

L'OSSERVAZIONE in EPISCOPIA nel campo delle SCIENZE NATURALI

Il termine “Episcopia¹” si riferisce all’osservazione ed all’illuminazione “da sopra” di un oggetto opaco, o magari anche di un oggetto trasparente, di cui comunque si intenda osservare la superficie, illuminandolo dalla stessa parte da cui si osserva. Il contrario della “diascopia”, in cui si osserva l’oggetto per trasparenza. Quando leggiamo il giornale, osserviamo in episcopia: sorgente ed osservatore si trovano dalla stessa parte e si guarda alla superficie dell’oggetto; quando rivolgiamo una diapositiva verso una finestra, la osserviamo in diascopia: sorgente ed osservatore si trovano da parti opposte dell’oggetto e si vede tutto ciò che è compreso nello spessore dell’oggetto.

Da questa definizione discende il campo di applicazione dell’episcopia, in particolare nella microscopia ottica.

Qualche volta, si osservano in episcopia oggetti di forte spessore che normalmente vengono osservati per trasparenza, quasi sempre in sezione sottile (tessuti, organi o interi organismi); l’osservazione episcopica ha lo scopo di studiarne la superficie o il sottile strato superficiale: colla sezione sottile di un pezzo “incluso”², a parte la complessità della preparazione, sarebbe difficile “imbrocicare” esattamente la superficie. In episcopia, anche se la superficie dell’oggetto non è piana, la si può esplorare tutta, manovrando la messa a fuoco.

Ma, ovviamente, il caso più frequente è rappresentato da oggetti opachi: carboni, rocce, materiali ceramici, prodotti industriali (specie in campo microelettronico) e, soprattutto, metalli e loro leghe, da cui sia stata ricavata una superficie piana e lucida (esiste una microtecnica specializzata per questo scopo). Se la superficie piana di questi oggetti è disposta perpendicolarmente all’asse (esistono appositi accessori per assicurare questo), il campo visuale può essere tutto simultaneamente a fuoco, almeno nei limiti della planeità di campo dell’obbiettivo.

Anche da parte di costruttori e rivenditori, come mercato d’elezione per il microscopio episcopico è considerata la metallurgia.

Ma qui vogliamo proprio suggerire l’idea che in campo naturalistico le applicazioni sono ancora più ampie e più varie.

Esporremo brevemente gli aspetti tecnici dell’episcopia, i suoi pro ed i suoi contro, e poi proporremo una serie di esempi, oggetti della vita quotidiana o facilmente reperibili in natura, che mostrano strutture superficiali imprevedibili.

Per quanto riguarda gli **aspetti tecnici**, per evitare ripetizioni, facciamo riferimento all’articolo n° 2: “Sguardo generale ai metodi di illuminazione in microscopia”, ed al manuale “Problemi tecnici della microscopia...”, Cap. 30.1, entrambi presenti in questo sito.

IN BREVE

Quando l’ingrandimento è piccolo, e quindi la distanza di lavoro almeno qualche millimetro, sia con uno stereoscopico (anche con ingrandimenti forti) che con un biologico (con obbiettivi non più forti del 20:1), si può illuminare lateralmente l’oggetto con una lampada a fascio concentrato: una microlampada più o meno sofisticata o un semplice “faretto”, con lampada “alogeno” munita di specchio concavo (in commercio chiamata impropriamente “lampada dicroica”). Il fascio illuminante sarà molto obliquo, le ombre molto forti, ma si può sempre tentare.

¹ Dal greco “epi” = sopra, e “scopèo” = osservare.

² L’inclusione è il procedimento che consente di impregnare un oggetto molle, che non sarebbe possibile sezionare così com’è, con un materiale della giusta consistenza, che permette di ricavarne sezioni sottili: pochi micron con la paraffina o la celloidina, anche meno di un micron con le resine epossidiche, ecc. Questo procedimento rientra nel campo della “tecnica microscopica”, cioè della preparazione dell’oggetto in vista di una sua più proficua osservazione.

Ma, quando lo stereoscopico non basta più³, e quando l'ingrandimento dell'obiettivo del biologico supera 20:1, occorre ricorrere ad altre soluzioni, per vari motivi:

-- la scarsa distanza di lavoro, la quale fa sì che la punta dell'obiettivo faccia ombra al fascio illuminante;

-- la ricetta degli obiettivi normali, quelli per la diascopea, che devono lavorare con un coprioggetto (di spessore normalmente pari a 0,17 mm), pena l'insorgenza di forti aberrazioni; in episcopia si evita il coprioggetto, che produrrebbe dei forti riflessi, ed occorrono così degli obiettivi speciali (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Cap. 19.2.5).

-- oltre l'illuminazione laterale, è spesso desiderabile illuminare l'oggetto da tutti i lati, anche dalla stessa direzione di osservazione; in questi ultimi casi, bisogna che il fascio illuminante provenga dallo stesso obiettivo usato per l'osservazione. Occorre un illuminatore speciale.

Per questi motivi, gli strumenti per l'episcopia ad ingrandimento medio-forte si basano su uno schema nuovo, descritto in essenza dalla fig. 1.

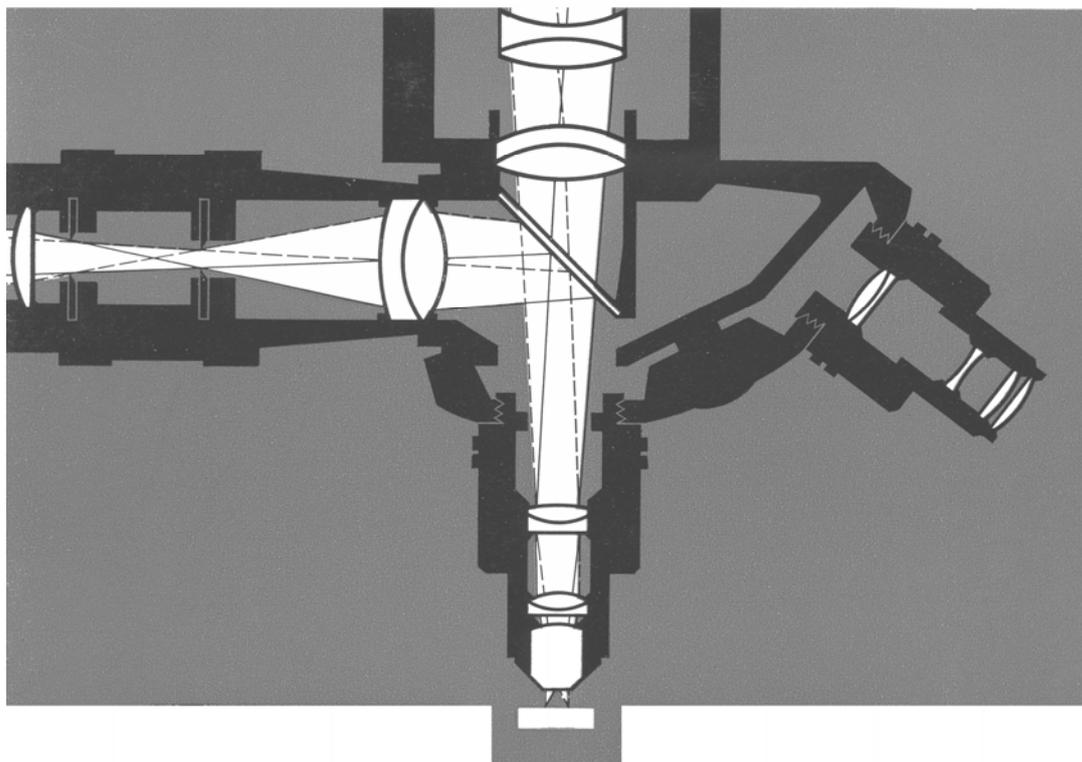


Fig. 1 – Schema di illuminatore episcopico a fondo chiaro.

Fra obiettivo (in basso) e lente di tubo (in alto), è evidente la lamina semiriflettente inclinata a 45° sull'asse. Subito a sinistra di quella, si veda il grosso doppietto con funzione di lente-relé: esso ha la funzione di coniugare la pupilla d'uscita dell'obiettivo col piano del diaframma d'apertura (primo diaframma a sinistra nella figura, presso la lente piano-convessa). In questo modo si può regolare l'apertura del fascio illuminante senza diaframmare l'obiettivo. Si osservi anche il secondo diaframma, a destra del precedente, che viene coniugato col piano oggetto ad opera della lente relé + obiettivo: si tratta del diaframma di campo.

(Da: E. LEITZ Wetzlar, Listino 560 – 15 / Ital.)

In sostanza, uno specchio semi-riflettente riceve il fascio illuminante da un'apposita microlampada (a sinistra, fuori figura), il cui asse ottico è perpendicolare a quello dell'obiettivo. Il fascio viene riflesso verso l'obiettivo, che lo concentra sull'oggetto come farebbe un normale condensatore. La resa fotometrica non è elevata (vedi l'art. n° 5, "La resa fotometrica nel microscopio ottico", cap. 4 b, in questo sito), ma non si può fare altrimenti.

Lo schema di fig. 1 riguarda il "fondo chiaro", una tecnica che mostra luminoso il fondo dell'immagine, poiché il fascio illuminante ritorna (almeno in parte, quando è diffuso dall'oggetto;

³ Come spiegato nel manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Cap. 29.1, l'apertura dell'obiettivo di uno streamicroscopico non supera in genere 0,1, per cui l'ingrandimento utile non supera 50 × circa.

quasi totalmente se l'oggetto è speculare) verso l'obbiettivo e concorre a formare l'immagine intermedia per l'oculare.

Per avere il "fondo scuro", oggetto luminoso su un fondo nero, si ricorre a sistemi più complicati e ad obbiettivi speciali, descritti nella letteratura sopra citata, che consentono di illuminare l'oggetto da tutti i lati (qualche volta anche da un lato solo) con qualunque ingrandimento. Un esempio concreto ed uno schema di principio si vedano in fig. 6.

In ogni caso, per ottenere l'episcopia con forti ingrandimenti, è quasi inevitabile ricorrere ad un sistema illuminante ben diverso da quello normale, cioè per trasparenza (diascopia), e questo significa maggiori costi. Per fortuna, sono ora facilmente reperibili strumenti di produzione cinese, che presentano caratteristiche accettabili, molto migliori dei modelli di pochi anni fa, e costano poco più di un normale microscopio "biologico".

Comunque sia, l'illuminatore per episcopia può essere concepito essenzialmente in due modi:

- come sistema incorporato in uno strumento ad hoc (modelli "integrati"); in questi casi, il microscopio è specializzato per l'episcopia, è curato in vista di quell'unico uso, e difficilmente serve ad altro; essendo concepito come strumento integrato, mono-blocco, minori saranno le regolazioni e più facile il mantenimento di un allineamento corretto; si vedano le figure 3 e 4;

- come accessorio da inserire in uno strumento normale o per usi generali (modelli "modulari"); sarà più facile utilizzare un tale microscopio anche con altre tecniche speciali, sostituendo l'uno con l'altro i vari "moduli", ma sarà più laboriosa l'applicazione dell'episcopia e sarà più difficile conservare stabilmente l'allineamento: ogni parte passibile di smontaggio e rimontaggio frequente è anche passibile di piccoli errori di posizionamento. Si vedano le figure 5 e 6 (sinistra).

Vediamo ora qualche esempio di vari modelli. Cominciamo da quelli "integrati".

MODELLI "ROVESCIATI" o "INVERTITI"

Nel caso di oggetti grandi e pesanti (campioni di rocce, metalli, ecc.), uno schema molto pratico e diffuso è quello "rovesciato", in cui l'obbiettivo è voltato all'insù ed osserva la superficie inferiore dell'oggetto (quella che si intende studiare) da sotto (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Capp. 27.1 e 30.1.2).

La struttura generale non assomiglia molto a quella del classico stativo per biologia, con illuminazione per trasparenza.

L'oggetto è quindi poggiato semplicemente sul tavolino (ovviamente forato al centro), colla faccia interessante all'ingiù (fig. 2). Il vantaggio è duplice: -- la forma e le dimensioni dell'oggetto non creano ostacoli; -- la superficie in osservazione è sempre perpendicolare all'asse dell'obbiettivo: il peso ne assicura il corretto orientamento.

Il fascio illuminante proviene dal basso, attraversa il semiriflettente e l'obbiettivo, viene rinvio, almeno in parte verso il basso, attraversa di nuovo l'obbiettivo ed in parte il semiriflettente (questa parte va perduta). In parte verrà riflesso di lato verso il tubo porta-oculari, e qui andrà a formare l'immagine intermedia.

Nella pratica, il campione di roccia, lega metallica, ecc. viene segato con seghe speciali ad elevata durezza, la superficie di taglio viene levigata fino a renderla lucida, e spesso vengono usati vari metodi di attacco chimico al fine di rendere riconoscibili e distinguibili i vari elementi, granuli, microcristalli, ecc., che costituiscono l'aggregato.

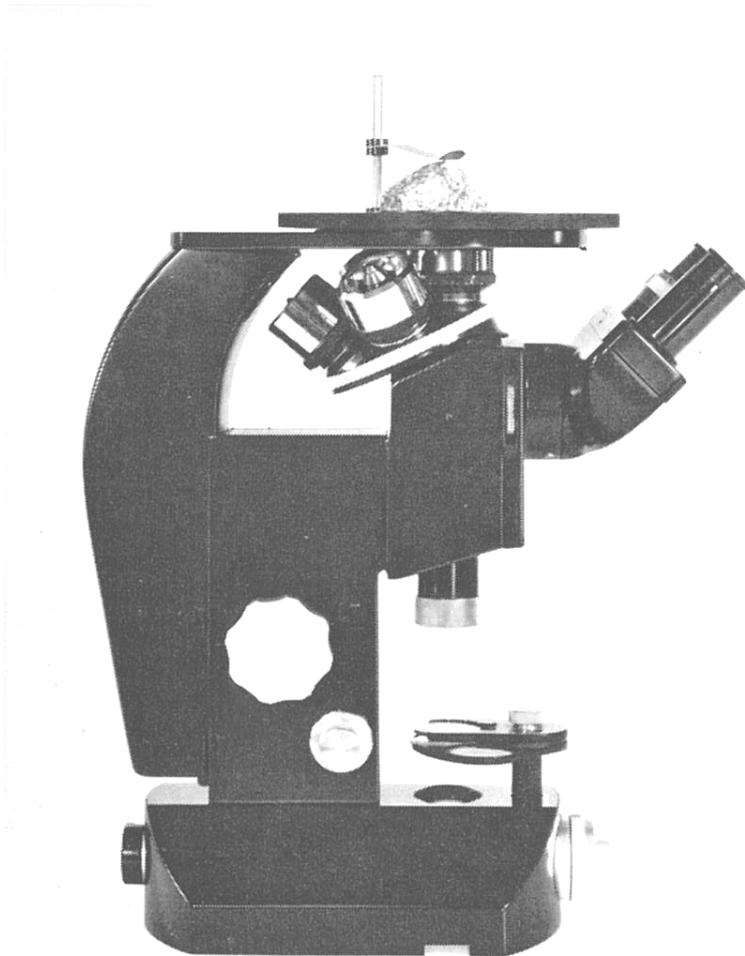


Fig. 2 – Microscopio episcopico per metallografia Wild M 50: tipo rovesciato sec. Le Chatelier. Il campione viene poggiato sul tavolino con la faccia levigata in giù. È visibile la finestra da cui esce il fascio illuminante (sulla base, a destra, con sopra un porta-filtri multiplo) ed il revolver, voltato all'insù. Attorno agli obbiettivi, che sono a fondo scuro, è visibile il condensatore anulare.

Da: *Microskopion*, Ed. Wild Heerbrugg, n° 11, pag. 7. 1967.

MODELLI DIRITTI (a struttura integrata)

La forma generale dello stativo è quella di un normale strumento per la diascopea (“luce trasmessa” o “per trasparenza”), ma nella colonna o nel “braccio” deve esistere, incorporato stabilmente, l'illuminatore episcopico.

Mentre nel modello della fig. 2 l'asse ottico del fascio illuminante (nell'ultimo tratto, a valle dell'ultimo specchio che è incorporato nel piede) coincide con quello dell'obbiettivo, qui l'asse del fascio illuminante è orizzontale, e quindi perpendicolare a quello dell'obbiettivo (fig. 1). Il fascio che concorre nell'immagine intermedia attraversa il semiriflettente, non ne viene riflesso.

Nel modello di fig. 3 e 4, la microlampada è visibile a destra, come edicola indipendente, per consentire la ventilazione ed il raffreddamento. Il fascio illuminante ha dapprima l'asse orizzontale, poi viene riflesso verso l'alto all'interno della colonna (da un primo specchio); poi di nuovo riflesso orizzontalmente all'interno del braccio (anche se questo ha le superfici superiore ed inferiore non orizzontali)



Fig. 3 – Stativo diritto Zeiss Epival, con doppio sistema di illuminazione. Salvo diversamente indicato, le foto che seguono sono riprese con questo microscopio episcopico a fondo chiaro; l'oculare usato è un compensatore grandangolare $10\times$ o uno speciale a pupilla alta. Il fattore di tubo è $0,63\times$. Gli obiettivi sono plan-acromatici. Nella foto sono visibili, a destra, lampada episcopica (la scatola a parallelepipedo) e quella diascopica (sotto la precedente), a forma cilindrica con costole di raffreddamento. Il grosso braccio inclinato contiene l'illuminatore episcopico con diaframmi, filtri, ecc. (vedi la figura seguente).



Fig. 4 – Particolare dello strumento precedente, in cui sono indicati i due diaframmi (a destra, quello d'apertura; a sinistra, montato all'interno di un grosso cursore, quello di campo) e la sede per filtri, in basso. A metà strada fra i due diaframmi è visibile una delle due viti di centratura del diaframma d'apertura. Analoghe viti per la centratura del diaframma di campo sporgono obliquamente dal cursore di sinistra.

STRUTTURA MODULARE

Passiamo ora ai modelli “modulari”, in cui l’illuminatore episcopico è concepito come un accessorio, un “modulo”, che si può montare o smontare dallo stativo quando si vuole: vedi la fig. 5, che mostra un tale accessorio, da interporre fra tubo porta-oculari e braccio dello stativo. In fig. 6 si vede un analogo accessorio montato su un normale stativo “biologico”. In genere, un illuminatore episcopico non integrato è previsto appunto per l’uso su uno stativo generico, come accessorio speciale. Se è ben concepito, può funzionare bene, ma si ricordi che, comunque, con ingrandimenti medio-forti, occorre sostituire gli obbiettivi normali con quelli speciali, calcolati per lavorare senza coprioggetto.

Un illuminatore episcopico inserito fra braccio e tubo porta-oculari comporta inevitabilmente un’alterazione della distanza obiettivo-oculare, come dire un allungamento del tubo; senza opportuni sistemi di compensazione, ciò porta a varie conseguenze (vedi il manuale “Problemi tecnici della microscopia...”, Cap. 3.2, 19.1.2, 24.1.5, 24.2.1 e 25): perdita di parfocalità fra gli obbiettivi, alterazione dell’ingrandimento, insorgenza di residui di aberrazioni (specialmente sferica). I rimedi per evitare questi sgradevoli effetti sono noti:

-- inserire una debole lente divergente nell’illuminatore per spostare in alto l’immagine intermedia e compensare l’allungamento del tubo; ciò provoca un aumento dell’ingrandimento⁴;

-- inserire un sistema Telan a due lenti (vedi il manuale “Problemi tecnici della microscopia...”, Cap. 3.2.2), che non altera l’ingrandimento. Così è in fig. 5: il semiriflettente è interposto fra le due lenti del Telan, una all’ingresso e l’altra all’uscita del corpo dell’illuminatore (a sinistra in fig. 5).



Fig. 5 – Tubo intermedio PZO, con funzioni di illuminatore episcopico. È presente un diaframma di campo (levetta in basso) ed un porta-filtri (levetta in alto), ma non un diaframma d’apertura. L’ampolla è “precentrata” (munita di zoccolo di precisione).

⁴ Col solito rischio di uscire dai limiti dell’ingrandimento utile.

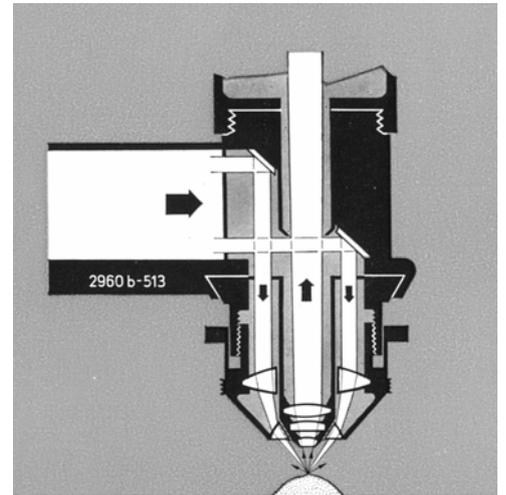
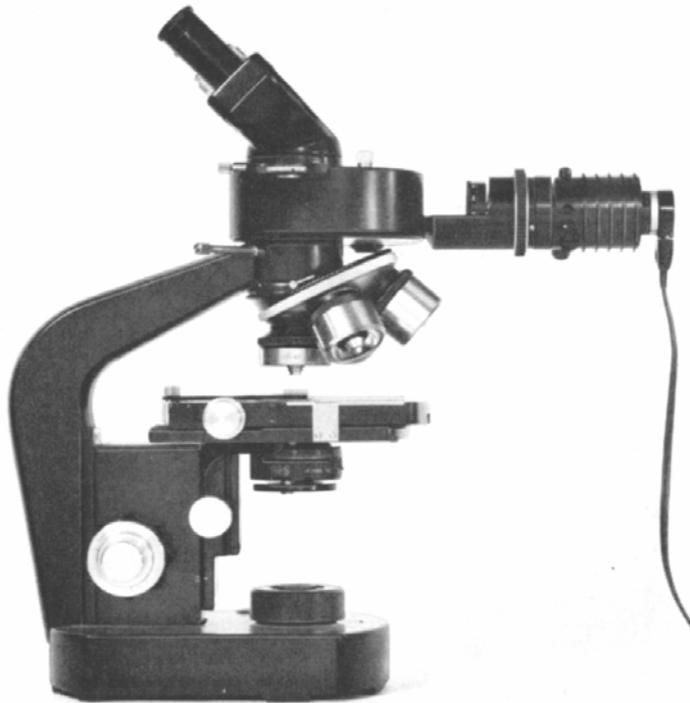


Fig. 6 – Microscopio biologico Wild M 20 con illuminatore episcopico interposto fra braccio e tubo bioculare inclinato; Si vede benissimo il condensatore anulare attorno ad ogni obiettivo, che consente di realizzare il fondo scuro.

Da: *Microskopion*, Ed. Wild Heerbrugg, n° 11, pag. 6. 1967.

A destra: schema di obiettivo a campo scuro della Leitz, del tipo “Ultropak”. Si noti il condensatore anulare formato da due lenti biconvesse tagliate ad anello, al centro delle quali si trova l’obiettivo vero e proprio. Il fascio illuminante viene da sinistra ed assume la forma di cilindro cavo ad opera del diaframma anulare visibile (in sezione) a destra della grossa freccia. Da: *Laborlux*; stampato E. Leitz 512-14 c, 1965.

I VANTAGGI

Il primo vantaggio dell’episcopia è quello di consentire l’osservazione della superficie di oggetti (generalmente opachi) senza limiti di apertura e quindi di risoluzione e d’ingrandimento.

Come si è detto sopra, l’episcopia si può facilmente realizzare anche con uno stereomicroscopio in virtù della sua grande distanza di lavoro: in genere, si tratta di diversi centimetri, per cui è facile illuminare l’oggetto di lato, a volte anche con una semplice lampadina da comodino o, meglio, con una microlampada speciale o anche con un faretto a fascio concentrato (es.: lampadine “alogene” con specchio concavo). Avremo così l’illuminazione unilaterale in fondo scuro.

Per ottenere l’illuminazione omnilaterale con lo stereo-microscopio, esistono appositi illuminatori anulari da fissare sull’obiettivo, costituiti da un “tubo al neon” anulare, oppure da una corona di LED bianchi, o infine da un fascio anulare di fibre ottiche (i più costosi, anche se sostanzialmente inutili).

L’illuminazione in “fondo chiaro”⁵ collo stereomicroscopio si può ottenere (vedi il manuale “Problemi tecnici della microscopia...”, Cap. 29.11.3):

- con accessori semplici, come un piccolo specchio piano da sistemare in mezzo ai due obiettivi, illuminato di lato da una microlampada;

- con un tubo speciale da inserire sopra gli obiettivi, solo nei modelli più prestigiosi; in quel tubo sono sistemati uno o due semi-riflettenti in modo da ripetere lo schema di fig. 1 in uno o in entrambi i canali;

- con un semplice vetrino (anche un copri-oggetto di 24 × 50 mm) inclinato circa a 45° sull’asse degli obiettivi, illuminato di lato, che rifletterà verso il basso circa il 40 % del fascio

⁵ In senso stretto, cioè illuminando l’oggetto nella stessa direzione da cui lo si osserva.

illuminante (vedi il manuale “Problemi tecnici della microscopia...”, Cap. 29.11.3, fig. 120).

Ma lo stereomicroscopio ha un limite fondamentale: la piccola apertura, generalmente non superiore a 0,1, quindi limitata risoluzione e modesto ingrandimento.

Per avere i massimi ingrandimenti teoricamente possibili, anche con obiettivi ad immersione, occorre rivolgersi ad uno strumento specialmente concepito, ad obiettivo unico.

Poiché ci si occupa di oggetti opachi, in campo naturalistico è frequente l'osservazione della superficie di organi od organismi, per i quali l'opacità impedirebbe l'osservazione per trasparenza. **Ciò significa concretamente che l'oggetto può essere posto sotto l'obiettivo “così com'è”, senza alcuna preparazione preventiva, anche allo stato vivente, anche se ha dimensioni di molti centimetri.**

Per le ragioni dette nella letteratura citata, sappiamo anche che il coprioggetto è normalmente escluso. Si elimina così anche l'operazione del “montaggio”⁶.

Chi ha avuto l'occasione di osservare in episcopia, ad es., una corteccia d'albero, colla sua microflora di alghe, licheni, funghi inferiori ecc., più la microfauna di insettini, uova, acari, e così via, non dimentica facilmente quello che ha visto. Ed anche chi è passato dallo stereoscopico all'episcopico si rende conto di quanto aveva perso fino a quel momento.

Inoltre, se lo strumento è ben concepito, è possibile applicare allo stesso oggetto in rapida successione vari metodi d'illuminazione e d'osservazione: campo chiaro, campo scuro, illuminazione obliqua, luce polarizzata, ed eventualmente contrasto interferenziale, ecc. Confrontando le immagini ottenute con i differenti metodi, se ne facilita l'interpretazione e si individuano meglio gli “artefatti”, le apparenze di strutture inesistenti, create dalla diffrazione, rifrazione e riflessione all'interno dell'oggetto.

GLI SVANTAGGI

•• È ovvio che, ai forti ingrandimenti, la distanza di lavoro diviene sempre più piccola. Questo è comune a tutti gli obiettivi forti ma, mentre in trasparenza si osserva in genere un oggetto sottile disteso alla superficie di un vetrino piano, quindi un oggetto piano, in episcopia un oggetto naturalistico può presentare una superficie molto accidentata, irregolare. Ciò significa che, se si cerca di osservare il fondo di una piccola infossatura, l'orlo dell'obiettivo potrebbe urtare l'orlo dell'infossatura e rompere l'oggetto (o rompersi). Analoga situazione si può presentare quando si osserva una superficie più o meno piana ma non perpendicolare all'asse: se si mette a fuoco il centro del campo, da un lato l'obiettivo può ancora urtare l'oggetto.

•• Sempre per le ragioni già discusse (art. n° 5: “La Resa Fotometrica nel Microscopio Ottico”), il microscopio episcopico non fornisce in genere immagini molto brillanti; in fotografia, ciò può costituire problema e richiede lampade di potenza medio-forte, con i relativi problemi di dissipazione del calore, alimentatori di potenza, ecc.

•• Anche il contrasto è modesto (vedi il manuale “Problemi tecnici della microscopia...”, Capp. 17 e 30.1), soprattutto a causa della luce riflessa provocata dal fascio illuminante il quale, provenendo dall'alto, incide sulla superficie delle lenti e dell'oggetto e viene parzialmente rinviato verso l'oculare. Ne nasce un velo di luce diffusa che si sovrappone all'immagine dell'oggetto. Si confrontino le figure 24 e 25, la seconda in fondo chiaro, normale, la prima con eliminazione parziale dei riflessi a mezzo di filtri polarizzanti. Analogo confronto si faccia fra la fig. 29 e la 28.

Occorre dunque servirsi di opportuni accorgimenti per aumentare il contrasto. Da parte del costruttore vengono ottimizzate le “ricette” degli obiettivi, nel senso di scegliere oculatamente la curvatura delle varie superfici e sparpagliare i raggi riflessi fuori dal fascio utile. Inoltre, vengono curati i “trattamenti” anti-riflettenti, che abbassano l'intensità dei riflessi medesimi.

⁶ Per “montaggio” si intende in microtecnica l'impregnazione dell'oggetto in un materiale liquido trasparente (generalmente destinato ad indurire) che viene poi racchiuso fra due vetri di spessore e dimensioni standardizzate (il portaoggetto ed il coprioggetto). Il liquido di montaggio deve assicurare la conservazione dell'oggetto a tempo indeterminato.

Da parte dell'utente, vi sono poi altri accorgimenti:

a) Illuminazione obliqua: quando lo strumento ha un illuminatore completo, come quello di fig. 1, in cui il collettore produce un'immagine del filamento PRIMA dell'obbiettivo, ed in quella sede è possibile inserire un diaframma mobile, oltre al normale diaframma d'apertura (il primo a sinistra di fig. 1), si può con una semplice lamina opaca creare un fascio illuminante obliquo. L'illuminazione sul piano oggetto non sarà sempre omogenea, ma può funzionare ed è semplice da realizzare. Se l'illuminatore è incompleto, nel senso che manca il diaframma d'apertura e l'immagine del filamento viene proiettata direttamente nella pupilla d'uscita dell'obbiettivo, allora questo accorgimento non si può applicare.

b) Filtri polarizzanti: come è meglio descritto nella letteratura citata, si può porre un filtro polarizzante fra microlampada e semiriflettente (direzione trasversale o "Est-Ovest" del vettore elettrico) ed un altro sopra il semiriflettente (incrociato col precedente). In questo modo vengono quasi soppressi i riflessi sulle lenti poste sotto il semiriflettente, ma scompare anche il riflesso sull'oggetto: un oggetto perfettamente speculare appare nero. In campo naturalistico, però, avendo a che fare assai spesso con oggetti diffondenti, che depolarizzano il fascio illuminante, questo accorgimento è prezioso. Purtroppo, molti strumenti dedicati specificamente alla metallografia non prevedono tali filtri.

L'eliminazione del riflesso sulla superficie esterna dell'oggetto produce splendide immagini quando l'oggetto è parzialmente trasparente. Attraverso la sua superficie (non più velata dal riflesso), si vede quello che c'è sotto, compatibilmente colla trasparenza dell'oggetto e con la profondità di fuoco dell'obbiettivo. Le figg. 10, 11 e 12 possono dare un'idea del vantaggio di questa tecnica. Anche l'uso del campo scuro (caso seguente) dà lo stesso vantaggio.

c) Potendo, e costi permettendo, ricorrere ai sistemi a fondo scuro (illuminazione obliqua omnilaterale). In campo naturalistico, è il rimedio sovrano poiché il fascio illuminante non attraversa quella parte dell'obbiettivo che produce l'immagine intermedia ed i riflessi su quella parte non si possono formare. Anche il riflesso sulla superficie lucida dell'oggetto⁷ non viene raccolto dall'obbiettivo.

d) Chiudere il più possibile il diaframma di campo.

••• Data la complessità del sistema illuminante, il costo dello strumento può essere il doppio di un corrispondente "biologico". Anche gli obbiettivi medio-forti devono essere speciali, nel senso che devono essere calcolati per lavorare senza coprioggetto. Quelli per fondo scuro devono poi contenere anche il condensatore anulare, sono più grandi e più complicati, e quindi più costosi.

••• **Ma il grande limite dell'episcopia in campo naturalistico è la profondità di fuoco.**

Già nell'uso dello stereomicroscopio, è facile constatare che un oggetto "a fresco" ha in genere una forma così irregolare, e quindi una "profondità", che impediscono di metterlo tutto simultaneamente a fuoco. Quando si passa ad obbiettivi forti ad elevata apertura, si sa che la profondità di fuoco diminuisce in funzione del quadrato dell'apertura (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Cap. 14.1, formula (36)), fino a ridursi a meno di un micron. Delle due l'una:

1) o l'oggetto presenta una superficie piana, lucida e perpendicolare all'asse (campioni solidi, leghe metalliche, rocce, ecc.), opportunamente orientata perpendicolarmente all'asse dell'obbiettivo;

2) oppure si vedono a fuoco solo quei punti dell'oggetto che giacciono nel "piano di miglior fuoco" dell'obbiettivo (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Cap. 13.1.1 e la fig. 36). Si pensi ad una carta topografica in cui siano tracciate le "isoipse" (curve che collegano tutti i punti di pari altitudine); si supponga che quella carta rappresenti l'immagine data da un microscopio e che la distanza fra due isoipse contigue rappresenti la distanza che segna i limiti dello spazio oggetto "ragionevolmente a fuoco". In quella carta sarà allora visibile solo quella striscia di territorio che è compresa fra le due isoipse contigue. Tutto il resto appare annebbiato. È snervante.

Nell'osservazione visuale il rimedio è semplice: tenere la mano incollata alla micrometrica; ci si

⁷ Purché perpendicolare all'asse ottico.

fa l'abitudine. Ma in fotografia, la pellicola o il CCD non ci fanno la cortesia di abituarsi. Quello che la ricostruzione psichica ci fa apparire come tutto a fuoco, come integrazione di una successione di immagini a diversa altezza, in fotografia appare miserabilmente sfocato in quasi tutta l'immagine. Basti osservare le figure da 14 a 16, da 21 a 23, ecc.

QUALCHE ESEMPIO

A questo punto, per non tirarla troppo in lungo, non resta che illustrare qualche esempio, fra i tanti possibili, di osservazioni di vario tipo, in prevalenza naturalistiche, tutte eseguite in episcopia con strumenti ad hoc, salvo qualche caso che rientra nel campo ben conosciuto, che è di competenza dello stereomicroscopio. Spesso, è stato usato un oculare speciale $3,5 \times$ "a pupilla alta".

Vogliamo ricordare che è facile lasciarsi prendere la mano dagli aspetti tecnici di questo lavoro, dimenticando quello che conta di più: sapere cosa si può osservare, dove lo si trova, come è fatto, cosa significano tutti i dettagli che formano l'immagine. In altre parole, occorre prima di tutto conoscere l'oggetto e la sua struttura, poi interpretare le sue immagini. Il microscopio è solo un mezzo, di cui occorre conoscere potenzialità e limiti; ma lo scopo è capire il mondo che ci circonda, sapendo che questo esercizio ci aiuta a conoscere noi stessi e quel guazzabuglio che ci riempie la testa.

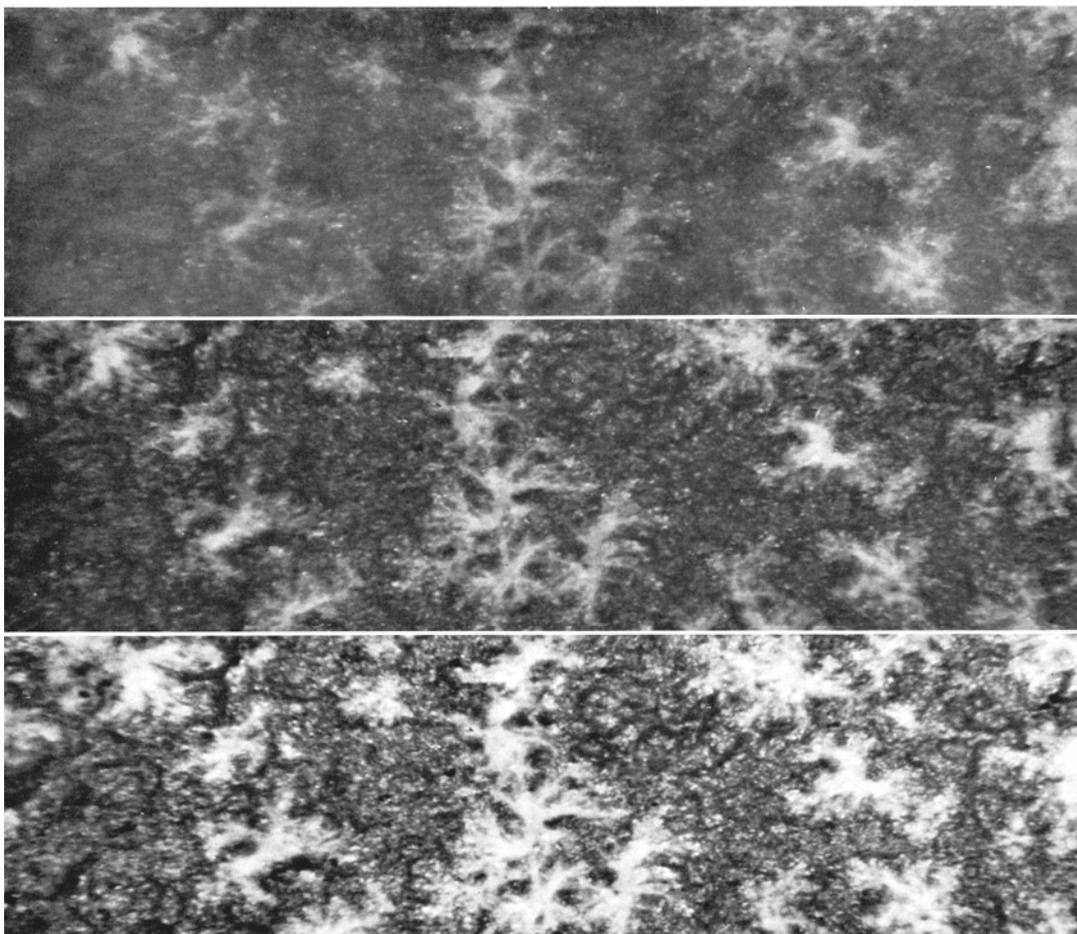


Fig. 7 – Cristallizzazioni alla superficie di una tegola.

In alto: fondo chiaro.

In mezzo: idem, ma con polarizzatori incrociati. La luminosità dell'immagine è molto più bassa, ma il contrasto migliora.

In basso: in campo scuro; massimo contrasto. Da: *Microskopion*, Ed. Wild Heerbrugg, n° 11, pag. 15. 1967.

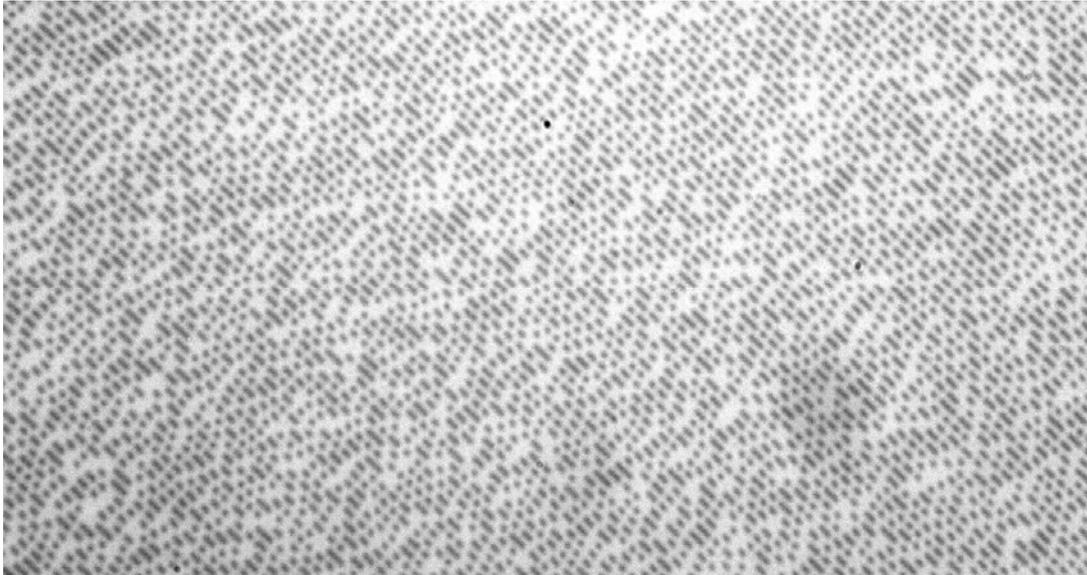


Fig. 8 – Superficie attiva di un CD (Compact Disc) già registrato.
I punti ed i trattini sono allineati secondo traiettorie circolari che vengono “lette” da un apposito dispositivo ottico a laser. Lo stesso dispositivo viene utilizzato per incidere i punti. Ogni punto rappresenta un “bit”, cioè un numero binario (0 oppure 1). Obb. 25 ×; oculare 25 ×. Fondo chiaro.

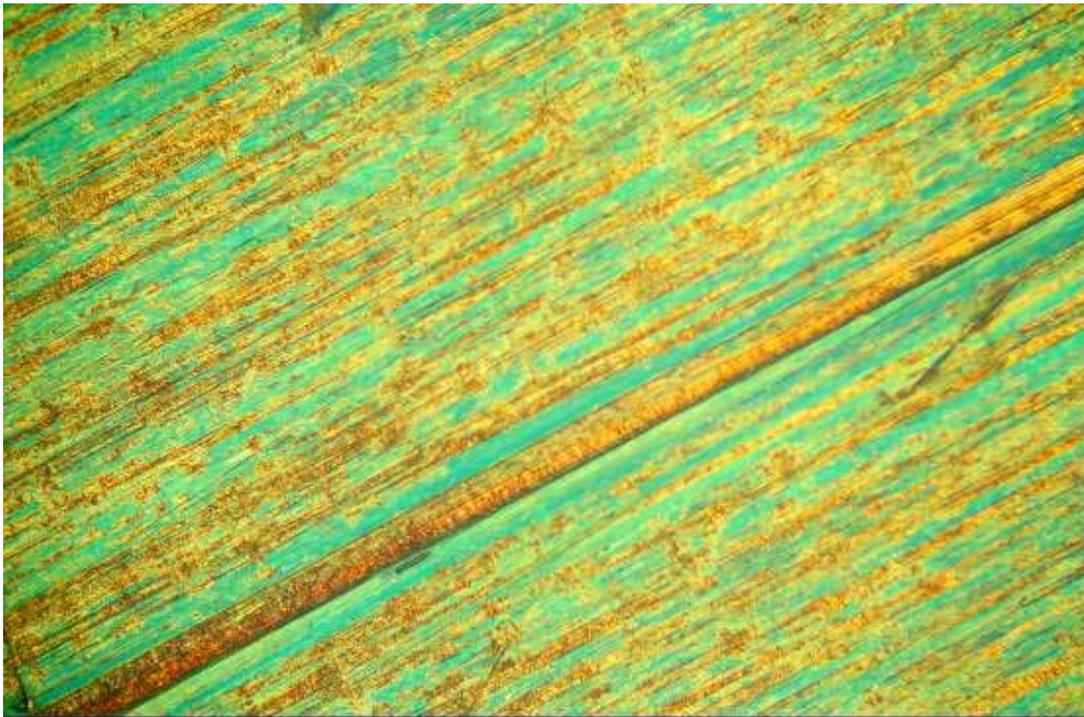


Fig. 9 – Lamina in acciaio brunito. Sono visibili le striature della laminazione.
I colori sono dovuti a fenomeni interferenziali prodotti dal sottile strato di ossidazione (vedi la didascalia della figura 14). Obb. 12,5 ×. Fondo chiaro.



Fig. 10 – Superficie levigata di un “occhio di tigre”, una varietà di quarzo che contiene fasci di cristalli filiformi di crocidolite (una varietà di amianto), alterati in ossido di ferro. L’andamento parallelo dei cristalli conferisce al minerale il caratteristico riflesso cangiante detto “gatteggiamento”, un po’ come avviene con i peli del velluto. Obb. 12,5 ×; oculare 10 × W. Polarizzatori incrociati.

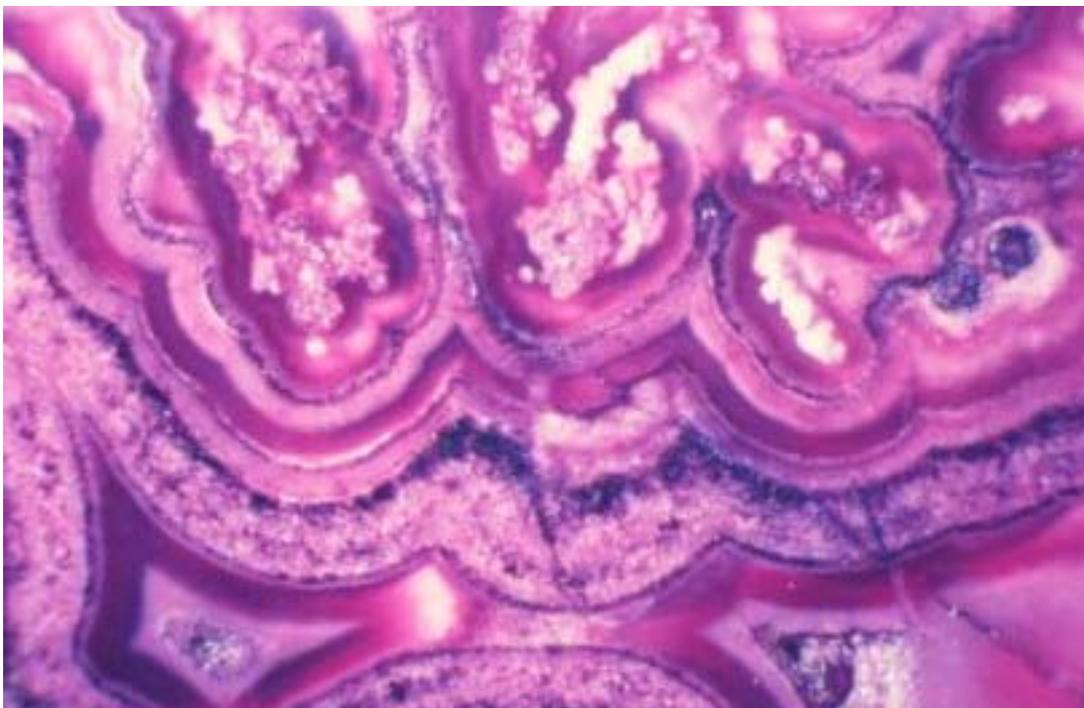


Fig. 11 – Agata (var. di Calcedonio) proveniente dagli USA. Nella massa di silice, inizialmente allo stato di sospensione colloidale, col tempo si diffondono impurità dalle rocce circostanti per accrescimenti successivi, in modo da formare strati paralleli. Obb. 4 ×. Illuminazione in fondo chiaro con polarizzatori incrociati. (G2-20)



Fig. 12 – Calcedonio proveniente dagli USA. Obb. $4\times$. Stesse condizioni della figura precedente. (G2-90)



Fig. 13 – *Cicindela sylvicola* (Coleotteri Cicindelidi). Nelle nostre colline ed in montagna si trova questo Coleottero carnivoro, divoratore di chioccioline, lungo circa 15 mm. Ad occhio nudo, appare verde-bruno, ma questo dipende dallo scarso potere risolutivo del nostro occhio (circa 0,1 mm) che non ci consente di distinguere i singoli punti di colore. Microscopio stereoscopico ad obiettivo comune, $0,6\times$. Illuminazione laterale con “faretto”.

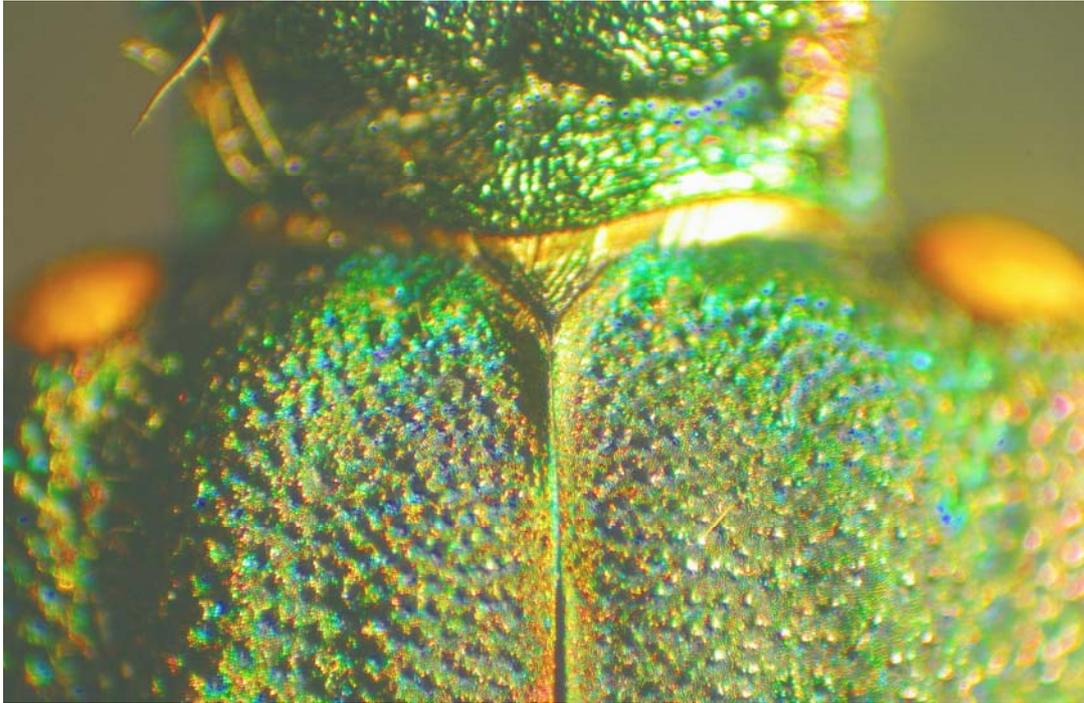


Fig. 14 – *Cicindela sylvicola* (Coleotteri Cicindelidi). Parte posteriore del protorace, estremità delle elitre con lo scudetto triangolare del mesotorace. Il capo è in alto. Con maggior potere risolutivo, si cominciano a distinguere i vari punti con diverso colore, ben diversi dal bruno-verdastro che appare ad occhio nudo.

Questo coleottero nostrano ha l'esoscheletro coperto da strati sottili di proteine trasparenti (chitine) con diverso indice di rifrazione. Tali strati sottili si comportano come le bolle di sapone: pur essendo trasparenti, appaiono fortemente colorati poiché funzionano come l'interferometro di Pèrot e Fabry: i riflessi delle superfici dei vari strati sono leggermente sfasati fra loro ed interferiscono, sottraendo alla luce bianca alcune bande di lunghezza d'onda. I "colori di sottrazione" che ne nascono sono perciò colori d'interferenza. Obb. 4 ×; oculare 10 × W. Illuminazione obliqua laterale.

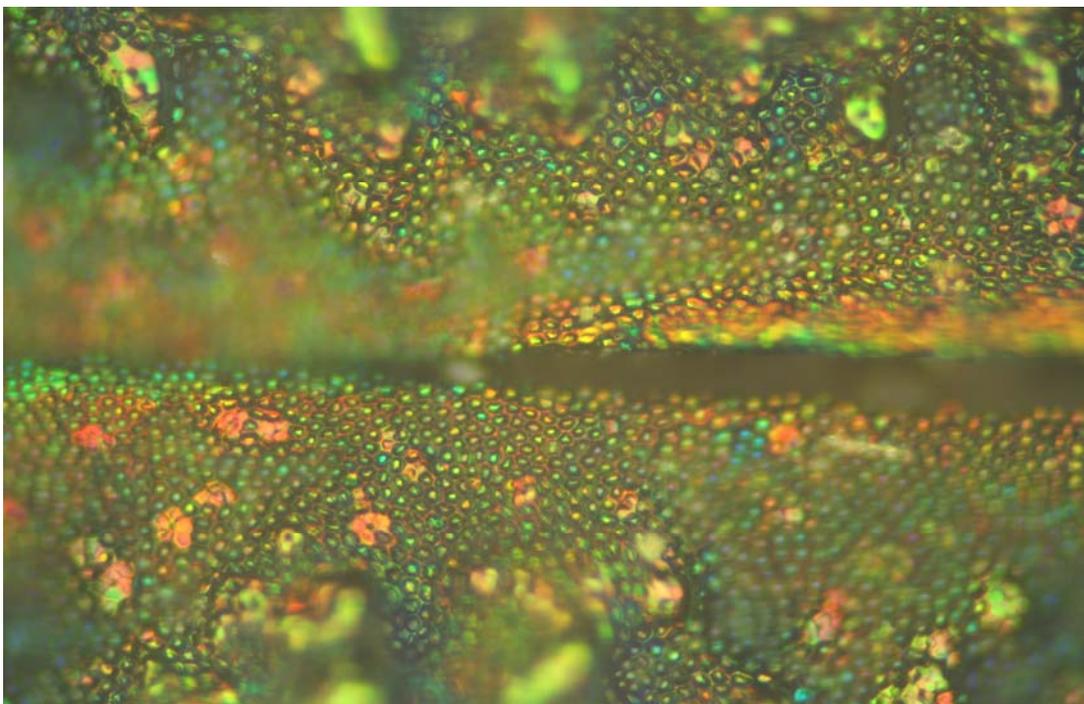


Fig. 15 – *Cicindela sylvicola* (Coleotteri Cicindelidi). Orlo mediano delle elitre. Il capo è a sinistra. Oltre ai rilievi visibili nella foto precedente, appare a maggiore ingrandimento come la superficie sia costituita da minuscole fossette poligonali. Solo a questo ingrandimento appaiono le minute zone multicolori dovute alla diversa inclinazione della superficie: i colori d'interferenza variano infatti a seconda dell'incidenza della luce sul sistema degli

strati sottili. Ad occhio nudo, il colore appare complessivamente brunastro. Obb. 25 ×. Fondo chiaro.

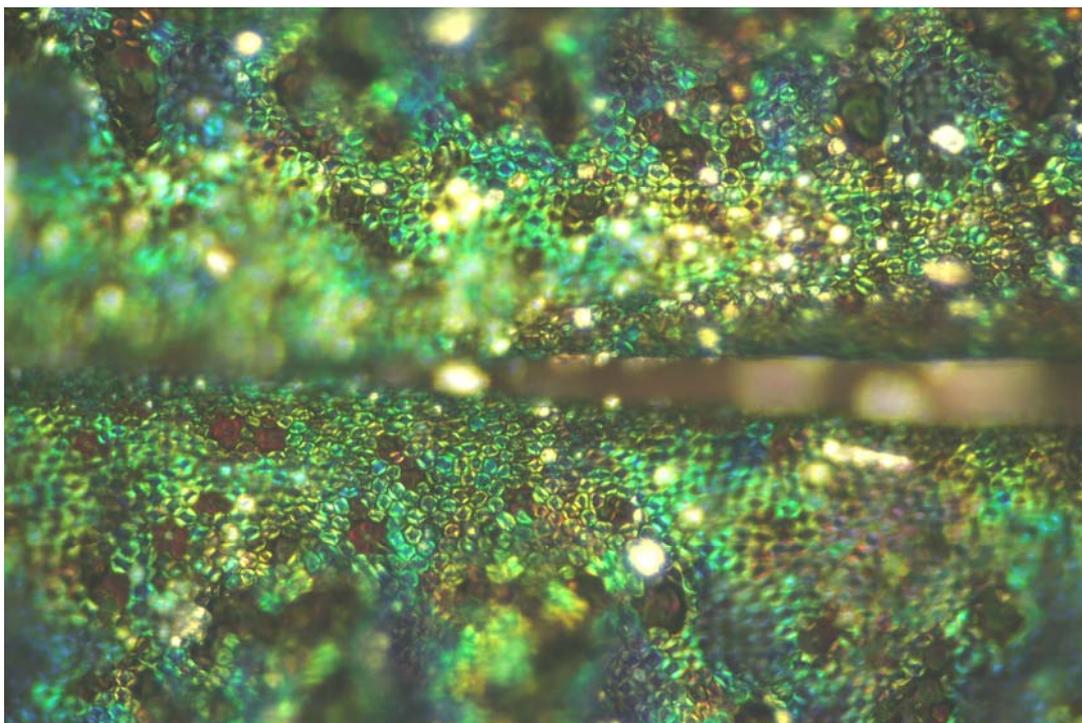


Fig. 16 – Stesso oggetto e stesse condizioni di ripresa, a parte l’aggiunta dei polarizzatori incrociati. L’aspetto generale è assai diverso per l’eliminazione della riflessione alla superficie esterna delle elitre. In realtà, il fenomeno è più complesso, poiché la riflessione con incidenza diversa da zero può produrre una polarizzazione parziale o totale del fascio riflesso e quindi il sistema dei due polarizzatori può produrre colori d’interferenza che si aggiungono a quelli dovuti all’interferenza negli strati sottili, discussi nella didascalia della fig. 14. Si tratta sempre, comunque, di colori “di sottrazione”.



Fig. 17 – *Phyllobius* sp. Piccolo coleottero Curculionide, assai comune in tutta Europa, in tutti gli ambienti, lungo pochi millimetri. Ad occhio nudo, appare verde brillante e questo colore ha probabilmente funzione mimetica. Microscopio stereoscopico ad obiettivo comune. 1,0 × . Illuminazione laterale. L’esoscheletro è nero, ma ricoperto di scaglette verdi, simili a quelle delle farfalle. La sottigliezza delle scaglie produce ancora colori d’interferenza, come visto sopra per la *Cycindela*, ma le scaglie sono anche striate, creando colori da

diffrazione (fig. 20), simili a quelli prodotti dalle incisioni dei CD (fig. 8). Stereomicroscopio in posizione 1,6 ×. Illuminazione obliqua bilaterale (due lampade).

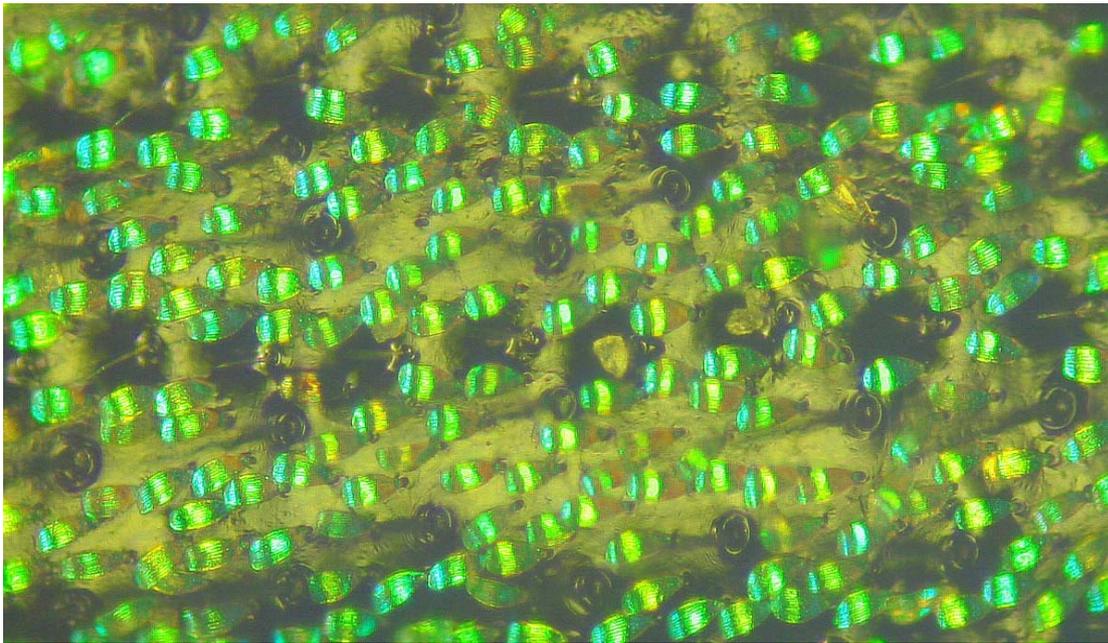


Fig. 18 – Stesso oggetto. Si riconosce la forma incurvata delle scagliette. Obb. 12,5 ×. Illuminazione in campo chiaro semplice. I riflessi metallici delle singole scagliette sono evidenti e se ne è già spiegata la causa. Il fondo grigiastro è dovuto al riflesso della superficie esterna della cuticola.

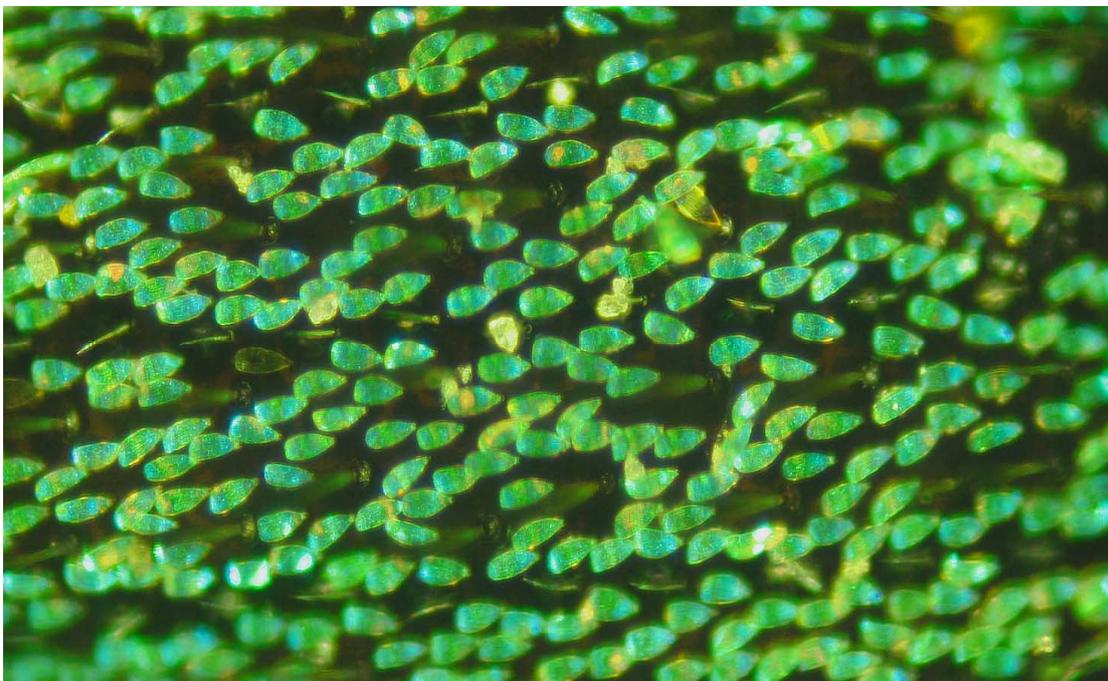


Fig. 19 – Stesso oggetto. L'aggiunta dei polarizzatori incrociati cambia completamente l'aspetto ed il colore delle scagliette. Si intravede la loro striatura interna. La cuticola appare nera poiché il suo riflesso è stato "estinto". Riguardo a queste foto, come alle precedenti (Cicindela s.), possiamo garantire che ciò che si vede negli oculari è assai più ricco per vivacità dei riflessi e dei colori, per definizione, ecc. Chi stacca gli occhi dagli oculari e guarda la foto rimane sempre deluso.

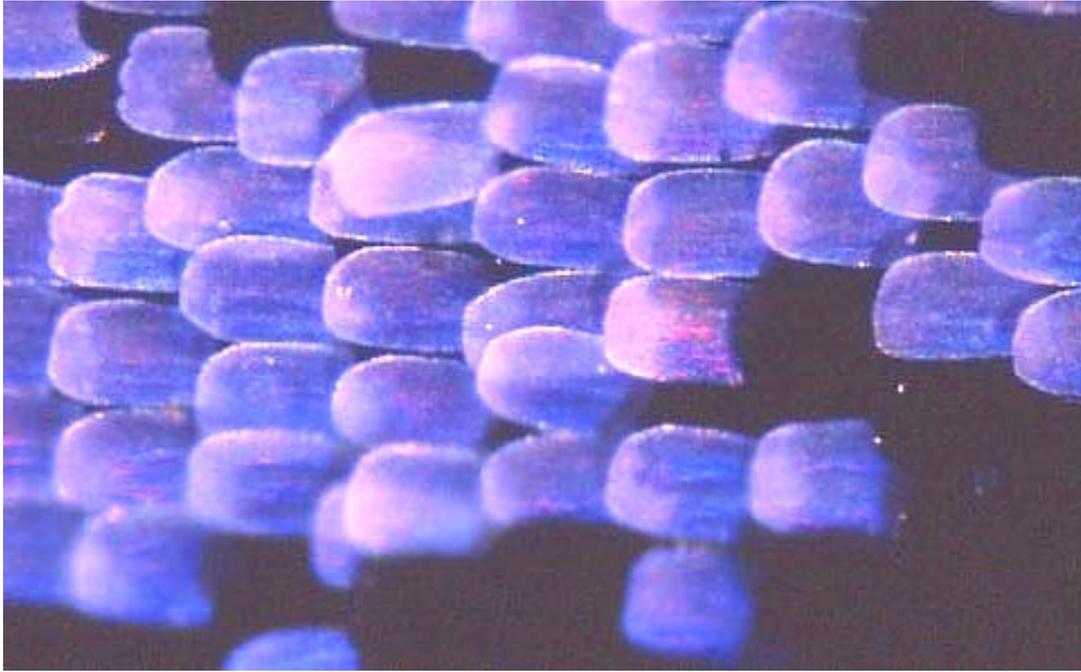


Fig. 20 – *Vanessa io*. Pagina superiore dell’ala anteriore; macchia oculare.
 Obb. 6 × - Ocul. 15 ×. Illuminaz. unilaterale. Si notino le sottili striature longitudinali nelle scaglie, che costituiscono un finissimo reticolo. I colori cangianti delle scaglie sono colori di diffrazione, creati proprio da questi “reticoli”.

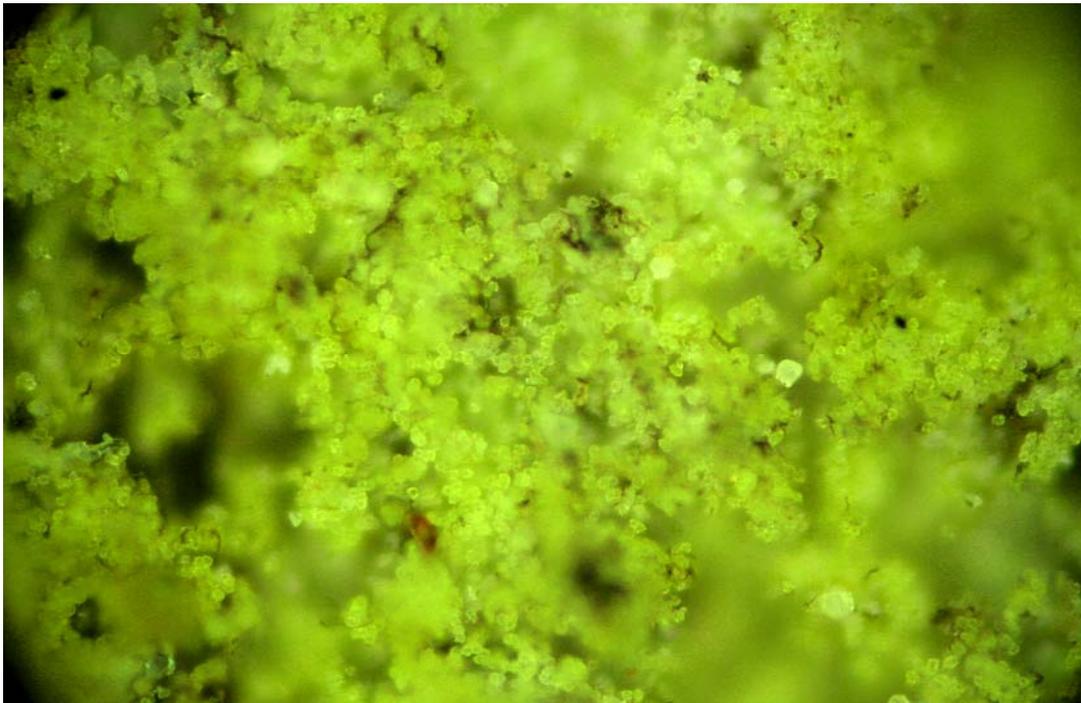


Fig. 21 - Alghe unicellulari Protococcali sulla superficie della corteccia di un abete rosso. Per rendere visibili i singoli individui (pochi μ) è stato necessario un obbiettivo forte.
 Obb. 25 ×. Fondo chiaro. Polarizzatori incrociati. L’oggetto è diffondente e perciò i polarizzatori servono solo a ridurre i riflessi sulle superfici delle lenti e quindi ad aumentare il contrasto.

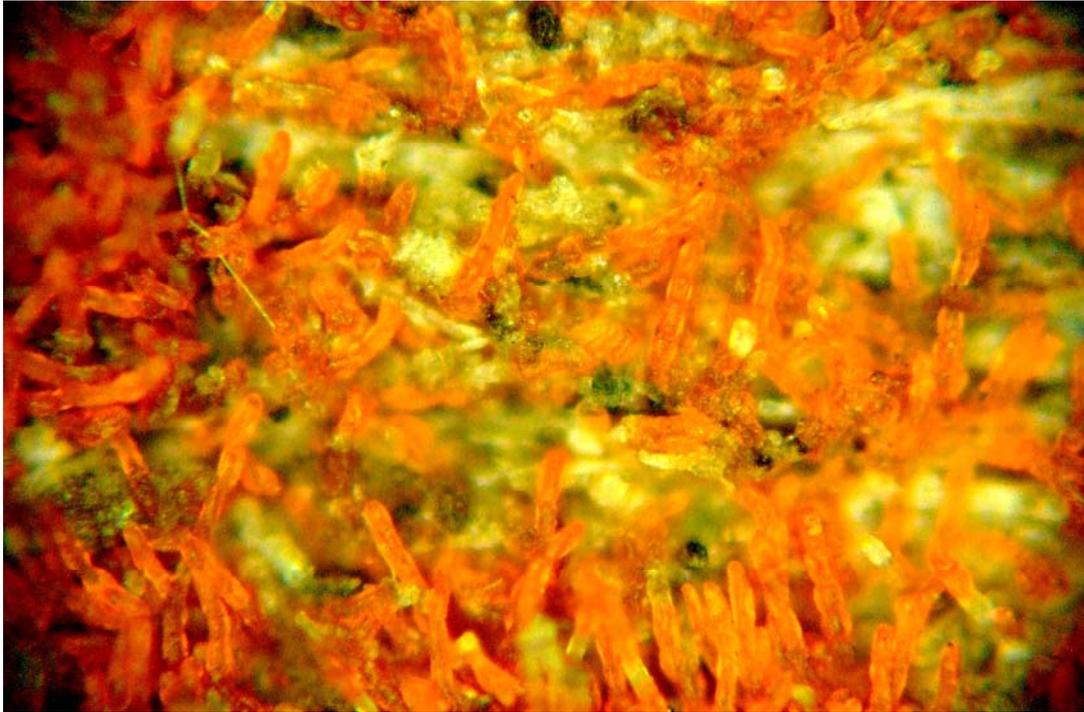


Fig. 22 A – Alghe a catenelle (*Porphyridium* sp.) su legno morto, presso un ruscello. Si distinguono le singole cellule, da 5 a 10 per ogni catenella. Episcopia. Obb. 10 ×. Fondo scuro omnilaterale.

Per osservare queste alghe nel loro stato naturale, non c'è mezzo migliore dell'episcopia; volendole osservare in trasparenza (foto seguente), si deve raschiarle dal supporto e confezionare un "vetrino" classico.



Fig. 22 B – Per confronto, lo stesso oggetto della foto precedente, ma osservato in trasparenza, con un normale microscopio biologico. È stato necessario confezionare un vetrino raschiando i filamenti di alghe dal substrato e "montandoli" in acqua (la specie vive presso i ruscelli, ed è spesso esposta a spruzzi d'acqua). È possibile osservare la struttura interna, ma è alterato lo stato naturale e la disposizione originaria dell'alga. **Le due tecniche d'osservazione risultano complementari.** Diascopia, fondo chiaro. Obb. 16:1 / 0,32 Acrom. Ocul. speciale "a pupilla alta".

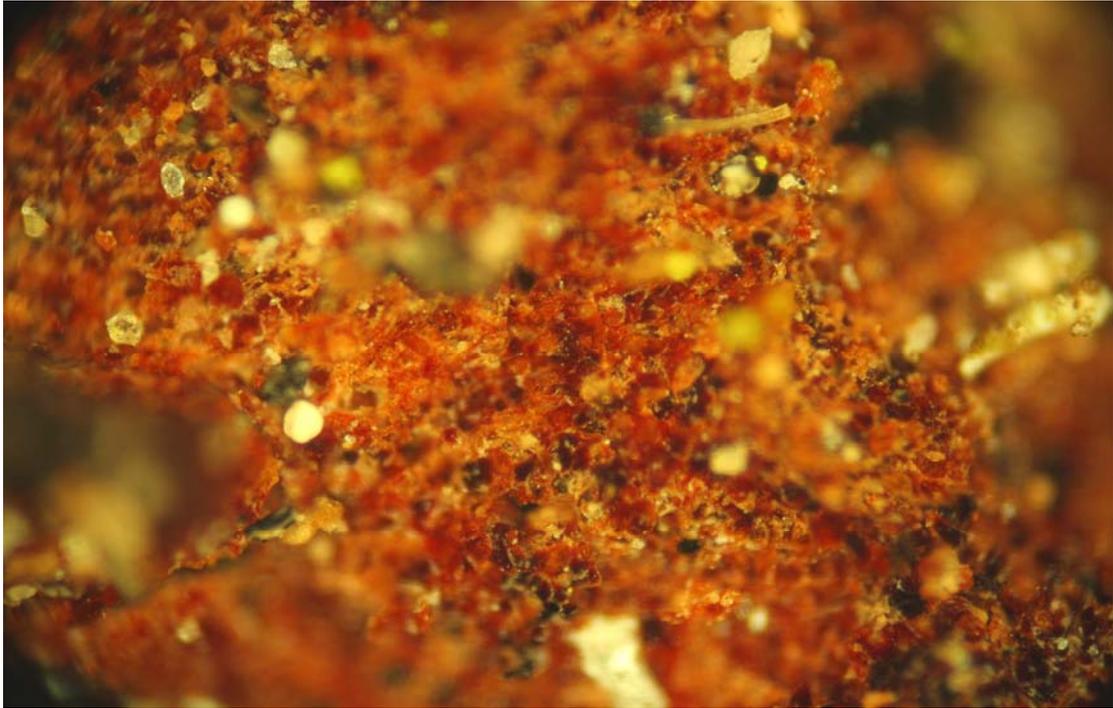


Fig. 23 – Strato di sughero della corteccia di un larice. A sinistra, un granulo di polline; qua e là, granelli di sabbia portati dagli schizzi di pioggia. Si intravede la struttura spugnosa del tessuto, costituito da cellule morte e quindi vuote. Episcopia. Obb. 12,5 ×. Polarizzatori incrociati. Fondo chiaro.

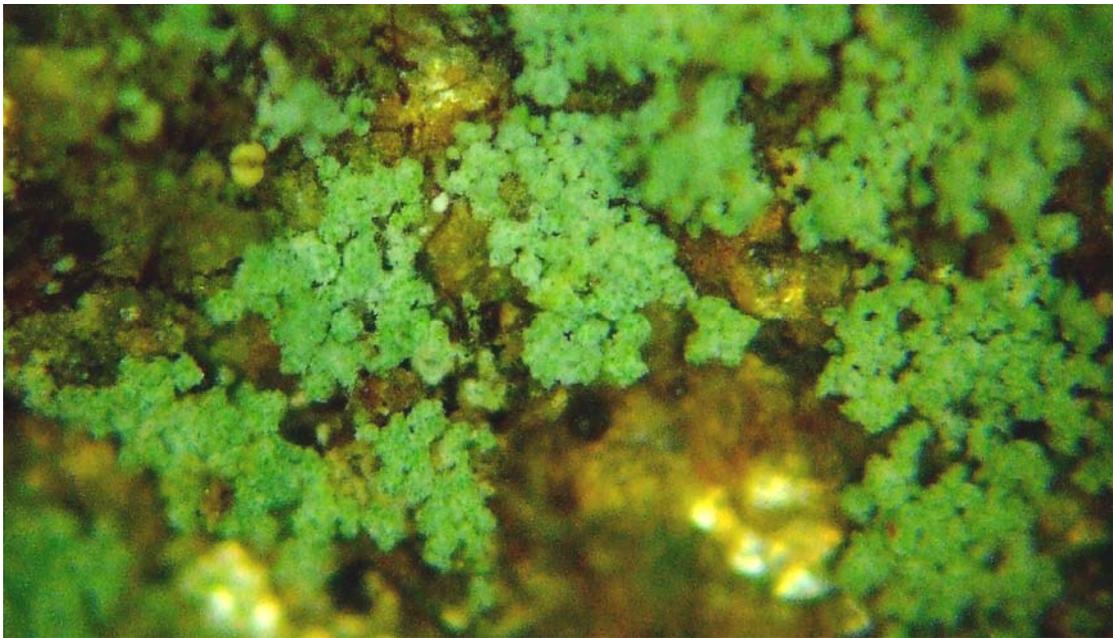


Fig. 24 – Lichene omomero su corteccia d’abete rosso. Si intravede la struttura feltrosa del micelio fungino formato da filamenti (“ife”), che trattiene le cellule dei gonidi (alghe unicellulari). Le singole sferette, ben risolte nella foto, sono i “sorèdi”, gomitoli di ife con qualche gonidio dentro, e sono molto più grandi delle singole alghe (vedi la fig. 21, eseguita con un obbiettivo di ingrandimento molto maggiore). Obb. 10 ×. Polarizzatori incrociati. Fondo chiaro.



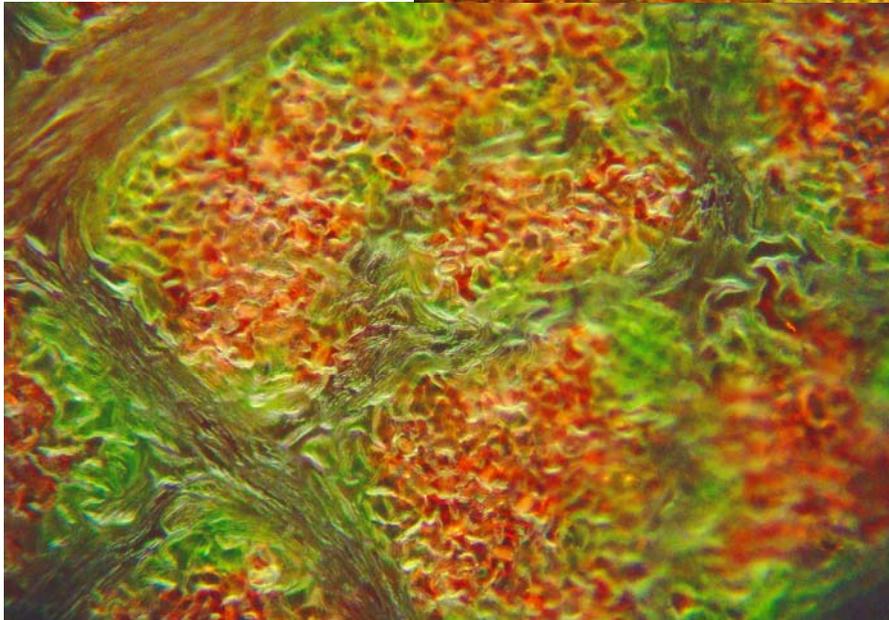
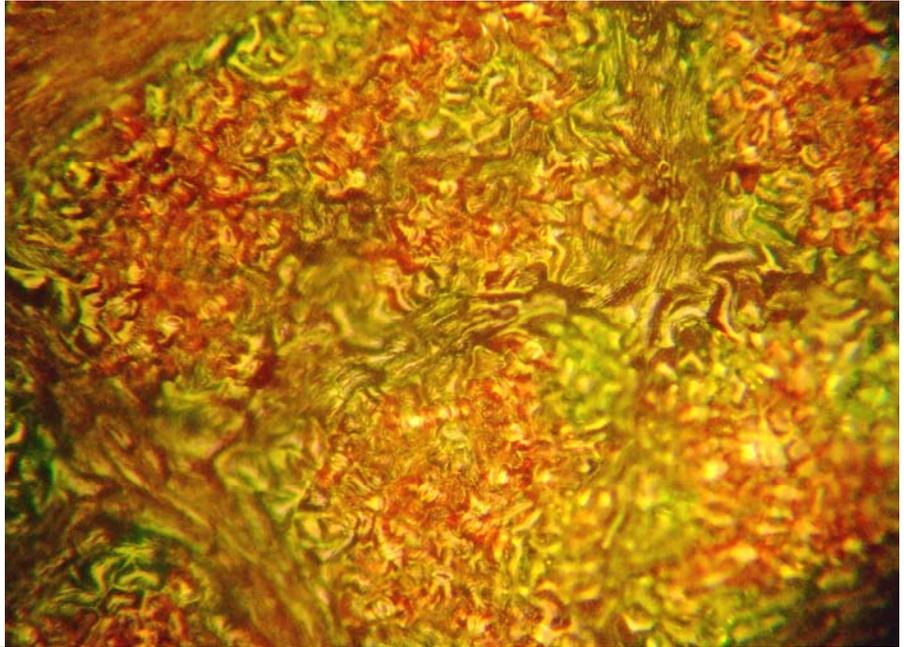
Fig. 25 – Pagina inferiore di una foglia secca di *Philadelphus* sp. (Sassifragacee) Ben visibili i contorni sinuosi delle cellule epidermiche, che migliorano la resistenza dell'epidermide, ed i peli stellati.
Obb. 12,5 ×. Polarizzatori incrociati. Fondo chiaro.



Fig. 26 – Stesso oggetto, ma senza polarizzatori. Il riflesso della superficie della cuticola e delle lenti riduce molto il contrasto. Il riflesso della cuticola lascia intravedere la forma incavata delle cellule epidermiche.

Fig. 27 - Foglia di pruno dalle foglie rosse (*Prunus pissardii*, Rosacee); pagina inferiore. Obb. 25 ×.

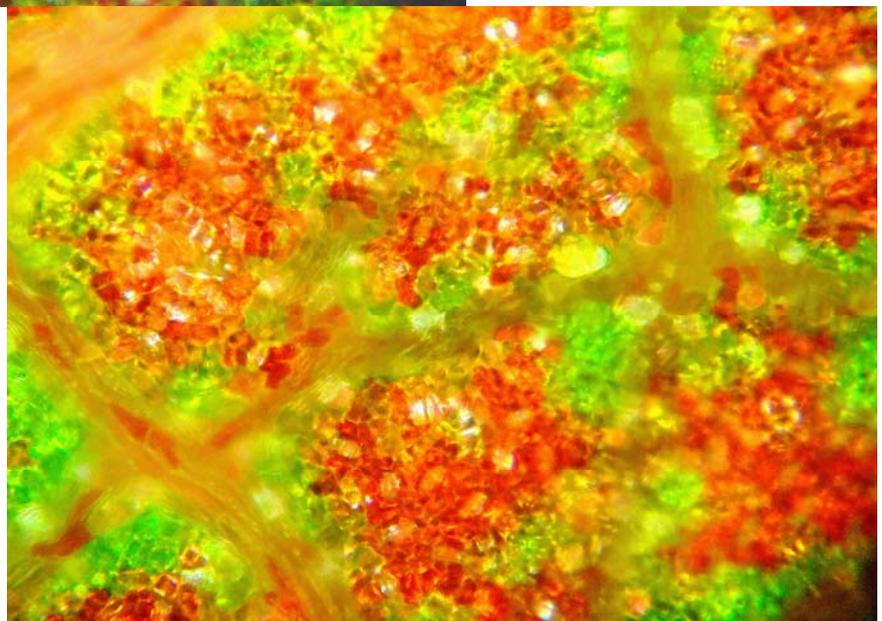
Campo chiaro. Il riflesso sulla cuticola nasconde le strutture sottostanti, ma rivela i contorni delle cellule e la loro forma incavata. Si intravedono gli stomi e la traccia delle nervature.



Campo scuro. Più evidenti i contorni delle cellule. Il riflesso sulla cuticola è raccolto dall'obiettivo solo ai margini delle cellule, dove essa è più inclinata; così si vedono meglio le nervature.

Fondo chiaro con polarizzatori incrociati. In questo caso, è scomparso del tutto il riflesso sulla cuticola ed è possibile vedere le cellule sottostanti del parenchima, alcune pigmentate da antociani, le altre normali, verdi.

Per meglio mettere in evidenza il parenchima, la messa a fuoco è stata abbassata e così le nervature (sporgenti dalla superficie inferiore della foglia) appaiono sfocate.



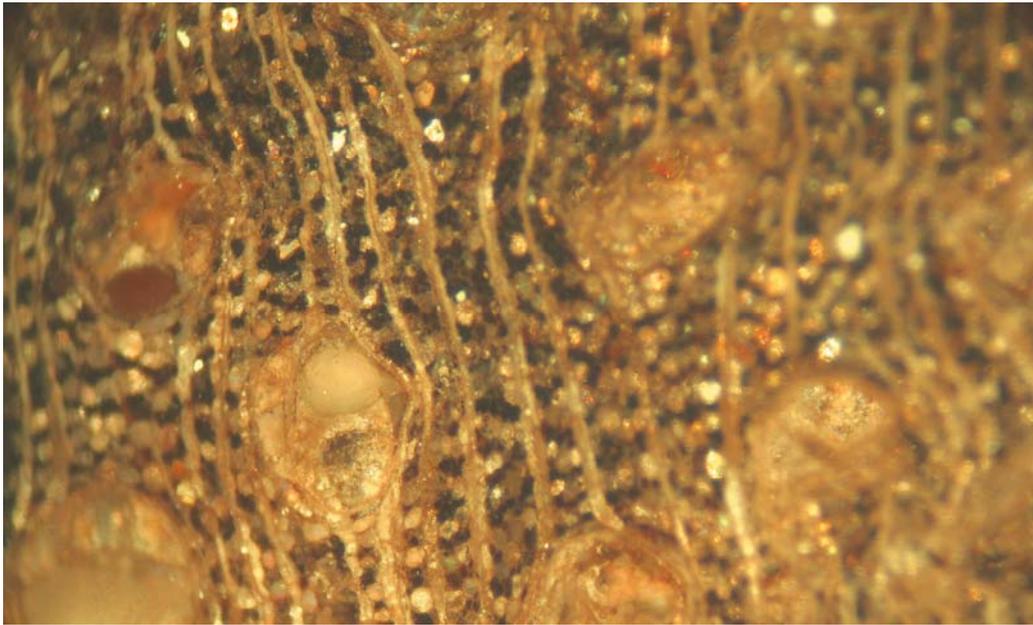


Fig. 28 – Superficie levigata di un campione di legno fossile dell'Arizona. Sezione trasversale. Le linee verticali sono i "raggi midollari".
Obb. 12,5 ×. Polarizzatori incrociati. Fondo chiaro.

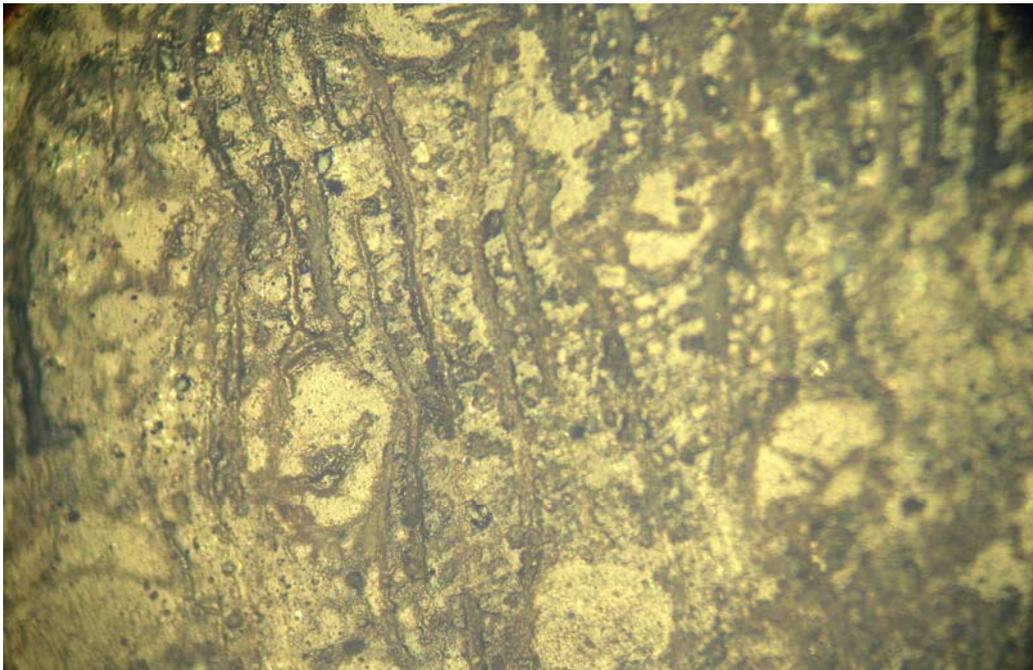


Fig. 29 – Stesso oggetto, ma senza polarizzatori. I vari riflessi abbassano il contrasto ed impediscono di vedere cosa c'è al di sotto della superficie.

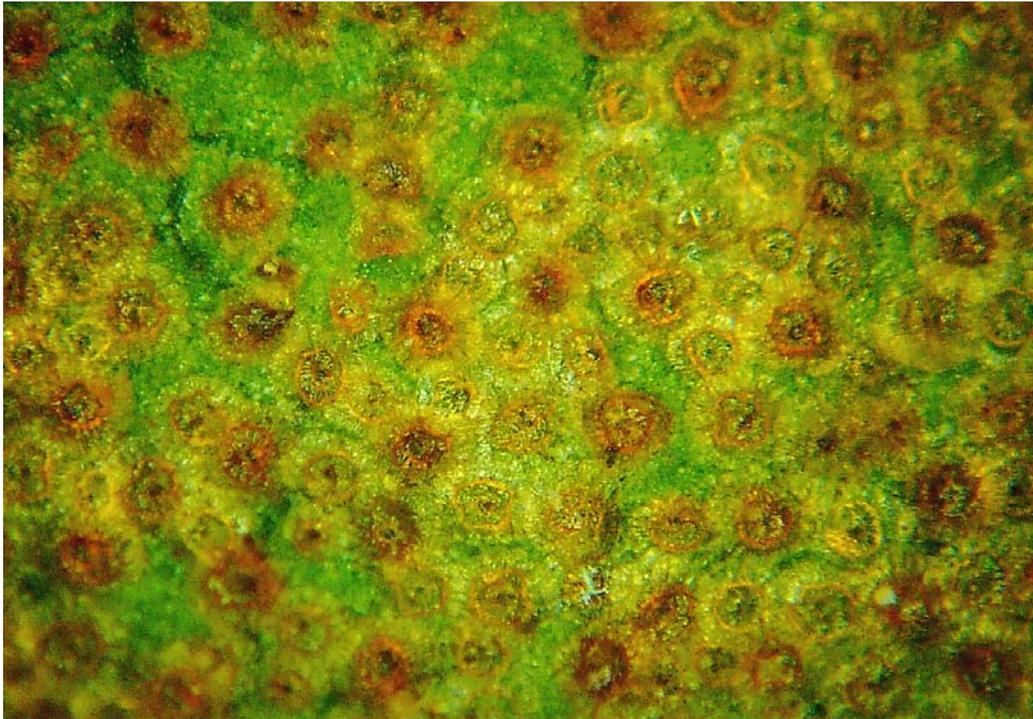


Fig. 30 – Pagina inferiore della foglia di *Rhododendron ferrugineum* L., Ericacee (“rododendro” o “rosa delle Alpi”). Ogni macchia bruniccia costituisce il tetto di un pelo a forma di ombrello a gambo corto. Poiché questi peli occupano quasi tutta la superficie inferiore della foglia, essi nascondono il verde del parenchima clorofilliano e danno alla foglia il colore di ruggine che ha ispirato il nome della specie. Obb. 5 ×. Fondo scuro omnilaterale.



Fig. 31 – Fronda di epatica (*Chiloscyphus* sp.) su ciottolo di granito. Le Epatiche sono parenti stretti dei Muschi e spesso le loro fronde sono formate da un unico strato di cellule, come avviene appunto nei Muschi. Si riconoscono le singole cellule. Qua e là, bianchi granuli di polline di abete, riconoscibili per la presenza di due borse sferiche laterali, depositati da una pioggia recente. L’oggetto è stato fotografato semplicemente ponendo il ciottolo sul tavolino; in diascopea, sarebbe stato necessario staccare la fronda dalla pietra e confezionare il vetrino. Con uno stereoscopico sarebbe stato difficile risolvere le singole cellule. Obb. 5 ×. Fondo scuro omnilaterale.