strutture, che ne risultano così più intensamente colorate; altri coloranti sono invece più selettivi, legandosi specificamente solo a determinati materiali, dove naturalmente esistono sostanze chimiche con le quali essi, reagendo, danno origine a prodotti caratteristicamente colorati.

Già nel 1864, ad esempio, Karl Fromman (1831-1892) nota che le cellule nervose (neuroni) hanno una particolare affinità per i sali d'argento: osservazione importante, dalla quale deriverà il metodo di impregnazione argentea sviluppato nel 1885 da Camillo Golgi (1844-1926), che permetterà di ottenere preparati in cui il decorso delle più sottili fibre nervose risalta con straordinaria chiarezza. Si definisce così, a poco a poco, quella che diventerà la pratica corrente delle preparazioni istologiche, utilizzata fino ai nostri giorni; una pratica che prevede le seguenti tappe fondamentali: fissazione, inclusione, allestimento di sezioni, colorazione, montaggio del vetrino.

Fissare un tessuto significa trattarlo con sostanze chimiche atte a impedire la naturale degradazione del materiale biologico, degradazione che interviene presto, quando esso non fa più parte di un essere vivente. Il più classico fissativo è



**Cellula del midollo spinale colorata con la tecnica dell'impregnazione argentea (dalla *Nobel Lecture* di Camillo Golgi dell'11 dicembre 1906, pubblicata nel 1907).**

naturalmente l'alcool etilico, ma nella seconda metà dell'Ottocento si scoprono varie possibilità alternative, fra cui il trattamento con acido osmico, introdotto nel 1865 da Franz Eilhard Schulze (1840-1921), che verrà poi ripreso, a distanza di un secolo, per la fissazione dei materiali destinati alla microscopia elettronica.

Dal materiale fissato, quando non sia rappresentato da organismi di dimensioni microscopiche come un protozoo o un batterio, devono essere tratte sezioni sufficientemente sottili da permettere ai raggi luminosi di attraversarle. Anche questa operazione, naturalmente, richiede tecniche adatte. Nel 1865 Wilhelm His (1831-1904) inventa una sorta di affettatrice che può risolvere il problema: è il microtomo, destinato anch'esso a evolversi rapidamente. Dai primi microtomi, infatti, era possibile ottenere solo una fettina alla volta, ma già nel 1882 è disponibile un modello che consente di ottenere una serie indefinita di sezioni, una attaccata all'altra come i successivi fotogrammi di una vecchia pellicola fotografica. Segmenti di questo nastro possono essere facilmente raccolti su un vetrino portaoggetti, per le successive manipolazioni.

I progressi del microtomo non dipendono però soltanto dalla realizzazione di lame adeguate e di congegni meccanici che consentano un avanzamento regolare, dopo ogni fetta, del blocco da tagliare, oppure della lama, così da ottenere sezioni dello spessore voluto; occorre anche mettere sotto alla lama un blocchetto di consistenza opportuna, quale può essere ottenuto mediante la preventiva inclusione del materiale fissato in un mezzo omogeneo, come la paraffina introdotta da Walther Flemming (1843-1905) nel 1869.

### **La struttura delle cellule**

Con queste tecniche diventano improvvisamente visibili moltissime strutture, la cui stessa esistenza non era nemmeno sospettabile.

Fin dal 1842 il botanico svizzero Carl Wilhelm von Naegeli (1817-1891) mette in evidenza, nel nucleo delle cellule vegetali, dei corpi allungati, ai quali Waldeyer nel 1888 darà il nome di cromosomi, e osserva altresì un fatto imbarazzante

per la teoria cellulare da poco proposta, vale a dire la scomparsa del nucleo durante la divisione cellulare. Cinque anni più tardi Karl Bogislaus Reichert (1811-1883) osserva in prossimità del nucleo una curiosa struttura simile ad una minuscola sfera raggiata: è l'apparato della sfera, di cui più tardi si riconoscerà il ruolo nel processo di divisione del nucleo.

L'anno seguente Franz von Leydig (1821-1908) mette in rapporto la divisione del nucleo con la divisione della cellula che lo ospita: la scomparsa del nucleo osservata da Naegeli durante la divisione cellulare deve dunque corrispondere al momento in cui il nucleo stesso si divide dando origine a due nuclei, destinati ciascuno ad una delle due cellule figlie.

Il comportamento dei cromosomi durante la divisione del nucleo, però, verrà descritto solo nel 1873, ad opera di Anton Schneider (1831-1890), di Otto Bütschli (1848-1920) e di Hermann Fol (1845-1892); sei anni dopo, Eduard Strasburger (1844-1912), Flemming e W. Schleicher (che nel 1878 introduce il termine cariocinesi) proporranno addirittura la divisione nucleare come causa della divisione cellulare.

Sempre nel 1873 Fol identifica nell'apparato della sfera, più precisamente nei due aster che se ne formano all'inizio della divisione nucleare, i poli d'attrazione per i cromosomi che formeranno i nuclei figli. Tre anni dopo Eduard van Beneden (1846-1910) individua il centrosoma, la struttura nella quale la microscopia elettronica scoprirà infine il centriolo dalla caratteristica struttura.

Sempre nel 1876 Édouard Gérard Balbiani (1823-1899) suggerisce una nuova immagine del cromosoma, che a suo vedere sarebbe costituito da una successione lineare di unità strutturali.

I mezzi di osservazione continuano ad affinarsi e su materiale vegetale, ancora una volta più favorevole rispetto a quello animale, Strasburger riesce a dimostrare (1880) che la divisione del nucleo prevede la divisione longitudinale di ciascun cromosoma; la stessa osservazione sarà ripetuta nel 1882 da Flemming su cellule animali.

### Gameti e fecondazione

Fra tutti i tipi cellulari, oggetto di particolare attenzione sono ovviamente quelli in rapporto con la riproduzione, cioè i gameti (uovo e spermatozoo), nonché le cellule che danno loro origine. Dopo che Schwann, nel proporre la teoria cellulare, ha senz'altro inteso l'uovo come cellula, spetterà a Rudolf Albert von Kölliker (1817-1905) suggerire nel 1841 che sono cellule anche gli spermatozoi. Tre anni dopo, lo stesso Kölliker affermerà che anche l'uovo dei mammiferi deve essere considerato una cellula. Nel 1861, il concetto sarà generalizzato a tutti i vertebrati da parte di Carl Gegenbaur (1826-1903). Lo studio della struttura degli spermatozoi, però, rimane a lungo difficile, date le dimensioni assai ridotte dei gameti maschili; solo nel 1865 Franz Schweigger-Seidel (1834-1871) e Adolph von LaValette-St. George (1831-1910) potranno dimostrare che anch'essi, come le altre cellule, sono costituiti di nucleo e citoplasma.

Non si può dire che il ruolo degli spermatozoi, fino a quegli anni, fosse stato correttamente inteso; rimaneva in molti il dubbio che si trattasse, addirittura, di parassiti. Ma nel 1849 Moritz Wagner (1813-1887) e Rudolf Leuckart (1822-1898) riuscirono finalmente a dimostrare che l'intervento dello spermatozoo è essenziale perché l'uovo venga "attivato" e inizi il processo di segmentazione. Ironia della sorte vuole che nello stesso anno esca il libro di Richard Owen (1804-1892) sulla partenogenesi, cioè sullo sviluppo di nuovi individui da uova non fecondate! Poco manca, ormai, perché si comprenda davvero il fenomeno della fecondazione, come unione di uovo e spermatozoo. Questa è osservata per la prima volta nel 1851 da Henry Nelson (1822-1875) nell'ascaride, il grosso verme parassita che negli anni seguenti diventerà un materiale d'elezione per lo studio della divisione nucleare. Nel 1879 Fol dimostra che un solo spermatozoo è necessario per la fecondazione di un uovo. Il raffinarsi delle tecniche permette nel 1854 a George Newport (1803-1854) di stabilire che il punto di entrata dello spermatozoo nell'uovo individua la polarità del futuro embrione. Questo

studio di Newport è considerato da qualche autore come l'atto ufficiale dell'embriologia sperimentale, una scienza destinata a spettacolari sviluppi qualche decennio più tardi.

Poco dopo (1869) Strasburger studia nelle felci il comportamento dei gameti maschili (gli anterozoidi, che sono piccoli e mobili come i tipici spermatozoi animali) quando entrano in contatto con i gameti femminili (le oosfere, paragonabili alle cellule uovo). Finalmente, Leopold Auerbach (1828-1897) osserva nel 1874 la fusione del nucleo gametico maschile con il corrispondente nucleo gametico femminile, nel corso della fecondazione. L'anno successivo Oscar Hertwig (1849-1922), in parallelo con Fol, Bütschli, Strasburger e van Beneden, identificherà senz'altro la fecondazione con la fusione del nucleo dello spermatozoo con quello dell'uovo. Nello stesso anno Hertwig introduce il riccio di mare come materiale sperimentale per le ricerche di citologia ed embriologia.

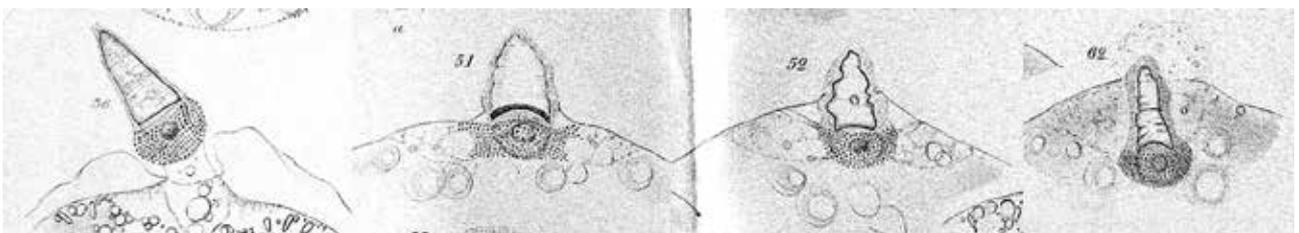
È possibile ora comprendere il significato dei globuli polari, che Carl Gustav Carus, come abbiamo ricordato, ha visto per la prima volta nel 1824. Bütschli scopre, nel 1876, che la loro comparsa è indotta dalla fecondazione e l'anno seguente Hertwig li riconosce come cellule, derivanti da una vera e propria divisione cellulare; divisione alquanto asimmetrica, peraltro, dal momento che l'altro suo prodotto è la cellula uovo.

Nel 1883 van Beneden, studiando anch'egli l'ascaride, osserva come la fecondazione porti ad un raddoppio del numero cromosomico, dal momento che i cromosomi portati dal nucleo dello spermatozoo si sommano a quelli portati dal nucleo dell'uovo. van Beneden nota altresì come il

contributo dei due gameti, ben diverso in termini di citoplasma (lo spermatozoo è infatti minuscolo, in confronto con l'uovo), è equivalente in termini di cromosomi. L'anno dopo Strasburger affermerà addirittura che il contributo dello spermatozoo alla costruzione dello zigote (uovo fecondato) è rappresentato unicamente dal suo materiale nucleare, cioè dai suoi cromosomi.

van Beneden osserva ancora come la divisione cellulare (che Flemming nel 1882 ha chiamato mitosi) dia origine a cellule figlie con un numero di cromosomi identico tra loro ed eguale a quello della cellula madre. Nel 1885, attraverso un ampio studio comparativo, Carl Rabl (1853-1917) conferma la costanza del numero cromosomico all'interno di ogni specie e ne trae la convinzione che i singoli cromosomi conservino la loro identità attraverso le vicende nucleari e cellulari.

Vi è però ancora un problema. Se le normali divisioni cellulari, come quelle che portano alla costruzione di un nuovo individuo a partire dall'uovo fecondato, prevedono la conservazione del numero cromosomico, questo si raddoppia alla fecondazione. Pertanto, come mai il numero dei cromosomi non raddoppia ad ogni generazione? La soluzione di questo problema viene dalle ricerche di Theodor Boveri (1862 - 1915) e di August Weismann (1834-1914). Il primo studia i processi di divisione che portano alla formazione della cellula uovo nell'ascaride, con la successiva emissione dei globuli polari, mentre Weismann introduce la nozione di divisione riduzionale in cui da una cellula di partenza, dotata di un certo numero di cromosomi, si producono cellule con numero cromosomico dimezzato.



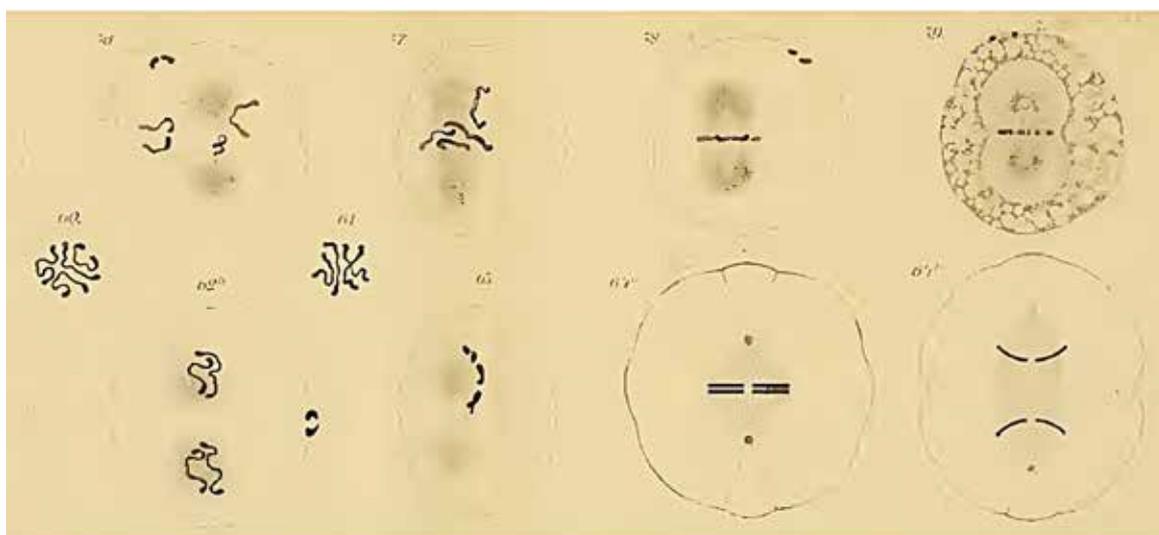
**Momenti successivi della penetrazione dello spermatozoo nell'uovo di ascaride, osservati nel 1883 da Édouard van Beneden.**

È appunto un processo di questo tipo, quello che porta alla formazione degli spermatozoi, oppure delle cellule uovo con i globuli polari associati, processi che chiamiamo, rispettivamente, spermatogenesi e ovogenesi e tra i quali, come Hertwig suggerisce esplicitamente nel 1890, esiste uno stretto parallelismo. Alla divisione riduzionale John Bretland Farmer (1865-1944) e John Edmund Sharrock Moore (1870-1947) daranno nel 1905 il nome di meiosi.

A questo punto, i conti tornano: come la fecondazione porta al raddoppio del numero cromosomico, così la divisione riduzionale che dà origine ai gameti ne garantisce il dimezzamento. Nel ciclo biologico della specie si alternano una fase a nu-

mero cromosomico aploide, come i gameti, e una fase a numero cromosomico diploide, come quella dell'animale nato dall'uovo fecondato.

Questa breve narrazione storica si interrompe con la fine del secolo XIX. Il Novecento vedrà, tra l'altro, l'avvento della microscopia elettronica, attraverso la quale sarà possibile spingere lo sguardo su dettagli incredibilmente fini dell'organizzazione dei viventi. Il vecchio microscopio ottico, però, non verrà messo da un lato, come oggetto ormai inutilizzabile, ma continuerà ad essere quel preziosissimo strumento d'indagine che ha dimostrato di essere lungo quattro secoli di storia. ●



**Cromosomi e fasi della divisione cellulare dell'uovo di ascaride, da uno studio del 1888 di Theodor Boveri.**

**Matteo Serra**  
***Dove va la fisica?***  
**Codice edizioni, 2022**



*Lo scopo è concentrare l'attenzione sugli orizzonti più promettenti e affascinanti della ricerca fondamentale e di quella applicata, visti attraverso lo sguardo umano e professionale di ricercatori e ricercatrici che stanno recitando un ruolo da protagonisti nella fisica di questa seconda metà del secolo.*

La ricerca in fisica corre sempre più ad alta velocità, non solo per andare a caccia di nuove grandi scoperte di tipo fondamentale sulla scia di quelle più recenti (come il bosone di Higgs e le onde gravitazionali), ma anche con obiettivi più strettamente pratici e applicativi, in ambiti oggi all'avanguardia come i sistemi complessi, l'informazione quantistica o la ricerca di nuovi materiali. Senza dimenticare il ruolo cruciale giocato dalla fisica in supporto a settori come la biologia e lo studio del clima, all'insegna di una caratteristica tipica della scienza contemporanea: la multidisciplinarietà. Per raccontare queste frontiere della ricerca, in *Dove va la fisica?* il giornalista scientifico Matteo Serra ha incontrato undici brillanti ricercatrici e ricercatori, che provano a immaginare cosa potrà accadere in futuro partendo dal loro lavoro nel presente. Il tutto arricchito da storie personali e riflessioni profonde sul significato stesso di essere ricercatori in fisica oggi.