



Eva Godini – ANISN F.V.G.

con la collaborazione della prof.ssa Nadia Gasparinetti
Scuola Secondaria Inferiore “Divisione Julia” – Trieste

A.S.2005-2006

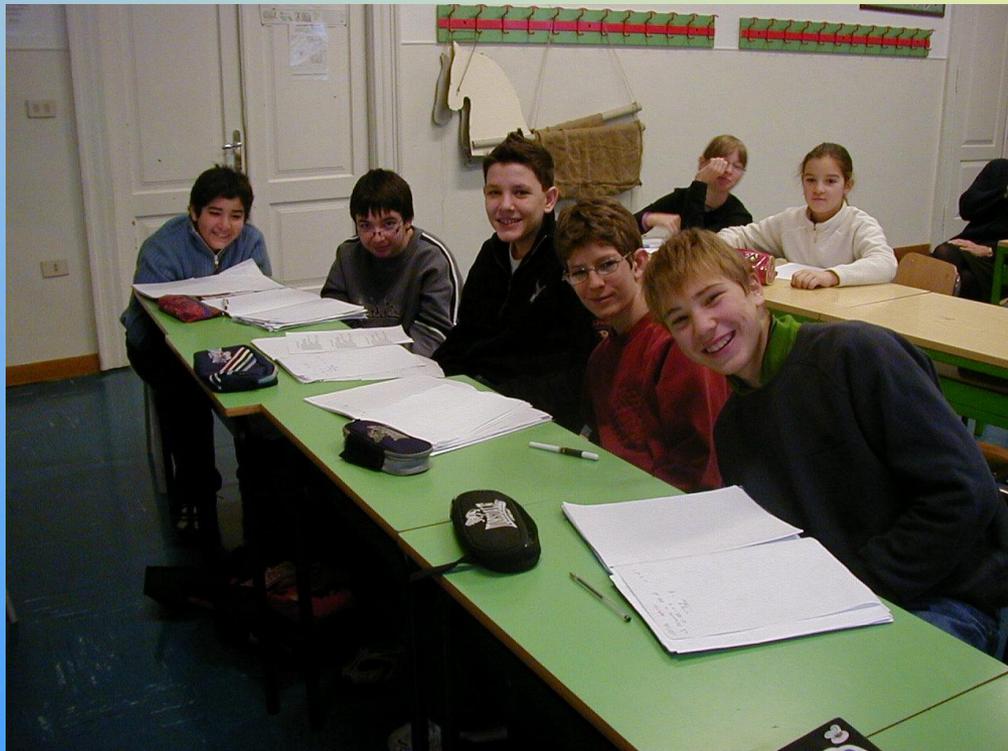
Costruzione della curva di crescita di una microalga (Dunaliella)

Un percorso laboratoriale in cui la didattica scolastica
incontra la ricerca universitaria

Un sincero ringraziamento ad Elide Catalfamo per
il suo paziente e costante apporto di consigli

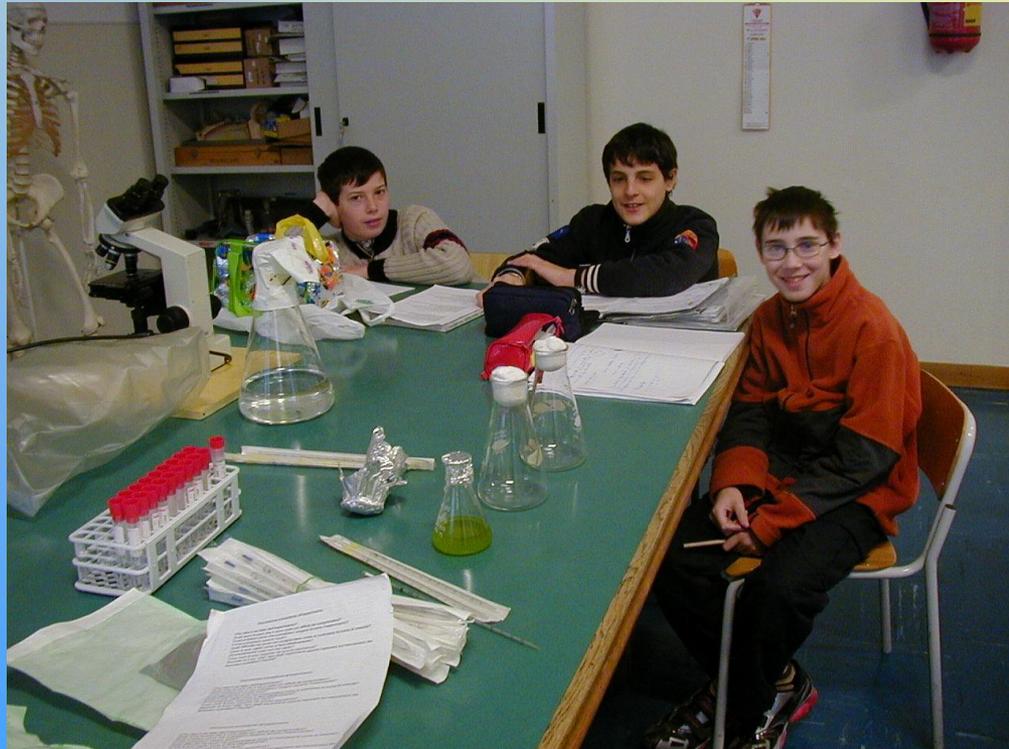
Contesto e motivazione

- Laboratorio di scienze – classe II Secondaria Inferiore
14 alunni (5 femmine e 9 maschi)
1 ora alla settimana



Contesto e motivazione

- Laboratorio di scienze – classe II Secondaria Inferiore
14 alunni (5 femmine e 9 maschi)
1 ora alla settimana



Contesto e motivazione

- Laboratorio di scienze – classe II Secondaria Inferiore

14 alunni (5 femmine e 9 maschi)

1 ora alla settimana

- Partecipazione alla “Matematica dei ragazzi”

Manifestazione in collaborazione con l’Università (Nucleo di ricerca didattica del Dipartimento di scienze matematiche)

Scambio di esperienze tra coetanei organizzato ogni due anni: ogni classe o gruppo partecipante presenta agli altri ragazzi (anche di età diverse) un’esperienza che abbia come base un argomento matematico.

Contesto e motivazione

- Quale problema abbiamo dovuto risolvere?
- **E' possibile trovare un esperimento di biologia che abbia degli "agganci matematici", per poterlo proporre all'edizione 2006 della "Matematica dei ragazzi"?**

La crescita di una coltura di microalghe con la costruzione di una curva di crescita è sembrato un esperimento ideale!!



Che cosa ci ha spinto a proporre questo percorso didattico?

Il desiderio di :

- rendere **partecipi** gli alunni di un percorso laboratoriale che essi stessi siano capaci di gestire con un sufficiente grado di **autonomia**, anche se comunque sotto la **guida** dell'insegnante
- rendere in grado gli studenti di utilizzare gli **strumenti matematici** indispensabili sia per **comprendere** le esperienze di laboratorio che per **elaborare** i dati ricavati dall'esperimento.
- rendere il gruppo classe in grado di **elaborare**, come conclusione dell'esperimento, dei materiali esplicativi adatti ad una "Mostra di matematica " **per ragazzi**

La collaborazione con l'Università e l'esperienza della ricerca scientifica

- Questo percorso laboratoriale è stato reso possibile dalla fornitura di molti dei materiali da parte del Dipartimento di Oceanografia Biologica dell'Osservatorio Geofisico Sperimentale di Trieste.



La coltura viva di *Dunaliella tertiolecta* che è stata usata per l'inoculo proviene dalle colture di microalghe del suddetto Dipartimento

La collaborazione con l'Università e l'esperienza della ricerca scientifica

- Questo percorso laboratoriale è stato reso possibile dalla fornitura di molti dei materiali da parte del Dipartimento di Oceanografia Biologica dell'Osservatorio Geofisico Sperimentale di Trieste.



Si ringraziano Paola Del Negro, Alfred Beran, Chiara Larato e Annarita De Pascoli per la collaborazione

La collaborazione con l'Università e l'esperienza della ricerca scientifica

- La trasposizione didattica di questo percorso è stata resa possibile dall'esperienza maturata dalla scrivente durante alcuni anni di lavoro nel campo della ricerca scientifica attraverso l'uso di colture microalgali in laboratorio.
- Siccome i docenti di scienze delle scuole medie inferiori e superiori hanno tutti dei percorsi universitari e post-universitari differenziati, proporre un'attività di laboratorio vorrà dire **PROPORRE LA PROPRIA PERSONALE ESPERIENZA**, nel caso in cui questa possa essere attuata con efficacia nell'ambito scolastico.

Prerequisiti e preconcoscenze del “gruppo classe”

- I prerequisiti irrinunciabili per affrontare un lavoro **complesso** quale quello proposto sono la motivazione a partecipare attivamente alla lezione per capire quello che si sta facendo, chiedendo spiegazioni ove necessario e ponendosi in maniera propositiva durante le attività pratiche.

Questi prerequisiti se non già posseduti dagli studenti possono diventare degli OBIETTIVI da raggiungere!!!

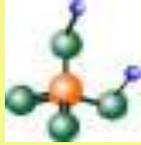
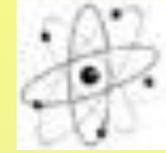
- E' importante inoltre essere capaci di **porre attenzione ad istruzioni precise** per eseguire le operazioni manuali necessarie al lavoro di laboratorio ed essere **consapevoli dell'importanza del lavorare in gruppo**.

Prerequisiti e preconcoscenze del “gruppo classe”

- Per elaborare quanto sperimentato era utile saper preparare al computer una presentazione in Power Point, utilizzando testi ed immagini
- Questa capacità è ormai posseduta da diversi studenti delle scuole Medie Inferiori



Prerequisiti e preconcoscenze del “gruppo classe”



▪ La classe aveva già trattato l'anno precedente alcuni concetti base di **biologia** e di **chimica**; era quindi a conoscenza dei concetti di: atomo – molecola – cellula.



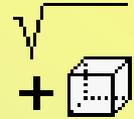
▪ Erano tutti a conoscenza del fatto che le **cellule** costituiscono i viventi, divisi in esseri unicellulari e pluricellulari. Avevano ormai ben chiaro il concetto di riproduzione.

▪ Non avevano difficoltà ad affermare che le **piante** per crescere hanno bisogno di energia, data dalla luce, e da alcune “sostanze” nutritive, non però ben precisate.



▪ Dalla chimica avevano appreso i simboli degli elementi più comuni ed il fatto che gli **atomi**, particelle piccolissime che costituiscono la materia, si organizzano in **molecole**.

Prerequisiti e preconcoscenze del “gruppo classe”



- Per quanto riguarda la matematica la classe era già a conoscenza delle unità di misura di lunghezza e di capacità fino al millimetro ed al millilitro, dei calcoli con le unità di misura, delle proporzioni, dei calcoli con numeri decimali, di come si costruisce un grafico cartesiano.

▪ Come già detto il saper applicare in modo consapevole i concetti teorici alla pratica del percorso laboratoriale diventa un OBIETTIVO molto importante da perseguire.

Cosa hanno (o non hanno) capito i ragazzi?

Quali sono state le loro maggiori difficoltà?

- I concetti di biologia che sono stati “esplorati” durante il percorso didattico non hanno creato alcuna difficoltà.
- Diversi del gruppo si sono sentiti dei veri e propri “scienziati”; tutti hanno comunque interiorizzato bene l’approccio sperimentale, ritenendolo fondamentale per la ricerca scientifica.
- Si sono resi conto però dell’importanza fondamentale dell’impostazione teorica dell’esperimento (comprensione dei meccanismi che ne stanno alla base) e della discussione successiva dei risultati pratici (nel nostro caso soprattutto l’elaborazione matematica dei dati acquisiti)

Cosa hanno (o non hanno) capito i ragazzi?

Quali sono state le loro maggiori difficoltà?

- Fondamentale è stato “**vedere**” quello che succedeva:
 - La crescita delle microalghe nelle beute è stata seguita attraverso il cambiamento di colore, da verde chiaro a verde scuro, della coltura
 - Al microscopio, “contando” le cellule presenti nei campi visivi si sono resi conto
 - ❖ che queste aumentavano da un giorno di campionamento all’altro
 - ❖ che nello stesso vetrino i diversi campi contenevano un numero diverso di cellule, per cui era necessario fare una media

Cosa hanno (o non hanno) capito i ragazzi?

Quali sono state le loro maggiori difficoltà?

- Alcuni argomenti anche se vicini a quelli trattati, rimangono “estranei” dalla conoscenza degli studenti: comprendendo perfettamente che luce e nutrienti fanno crescere le alghe, ciò che si fa sempre studiare ossia la FORMULA della fotosintesi, rimane di “oscuro significato” l’anidride carbonica? MAH.... c’era scritto sul libro, dove si trova, a che cosa serve?
- Per questo argomento si dovrà fare un altro percorso!!!

Cosa hanno (o non hanno) capito i ragazzi?

Quali sono state le loro maggiori difficoltà?

- Tutti gli alunni hanno affermato che le maggiori difficoltà sono dipese dai concetti matematici, dai calcoli pratici (trasformazioni di unità di misura, numeri decimali, divisioni...) e dall'elaborazione dei dati.
- E' stato un po' difficile "mettere tutto insieme", perlomeno all'inizio. Durante l'esecuzione dell'esperimento molti dubbi si sono risolti e i ragionamenti teorici trasformati in realtà sperimentata si sono rivelati non più tanto difficili da capire.

Cosa hanno (o non hanno) capito i ragazzi?

Quali sono state le loro maggiori difficoltà?

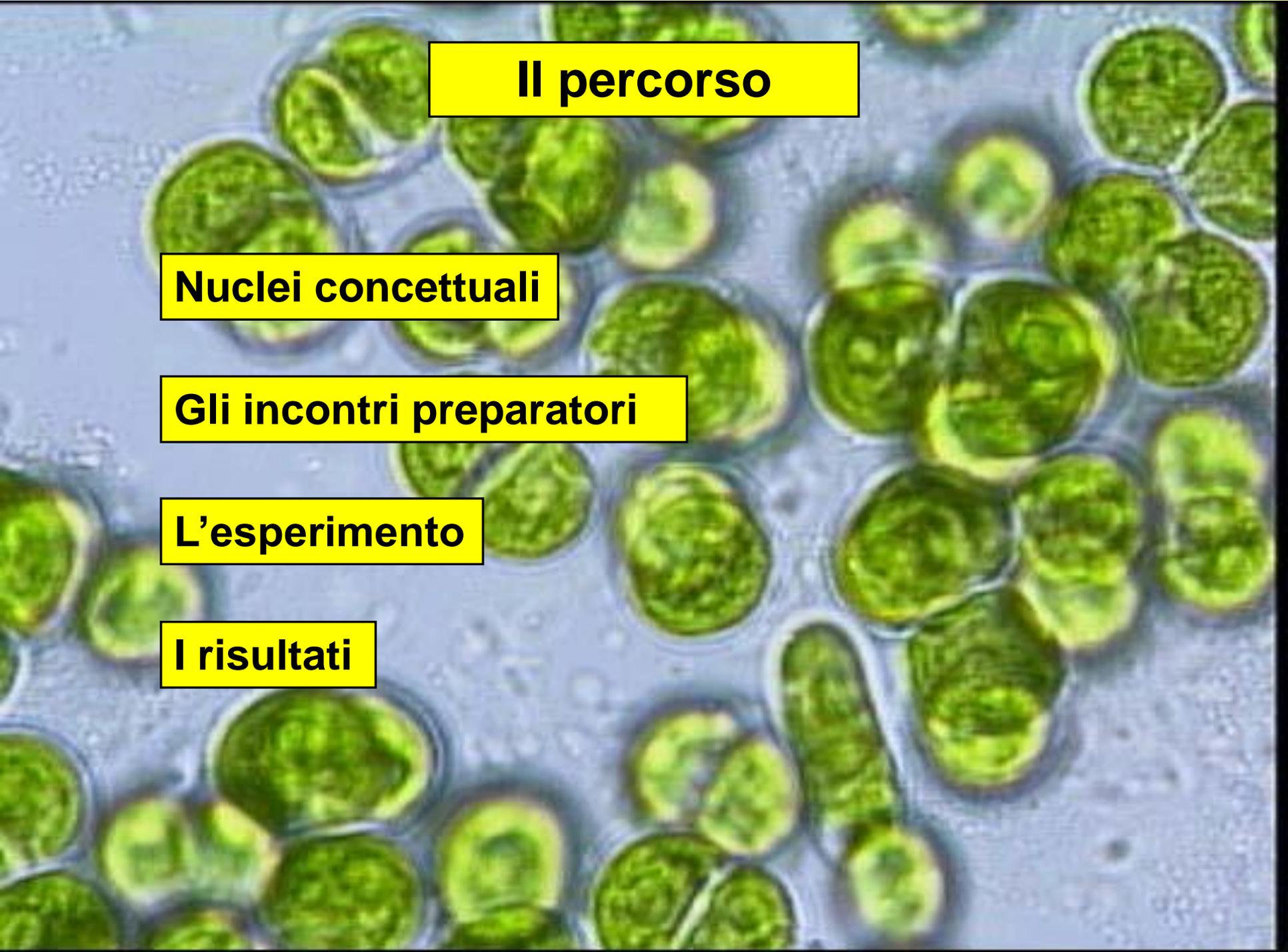
- E' stato sicuramente difficile per i ragazzi lavorare in gruppo. Infatti le diverse personalità dei singoli hanno influenzato molto la conduzione del lavoro.
- Più che collaborare nel gruppo al fine di ottenere un buon risultato complessivo, ciascun studente ha lavorato soprattutto per sé; talvolta questo comportamento ha creato problemi perché non c'è stato l'impegno di "aiutare a fare bene" chi aveva capito un po' meno bene degli altri.

Insegnare a svolgere un buon lavoro di gruppo è sicuramente uno degli OBIETTIVI che ci si deve porre!!

I problemi come spunti di riflessione

ESEMPI

- E' stato necessario cambiare metodo di conta, perché il vetrino contaglobuli (counter cell) non era adatto al microscopio a disposizione ➡ MOLTI sono i metodi che si possono usare, essi vanno valutati, modificati se possibili oppure cambiati se non adeguati.
- Il giorno del primo campionamento, per la confusione ci siamo dimenticati di mettere le provette con i campioni al buio e in frigo ➡ LE CELLULE del primo giorno di conta avevano perso la clorofilla, che era stata degradata dalla luce, ed erano trasparenti.
- Un campionamento è stato effettuato senza mescolare prima la beuta ➡ LA CONTA è risultata più bassa del previsto e ciò si vede nel grafico dei risultati.



Il percorso

Nuclei concettuali

Gli incontri preparatori

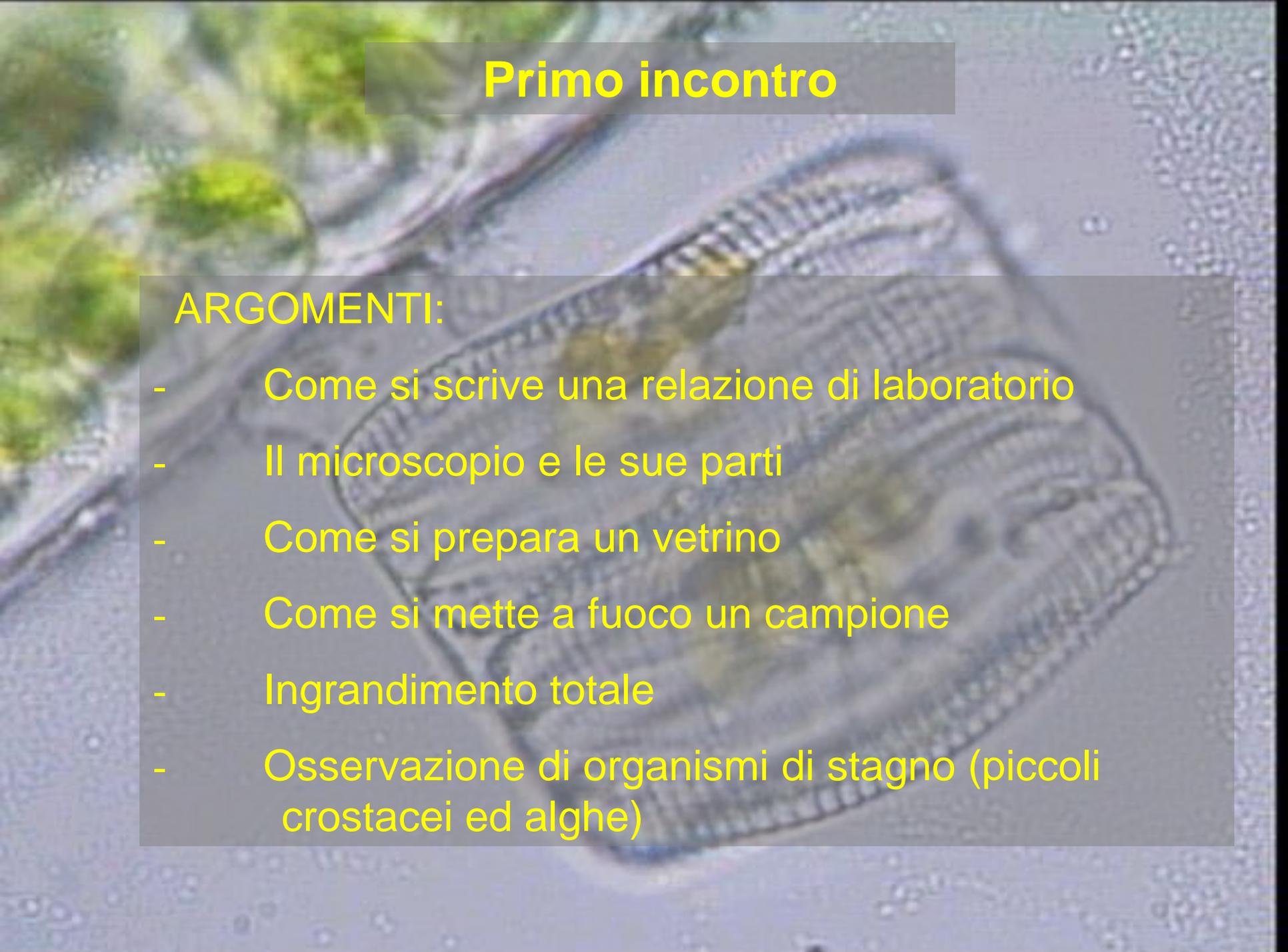
L'esperimento

I risultati

Nuclei concettuali individuati nel corso del percorso didattico

- Le alghe unicellulari come esseri microscopici, non osservabili ad occhio nudo.
- La divisione cellulare.
- Le piante utilizzano luce e nutrienti per crescere .
- Il metodo scientifico.
- La coltura di laboratorio come metodo per far crescere in maniera controllata le microalghe .
- La “sterilità” della coltura (concetti di igiene).
- La popolazione di microalghe cresce in coltura con una velocità variabile nel tempo.
- La matematica ci permette di elaborare i dati e renderli più “visibili” attraverso le tabelle di dati ed i grafici

Primo incontro



ARGOMENTI:

- Come si scrive una relazione di laboratorio
- Il microscopio e le sue parti
- Come si prepara un vetrino
- Come si mette a fuoco un campione
- Ingrandimento totale
- Osservazione di organismi di stagno (piccoli crostacei ed alghe)

Secondo incontro

ARGOMENTI:

- Organismi unicellulari e pluricellulari : cosa abbiamo visto nel campione di acqua di stagno?
- Quali organismi sono unicellulari? Batteri (10 X più piccoli), protozoi ed alghe unicellulari (MICROALGHE) - osservazione di fotografie
- Unicellulari si riproducono per semplice divisione della loro unica cellula; **SCISSIONE** nei batteri, **DIVISIONE CELLULARE** in protozoi ed alghe unicellulari.
- Osservazione al microscopio di tre diverse specie di microalghe, per osservarne la forma, determinarne le dimensioni ed individuare eventuali cellule in divisione.

Secondo incontro



Stima delle dimensioni della cellula, in mancanza di un vetrino con le tacche per la misura:

RAGIONAMENTO: se io osservo un oggetto largo 1 cm. con uno strumento che ingrandisce 40 volte, io lo vedrò grande 40 cm.

Se al contrario osservo al microscopio qualcosa che “mi appare grande” 1 cm. con l’ingrandimento di 40 X, ciò significa che in realtà il mio oggetto è grande 1 cm diviso 40, cioè $0,025 \text{ cm} = 0,25 \text{ mm}$, ossia un quarto di millimetro.

Se osservo al microscopio a 100 X qualcosa che “mi appare grande” 5 mm. in realtà quel oggetto è grande 5 mm diviso 100 ossia 0,05 mm

In pratica devo dividere la dimensione stimata per l’ingrandimento usato e trasformare nell’unità di misura più comoda, a seconda del caso.

Quarto incontro

ARGOMENTO: colture in laboratorio e curva di crescita

Scopo del ciclo di laboratori: preparare e poi eseguire un esperimento, cioè:

UNA CULTURA DI DUNALIELLA, microalga unicellulare del gruppo delle alghe verdi

A cosa serve coltivare un'alga?

Per studiare le sue caratteristiche oppure perché è utilizzabile dall'uomo (alimentazione, sostanze medicinali, vitamine, minerali, coloranti...)

Quarto incontro

Come crescono le microalghe in laboratorio nel brodo di coltura in condizioni controllate?

Per una coltura “crescere” significa aumentare il numero delle cellule presenti, che si moltiplicano di solito per divisione cellulare semplice.

All'inizio della coltura avremo quindi **POCHE** cellule nel contenitore (il liquido sarà quasi trasparente), poi il numero **AUMENTERÀ RAPIDAMENTE** fino a raggiungere un certo valore (il liquido sarà verde), alla fine il numero di cellule rimarrà più o meno **COSTANTE** nel tempo, per poi **DECRESCERE** un po'.

La curva di crescita

L'aumento di cellule avviene A DIVERSE VELOCITA': all'inizio si ha una divisione lenta, poi molto veloce, infine quasi nulla.

Fase LAG, di crescita lenta:
le alghe si devono “abituare” alle condizioni di coltura, si preparano alla crescita



La curva di crescita

L'aumento di cellule avviene A DIVERSE VELOCITA': all'inizio si ha una divisione lenta, poi molto veloce, infine quasi nulla.

Fase LOG, di crescita esponenziale: le alghe si dividono velocemente, da una a due, quattro, otto... in maniera esponenziale



La curva di crescita

L'aumento di cellule avviene A DIVERSE VELOCITA': all'inizio si ha una divisione lenta, poi molto veloce, infine quasi nulla.

Fase stazionaria: il numero complessivo di cellule non varia molto nel tempo, alcune si dividono ancora, altre iniziano a morire





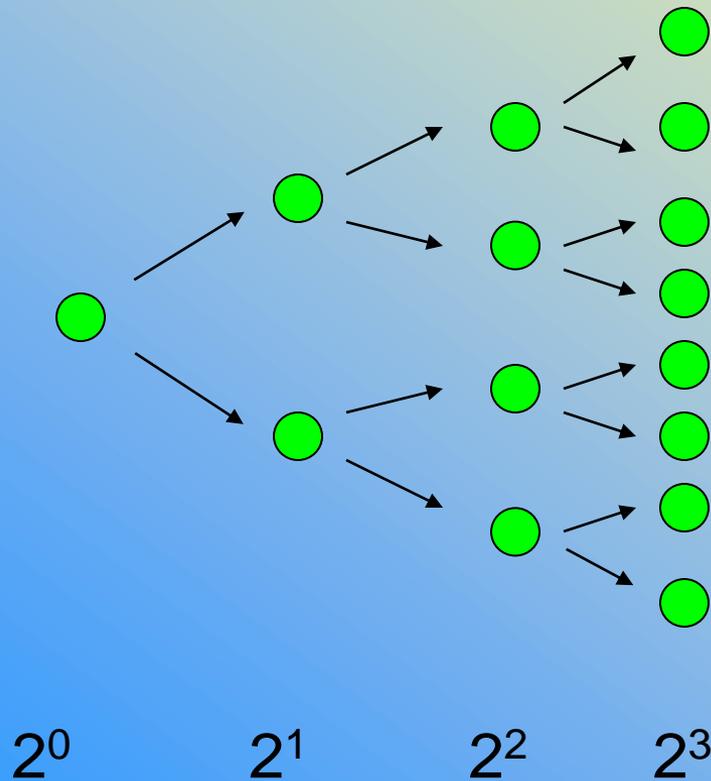
Aspetto della coltura di *Dunaliella* il primo giorno di esperimento (inoculo)



Aspetto della coltura di *Dunaliella*, a sinistra, al massimo della sua densità (fase stazionaria)

Quinto incontro

ARGOMENTO: approfondimento matematico sulla fase esponenziale della curva di crescita



La teoria matematica può risultare un po' difficile per ragazzi di seconda media, ma si è cercato di semplificare, spiegando la divisione cellulare come una potenza a base 2 .

Sesto incontro

Spiegazione dell'esperimento

Materiali e strumenti da utilizzare per l'esperimento:

- 2 beute da 500 ml
- 2 “tappi” per le beute, di cotone rivestiti da garza
- terreno liquido di coltura
- INOCULO di *Dunaliella terctiolecta*
- lampada per illuminare le beute
- timer per l'illuminazione
- termometro

Sesto incontro

Spiegazione dell'esperimento

Materiali e strumenti da utilizzare per i campionamenti:

- 2 pipette da 5 ml per ciascun giorno di campionamento, con propipetta (“porcellino”)
- 2 contenitori con tappo ermetico per ciascun giorno di campionamento
- formalina per fissare i campioni
- carta di alluminio per rivestire i contenitori
- frigorifero per conservare i campioni
- pennarello indelebile

Sesto incontro

Spiegazione dell'esperimento

Il terreno di coltura

Le alghe per crescere hanno bisogno di avere nel liquido di coltura delle sostanze chiamate in generale NUTRIENTI.

- Alcune di esse devono essere più abbondanti → MACRONUTRIENTI, soprattutto sali di azoto e fosforo
- Alcune di esse vengono fornite in minor quantità → MICRONUTRIENTI
- Il terreno contiene anche delle vitamine, in piccola quantità

L'acqua utilizzata avrà una salinità del 32‰ (per mille)

Sesto incontro

Spiegazione dell'esperimento

Materiali e strumenti da utilizzare per contare le cellule di ciascun campione:

- vetrino di Palmer per la conta delle cellule
- pipetta automatica
- microscopio

Sesto incontro



I sottogruppi “operativi”

Sesto incontro



I sottogruppi “operativi”

Sesto incontro

NOTE IMPORTANTI:

- Come tutti gli esperimenti, anche questo va eseguito “in doppio”
- Tutti i materiali da utilizzare saranno sterili: ciò significa fare in modo che le beute, pipette di prelievo, terreno di coltura, siano **PRIVI DI BATTERI**.
- Perché bisogna fare in modo che nel terreno di coltura non entrino dei batteri?
- Perché essi potrebbero interferire con la crescita delle alghe e la curva di crescita potrebbe risultare così poco precisa.

L'esperimento

Nelle due beute verrà posto velocemente il terreno di coltura sterile; subito dopo si inserirà l'inoculo di Dunaliella e si tapperà le beute con il tappo di cotone.



E' importante eseguire tutte queste operazioni rapidamente, con mani pulite, senza respirare tanto vicini ai materiali, in modo da non far entrare batteri nel terreno di coltura.

L'esperimento

Le beute verranno poste sotto la lampada che fornirà la luce necessaria per la fotosintesi delle alghe e quindi per la CRESCITA delle microalghe.



L'esperimento: il campionamento

Per costruire la curva di crescita, scopo dell'esperimento, si effettuerà un campionamento ogni due giorni, in questo modo: con una pipetta sterile si prelevano 5 ml della coltura, aprendo velocemente il tappo di cotone e richiudendolo immediatamente dopo il prelievo. I 5 ml di coltura, verranno posti in un contenitore su cui si scriverà la data del campionamento e "fissati" con una piccola quantità di formalina; il contenitore, protetto dalla carta di alluminio sarà conservato in frigorifero fino al momento della conta.



L'esperimento: il campionamento



L'esperimento: i conteggi

Metodo di conta con il vetrino di Palmer (Palmer counting cell)

Contare il numero di cellule presenti nel campo visivo

Ripetere il conteggio per N campi

Fare la media dei conteggi

Ponendo sul vetrino una quantità di liquido di 60 microlitri, all'ingrandimento di 400X:

cellule/millilitro = media dei conteggi X 28666,67

I risultati

Beuta 1

Data	Campo 1 (n°cell)	Campo 2 (n°cell)	Campo 3 (n°cell)	Campo 4 (n°cell)	Campo 5 (n°cell)	Campo 6 (n°cell)	Media (n°cell)	Cellule per ml di coltura
8/2/06	7	4	6	7	3	7	5,6	132.444,46
10/2/06	13	7	8	9	7	12	9,3	266.600,03
13/2/06	25	23	24	19	21	21	22,1	633.533,40
15/2/06	37	39	30	30	32	27	32,3	925.933,44
17/2/06	30	30	19	31	27	26	27,1	776.866,75
20/2/06	43	42	37	43	36	41	40,3	1.156.222,30

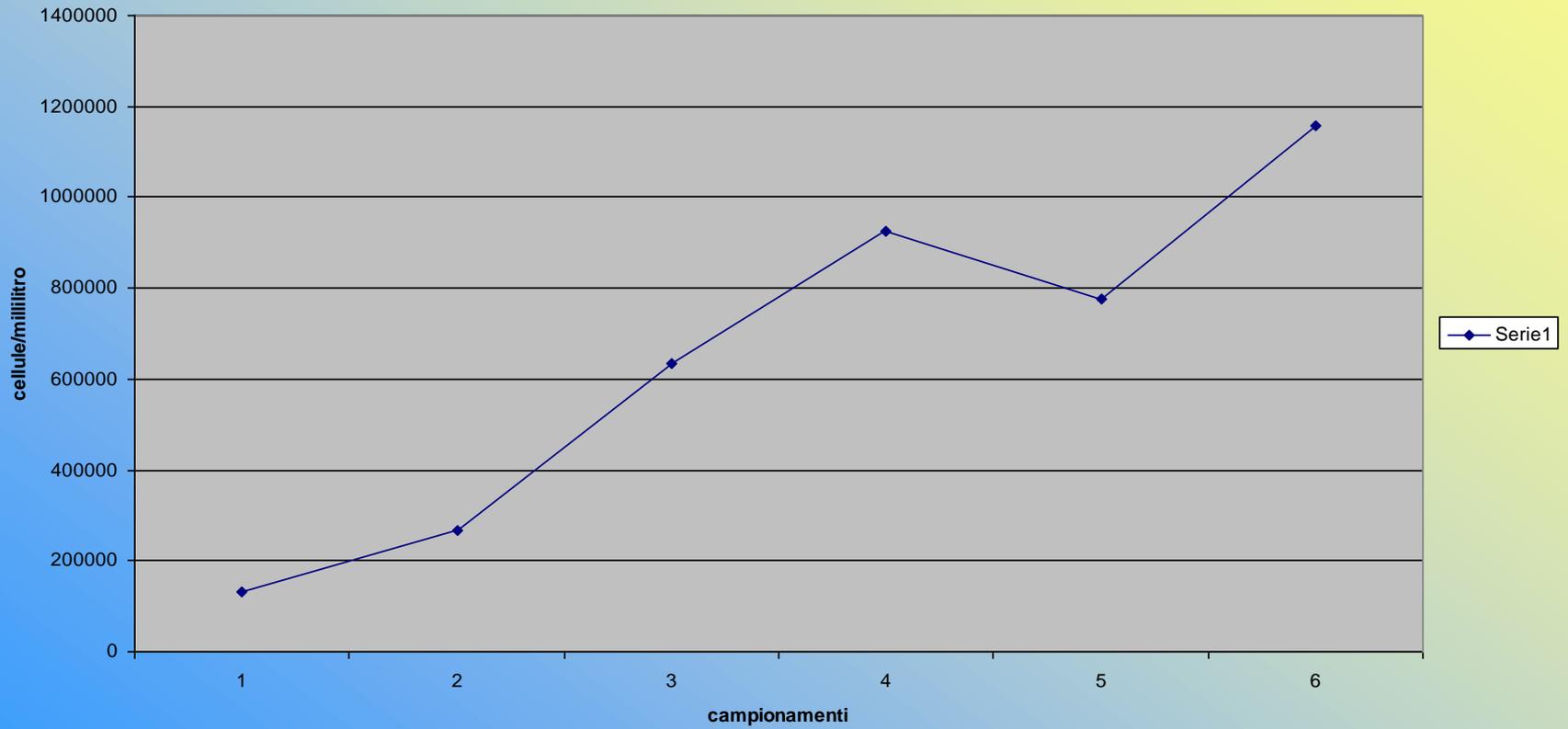
I risultati

Beuta 2

Data	Campo 1 (n°cell)	Campo 2 (n°cell)	Campo 3 (n°cell)	Campo 4 (n°cell)	Campo 5 (n°cell)	Campo 6 (n°cell)	Media (n°cell)	Cellule per ml di coltura
8/2/06	7	11	6	8	7	9	8	229.333,36
10/2/06	7	6	19	23	11	15	13,5	387.000,04
13/2/06	36	26	24	26	20	28	28,3	811.266,67
15/2/06	37	33	52	32	39	33	37,6	1.077.866,70
17/2/06	39	44	46	58	35	42	44,0	1.261.333,40
20/2/06	45	35	21	39	36	43	36,5	1.046.333,40

I risultati

beuta 1



I risultati

beuta 2

