



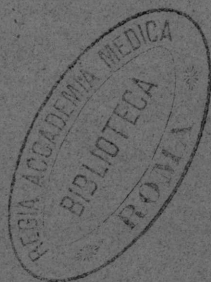
Man. B. 29.13

DEL LIMITE

DELLA VISIBILITA' NEL MICROSCOPIO

MEMORIA

DEL SIG. CONTE ABATE FRANCESCO CASTRACANE



ESTRATTO DAGLI ATTI DELL'ACCADEMIA PONTIFICIA DE' NUOVI LINCEI
ANNO XXIX, SESSIONE V.^a DEL 23 APRILE 1876.



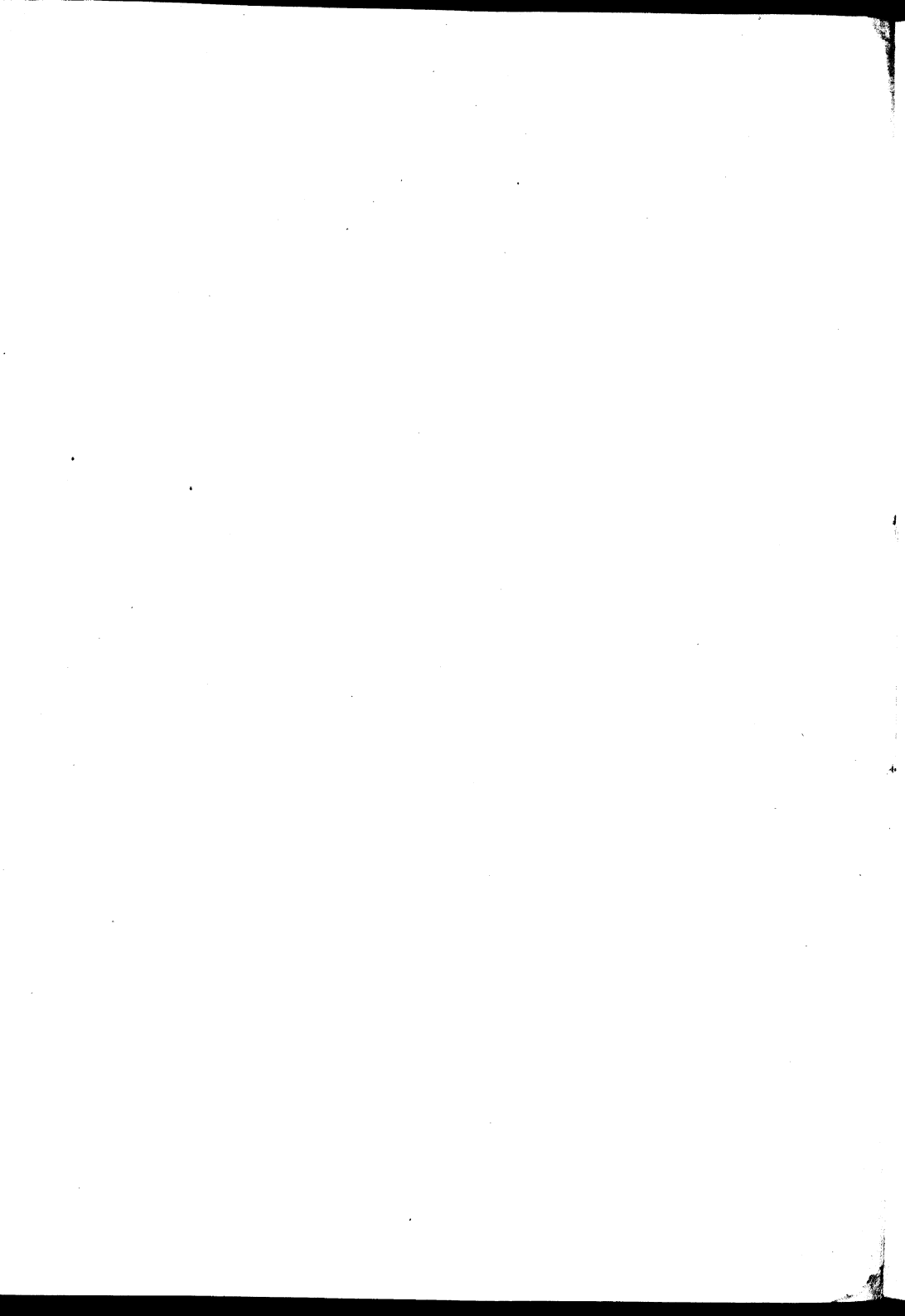
ROMA

TIPOGRAFIA DELLE SCIENZE MATEMATICHE E FISICHE

Via Lata, N° 214 A.

1876





DEL LIMITE

DELLA VISIBILITA' NEL MICROSCOPIO

MEMORIA

DEL SIG. CONTE ABATE FRANCESCO CASTRACANE

ESTRATTO DAGLI *ATTI DELL'ACCADEMIA PONTIFICIA DE' NUOVI LINCEI*
ANNO XXIX, SESSIONE V.^a DEL 23 APRILE 1876.

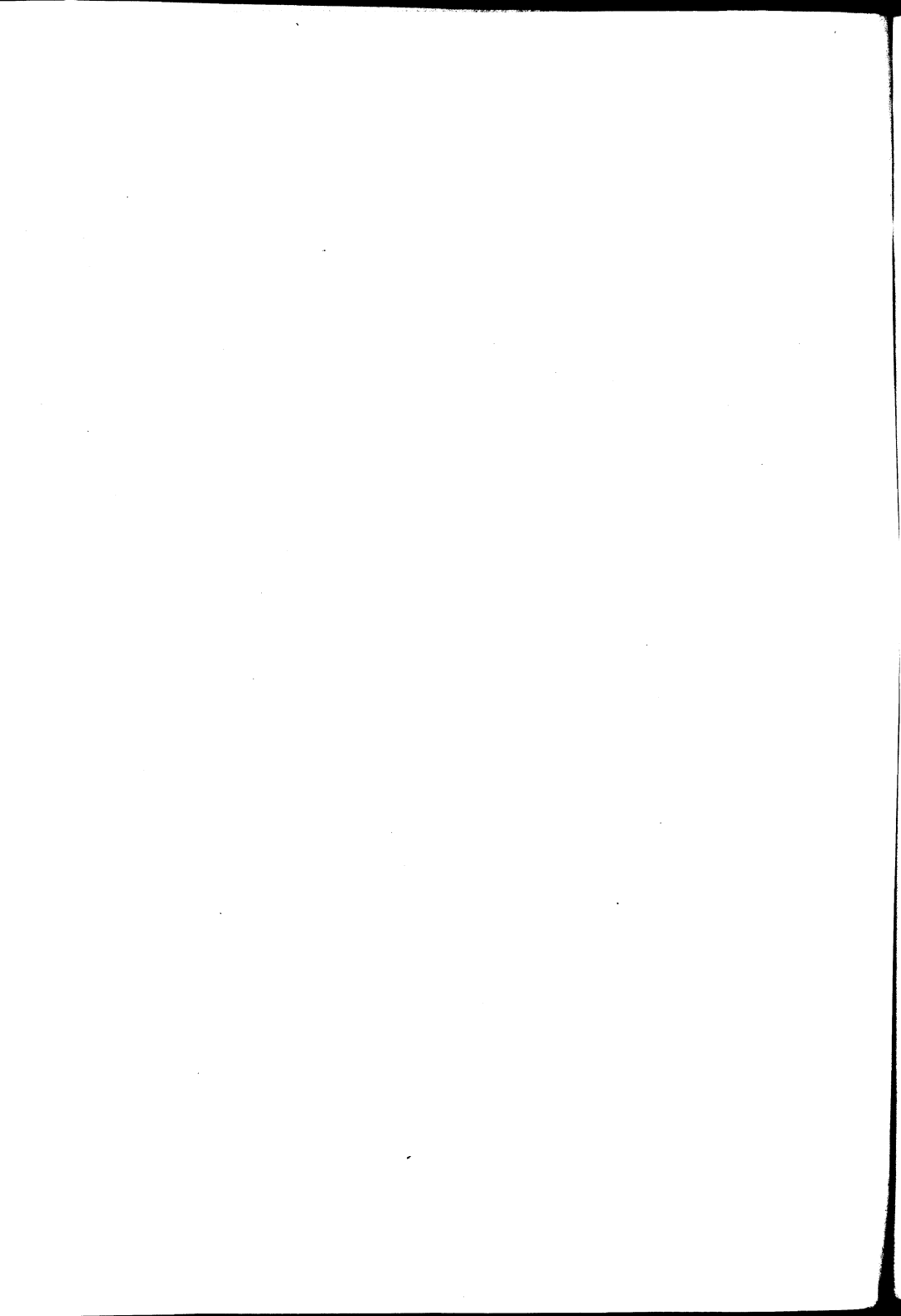


ROMA

TIPOGRAFIA DELLE SCIENZE MATEMATICHE E FISICHE

Via Lata, N° 211 A.

1876



DEL LIMITE DELLA VISIBILITA' NEL MICROSCOPIO

Nella pratica del microscopio, che da non pochi anni vado impiegando allo studio delle Diatomee, e delle loro delicatissime strie, più volte giunse a mia notizia, che dai fisici i più distinti e della maggiore autorità si riguardasse teoricamente vano l'attendere e impossibile l'ottenere dal microscopio la risoluzione di taluni dettagli strutturali nelle Diatomee stesse, i quali rimanevano a sfidare l'abilità dei migliori costruttori, e la paziente e solerte industria degli osservatori. Però, essendo io del numero di questi, e nello adoperarmi a ritrarre a mezzo della fotografia i più delicati organismi e tutte quelle delicatissime Diatomee, le quali in ragione dei loro minimi dettagli vengono adoperate come *tests*, mi dovetti avvedere di tempo in tempo, che le pretese Colonne di Ercole avevano pure ad ogni tanto da venire spostate più lontano; e di ciò ebbi prova nel principio del 1869, quando avendo avuto a gentile prestito dal Sig. Giorgio Normann uno dei prodigiosi vetri di Nobert, presentante trenta gruppi o fasci di linee parallele da più in più dense, fino a portare la divisione del millimetro diviso in 3544 parti, ad onta che fino a quell'epoca il trentesimo gruppo fosse universalmente riguardato irrisolvibile, e realmente fosse irrisolto, pure a grande mia soddisfazione mi fu dato distinguere separate e discriminare quelle quasi impercettibili strie. Mi trovavo esitante e dubbioso in tale apparente disaccordo fra le viste teoriche dei fisici di maggiore autorità ed il risultato della mia esperienza, cosicchè rimanevo ansioso di leggere e meditare l'esposizione di quelle teorie, per riconoscere se realmente si pretendesse da quelle dichiarare impossibile, quanto la pratica fosse al caso di vittoriosamente dimostrare positivamente ottenuto, risultando provata la necessità ineluttabile di modificarle. Ci giunse pertanto opportunissimo nello scorso marzo il fascicolo LXXXVII del *Monthly Microscopical Journal*, nel quale viene riportato il discorso presidenziale dell'illustre micrografo Sig. Sorby, noto specialmente per i suoi lavori sull'applicazione dell'analisi spettrale alle ricerche microscopiche. In quello con ottimo intendimento prendesi a trattare della relazione fra il limite della forza del microscopio e l'ultima molecola della materia organica e della inorganica. Ap-

parirà a ciascuno quanto un tale argomento sia interessante, e come sia eminentemente filosofico, assegnando esso il giusto valore alle deduzioni, che in ogni ramo di storia naturale possono trarsi delle osservazioni microscopiche. In pari tempo con il maggior mio vantaggio io mi vedevo riportato dalla più competente autorità, il sunto della teoria emessa dall'eminente fisico professore Helmholtz, nella quale si ha la dimostrazione fino al giorno d'oggi meglio escogitata di quanto attualmente può dirsi, ed è riconosciuto per ultimo limite del microscopio. L'essermi io da lungo tempo adoperato nel richiedere a quel prezioso strumento di osservazione quanto più se ne poteva attendere, e (dirò ancora), l'averne io ottenuto non pochi belli risultati, mi hanno persuaso della opportunità di trattare l'argomento con riassumere le idee dei Sigg. Sorby ed Helmholtz, aggiungendovi quanto mi ha dato l'esperienza, e ciò non ad altro scopo che di sottoporre il tutto al giudizio di quelle somme autorità, non che a quanti altri si occupano del microscopio e delle leggi fisiche della luce; rimettendo al loro supremo giudizio il riconoscere se da quanto finora abbiamo possa ritenersi che il microscopio abbia detto la sua ultima parola, e se la ricevuta teoria non debba essere ancora rivista, e in qualche punto modificata.

In altra occasione io parlai del limite della visibilità per i minutissimi oggetti, e ricordai come sia sentenza dei migliori moderni fisiologi che il limite subiettivo di quella, ossia quel limite, il quale viene determinato dalla facoltà di percezione per parte della retina dell'occhio dipende dalla maggiore o minore dimensione dei bastoncelli, ossia dei così detti coni percipienti, i quali con la loro fronte l'uno all'altro appressata costituiscono la superficie della retina, cosicchè intanto un oggetto, o una forma qualunque può essere percepita dalla retina, in quanto che l'oggetto stesso sia di tale dimensione, che l'immagine, la quale viene a formarsi per l'incrocciamento dei raggi a traverso la lente dell'occhio, possa simultaneamente colpire almeno due dei suddetti bastoncelli, o coni, o elementi percipienti, che si vogliano dire. In quella occasione riferii ancora, come l'esperienza avesse dimostrato, che il limite della visibilità per parte dell'occhio di persona sana, e dotata di buona vista normale siasi determinato dal ch. professore Thury di Ginevra a $\frac{1}{10}$ di millimetro, benchè io abbia sperimentalmente riconosciuto come questo limite in me sia notevolmente più spinto, avendo provato che posso arrivare a distinguere l'intervallo fra due linee distanti tra loro $\frac{6}{100}$ di millimetro. Ma che che ne sia della teoria fisiologica della percezione delle immagini per parte dell'occhio disponente semplicemente della sua naturale facoltà, noi abbiamo da ri-

portare la nostra attenzione alla visione degli oggetti minimi, in quanto questa può ottenersi dal nostro organo visivo con il potente aiuto del microscopio. Sotto tale riguardo, quando l'oggetto venga osservato (come il più spesso accade) a luce trasmessa, ossia per trasparenza, intanto un oggetto può rimanere visibile (come ottimamente definisce il Sorby) in quanto che esso, o assorbe abbastanza dell'istessa luce da fare che vi sia un tale contrasto con il campo generale, perchè l'occhio lo riconosca, o esso deve essere di tale forma e di tale potere rifrangente in relazione al circostante mezzo da curvare i raggi della luce, che passano presso il contorno, fuori della direzione del fascio trasmesso, per modo da dare origine ad un sufficiente definito oscuro profilo.

Ma nel parlare del limite della visibilità nell'uso del microscopio abbiamo da supporre, che l'oggetto sia di per sè stesso visibile, se pure non venga da fonte esterna ostacolo alcuno alla sua percezione; quindi non intendiamo occuparci del lato fisiologico della questione, ma semplicemente della parte istrumentale. Però in tale ricerca noi profitteremo della valevole scorta dell'illustre micrografo Sig. Sorby, e di quella del ch. Professore Helmholtz, la cui autorità in simile materia è da tutti riconosciuta come la più competente. Questi a buon diritto osserva, che la visibilità di un minimo oggetto il più spesso non dipende tanto dalla sua dimensione quanto dalla suscettibilità dell'occhio ad apprezzare la minima differenza nella intensità della luce. Se questo si riconosce sempre vero, lo è poi in particolar modo quando l'oggetto è osservato per trasparenza a luce diretta e trasmessa. Così non v'è chi ignori quanto riesca meno sensibile il dettaglio strutturale di un *Pleurosigma angulatum* preparato al balsamo di Canada, di quello che quando (come il più spesso si usa) è preparato a secco. Nell'un caso e nell'altro la visione si fa per il diverso grado di deviazione dei raggi luminosi nel traversare uno strato che a luogo a luogo presenta uno strato di diversa spessezza, e di diverso potere refrangente. Quindi è che essendo tanto più lontano l'indice di rifrazione della silice da quello dell'aria che non lo sia l'indice della materia silicea (della quale consta la valva di quella Diatomea) da quello del balsamo di Canada, rimane facile l'intendere come ne risulti notevolmente più agevole lo scorger nettamente i minimi dettagli alla superficie delle valve di Diatomee preparate a secco ed in cellula vuota, di quello che quando le stesse ritrovinsi immerse ed incorporate in uno strato di balsamo. Avevo pertanto ben ragione io, quando ad apprezzare la bontà di un microscopio consigliavo dare la preferenza alle valve di Diatomee immerse nel balsamo, come per l'appunto è della così detta *test-plate* di Möller, nella quale trovansi disposte in una linea

venti diverse Diatomee scelte a rappresentare in serie i diversi gradi di difficoltà, che vengono presentati dai minutissimi elementi strutturali delle Diatomee. Così pure non raramente avviene a chi si occupa in osservazioni microscopiche molto delicate, e specialmente a chi si adopera nelle ricerche delle finissime forme saline delle Diatomee, che talvolta, quanto sulle prime non si scorre, riconosci ad un momento dopo fedelmente spiegato innanzi gli occhi. Questo non di rado accade nell'esame di raccolte marine, specialmente con le lievissime valve degli *Asterolampra* ed *Asteromphalos*, e *Ryzosolenia*, e con le tenuissime forme dei *Chetoeros* e dei *Bacteriastrium*, e ciò per l'estrema esilità e conseguente trasparenza di quelle, che conglutinate nello strato resinoso del balsamo appena fanno deviare i raggi trasmessi che le illuminano, così che l'impressione risultante dall'immagine dell'oggetto nella retina dell'occhio è appena sensibile. Questo poi in particolar modo mi avvenne quando io tentai ottenere la risoluzione delle linee negli estremi gruppi del *test* di Nobert. Quando la difficoltà di risoluzione sentivasi enormemente aumentata dalla estrema finezza degli ultimi fasci di quelle portentose strie, spesso mi si affacciava il sentimento della sfiducia, e dello scoramento in sormontare l'enorme difficoltà, ritenendo impari a quella i mezzi artificiali e naturali, dei quali disponevo. Nel riposare la vista con la disposizione di spirito di uno, che a suo marcio dispetto sente di non potere vincere una difficoltà, riportando pure di nuovo il mio occhio al microscopio, quale non fu la mia meraviglia e gratissima sorpresa nel vedere, che senza avere più oltre modificato la luce e la distanza focale, il mio occhio era colpito dalla immagine di quelle minutissime linee, che prima non arrivai ad onta di qualunque sforzo, a vedere disperandone interamente. E questo servirà a dimostrare quanto relazione e influenza abbia pure nelle più difficili prove del microscopio la parte subbiettiva dell'osservatore non solo per la capacità organica e strutturale del suo occhio, alla quale già si fece allusione, ma ancora e forse più per la educazione dell'occhio, ad ottenere la capacità a percepire alcune minime differenze di luce e di ombre, le quali contribuiscono alla formazione della immagine e dei suoi minimi dettagli; la quale educazione si acquista penosamente con l'esercizio, mediante lo stato di sanità dell'occhio, e la condizione di relativo vigore dell'organo visivo, eccitato da lavoro moderato, e non oppresso da eccessiva fatica.

Tutto questo, per quanto grandemente influisca nelle ricerche più delicate, e nelle estreme prove del microscopio, può troppo difficilmente essere tenuto a calcolo, come quello che enormemente si complica in ragione dei molti fat-

tori che vi influiscono; e più in ragione del diverso grado, secondo il quale quella influenza viene esercitata da ciascuno in ogni caso particolare. Meno ribelle ad una adeguata calcolazione riuscirà il lato strumentale della questione, come quello che può essere ad ogni istante controllato dalle leggi fisiche, e in particolar modo da quelle dell'ottica. Ed è di questo per l'appunto che in più special modo si occuparono l'Helmoltz, e il Sorby studiandosi di determinare per mezzo dell'applicazione delle leggi fisiche e della Diottrica quale sia l'ultimo limite possibile del potere risolvete nel microscopio. Quando si sottopone all'istromento un oggetto, o forma qualunque da illuminare per trasparenza, noi vediamo nel lucido campo di quello che è rischiarato dai raggi riflessi dello specchio disegnarsi la figura dell'oggetto per mezzo della parziale minorazione della luce, che più o meno viene assorbita dall'oggetto stesso in ragione della sostanza, della quale consta, e in relazione della sua spessezza, densità, trasparenza e colore, così che la luce viene nel suo tragitto parzialmente assorbita, e l'immagine risultante corrisponde esattamente alla forma dell'oggetto, rappresentandolo con una immagine oscura in campo chiaro, e dicesi *immagine di assorbimento*. Se poi l'oggetto, che si è preso ad esaminare a mezzo del microscopio, vada distinto nella sua superficie da minime particelle strutturali, come accade delle valve delle Diatomee, e delle plumule o squamme di taluni insetti, la facoltà per la quale il microscopio mette l'osservatore in condizione di distinguere e discriminare quelle minime particelle l'una dall'altra è detta *forza di risoluzione*, e *risolverè* dicesi l'apprezziazione che si fa degli intervalli che li dividono, e tale atto ci dà la certa nozione della individualità reale di ciascun punto o granulo, e di ciascuna stria o linea.

Secondo il professore Helmholtz la *forza di risoluzione* nel microscopio, vale a dire la discriminazione delle minime particelle strutturali, che ad eguali minimi intervalli presentansi in una data superficie di oggetto sottoposto all'esame di detto istromento, ha il suo limite, il quale viene determinato dalla interferenza dei raggi, che illuminano attraversando l'oggetto stesso. Un pennello di luce o un fascio di raggi, il quale nel suo tragitto incontra un ostacolo, è costretto deviare dal suo cammino nella parte, che non viene respinta e riflessa indietro, e questo ne determina la decomposizione, la quale viene espressa dalla presenza di talune frange, ossia dal succedersi a minime distanze di linee alternativamente oscure e lucide, le quali sono la ripetizione di quelle linee o profilo, che determinò la deviazione di raggi dalla primiera direzione. Se gli spazi o intervalli fra queste così dette *frange di interferenza*,

siano a tale distanza da far collimare le linee lucide con ogni serie di punti, e con ciascuna stria dell' oggetto in esame in modo da sovrapporre esattamente, è evidente che in tale caso la serie di punti, e le strie ne rimarranno obbliterate, e il microscopio per quanto possa essere eccellente e perfetto, e qualunque pure sia l'abilità dell'osservatore, non arriverà mai a rivelare la presenza di quei minimi dettagli. Partendo da questo dato l'illustre professore, stabilito prima come il limite di vera e distinta visione dipende dall'angolo di divergenza della luce che entra nell'obbiettivo del microscopio, e dalla larghezza dell'onda luminosa, esprime la teoria nella seguente formola algebrica, chiamando

δ = la distanza delle linee o punti

α = l'angolo di divergenza

λ = la larghezza dell'onda luminosa,

quindi stabilisce la seguente equazione, la quale dovrà esprimere l'ultimo limite della visione nel microscopio, ossia il limite della sua forza di risoluzione

$$\delta = \frac{\lambda}{2 \operatorname{sen} \alpha}.$$

Da questa equazione chiaramente risulta quanto nell'uso del microscopio sia l'importanza dell'ampiezza dell'angolo di apertura dell'obbiettivo, mentre « l'angolo di divergenza, come bene definisce il Sorby, è equivalente ad una metà del vero angolo di apertura, quando sia illuminato da un egualmente largo pennello di luce ». Però è noto a tutti gli ottici pratici quanta sia la difficoltà tecnica in combinare un obbiettivo della massima possibile apertura angolare, la quale deve sempre essere proporzionale alla lunghezza focale del medesimo obbiettivo. Nè questo basta a limitare il potere risolvante del microscopio, il quale, oltre che viene limitato dalle condizioni fisiche della luce e dalla divergenza del fascio dei raggi illuminatori, dipende ancora naturalmente dal migliore aggiustamento focale, e dalla perfetta correzione delle lenti, le quali condizioni dalla formola di Helmholtz vengono supposte teoricamente ed assolutamente perfette.

Nell'applicare pertanto la formola di Helmholtz per determinare il limite della visibilità nel microscopio, ossia la minima dimensione percettibile degli intervalli eguali esistenti fra le diverse serie di punti, o le diverse linee o strie, che distinguono la superficie di qualsiasi oggetto da esaminare con il potente aiuto di perfetto microscopio, il ch. sig. Sorby nel citato suo discorso presidenziale indirizzato alla reale società microscopica di Londra indica la

larghezza dell'onda luminosa dei raggi estremi e medio dello spettro in frazione di pollice inglese, come appresso :

Per il raggio rosso estremo $\frac{1}{37350}$

Per il raggio di mezzo $\frac{1}{46480}$

Per il raggio violetto estremo $\frac{1}{60470}$

ed in pari tempo dà una tabella da esso calcolata per diversi angoli di divergenza notevolmente differenti tra loro, la quale tabella indica approssimativamente i limiti di divergenza dei diversi raggi, che possono essere ammessi da obiettivi, i quali però non siano ad immersione. Ecco la suindicata tabella a frazioni di pollice inglese; la quale tabella per maggiore facilità è stata espressa in numeri rotondi i più prossimi a quelli dati realmente dal calcolo

	60°	97°	120°	150°	180°
Raggio rosso estremo	$\frac{1}{87000}$	$\frac{1}{55000}$	$\frac{1}{64000}$	$\frac{1}{71000}$	$\frac{1}{74000}$
Raggio di mezzo	$\frac{1}{46000}$	$\frac{1}{69000}$	$\frac{1}{80000}$	$\frac{1}{89000}$	$\frac{1}{92000}$
Raggio violetto estremo	$\frac{1}{60000}$	$\frac{1}{90000}$	$\frac{1}{504000}$	$\frac{1}{116000}$	$\frac{1}{120000}$

Il ch. Autore avverte, che la suddetta tabella è calcolata per obbiettivi a secco, mentre per quelli costruiti sul principio della immersione è provato, che ad eguale apertura angolare hanno il loro limite circa ai tre quarti delle suaccennate grandezze; vale a dire, che a pari apertura l'obiettivo ad immersione può arrivare a distinguere degli intervalli di tre quarti più piccoli dei minimi distinguibili con un obiettivo a secco. E questo desiderio si tenga bene in mente, dovendo in appresso presentarsi occasione di doverlo ricordare, e di dedurne qualche conseguenza. Naturalmente l'ingrandimento del microscopio da adoperarsi nella risoluzione di quelle minime particelle dovrà essere in rapporto della loro picciolezza, adoperando i maggiori ingrandimenti con gli estremi minimi dettagli; però si dovrà per altra parte ricordare, che l'impiego delle maggiori amplificazioni con particolarità strutturali non tanto minute, riesce meno opportuno, implicando all'aumento delle dimensioni delle immagini dei dettagli l'esagerazione ancora dei difetti di quelle immagini.

Le maggiori aperture angolari formano il pregio e la prima qualità più imperiosamente reclamata a risolvere e definire le serie di punti o le linee, che a minimi intervalli si succedono alla superficie di taluni oggetti, come

le valve delle Diatomee, quantunque gli obbiettivi dotati di così grande apertura angolare possano riescire (e di frequente realmente riescano) men buoni nell'esame di altre specie di organismi. Ma la qualità della migliore definizione in un dato sistema di lenti dipende non meno da altre circostanze, mentre, oltre all'influenza disturbante che può avere origine dai fenomeni d'interferenza dipendenti dalla natura della luce, abbiamo di sopra ricordato quanto grande parte abbia nel risultato la capacità naturale e l'acquisita dell'occhio dell'osservatore, e quanto dipenda ancora dalla perfetta disposizione e manifattura dell'istrumento. Per le quali considerazioni a buon diritto il Sorby per procedere a concretare qualche conclusione astrae dalla capacità dell'organo visivo dell'osservatore, e dalla sua pratica abilità, e suppone avere per le mani un microscopio *teoricamente perfetto*. Partendosi pertanto da tal punto di vista esso stabilisce, che un obbiettivo a secco non potrà mai arrivare a rendere visibili degli intervalli minori di $\frac{1}{80040}$ di pollice, il che equivale approssimativamente a $\frac{1}{3200}$ di millimetro. E seguitando ad applicare i dati della tabella riportata di sopra, il ch. Autore fa vedere, che le frange dovute al raggio estremo rosso impedirebbero la percezione degli intervalli, che misurassero $\frac{1}{94000}$, come quelli di $\frac{1}{94000}$ non potrebbero essere resi visibili dal raggio più luminoso dello spettro, che è quello di mezzo, e solamente l'uso se fosse possibile del raggio violetto estremo potrebbe lasciare distinguere linee distanti l'una dall'altra di $\frac{1}{440000}$, mentre le più brevi onde di questo raggio oblierebbero quegli intervalli, che misurassero $\frac{1}{420000}$ di pollice.

Tale è la teoria del limite della visione microscopica, nel caso però che si tratti non della visione di un solo punto isolato, ma bensì allora che si richieda dall'esame microscopico la percezione certa e netta di serie di punti o della successione di strie o linee eccessivamente ravvicinate. Le speculative dottrine del professore Helmholtz vennero per tal modo riassunte e confermate dalla competentissima autorità del sig. Sorby. Sarei pertanto troppo temerario, se io oscuro e modesto micrografo osassi entrare in simili discussioni teoriche con scienziati di tanta rinomanza. Però la lunga pratica del microscopio acquistata nell'adoperare quell'istrumento di osservazione nello studio di quelli organismi, i quali per eccellenza ne richiedono le più efficaci combinazioni, credo possa autorizzarmi a portare in mezzo il risultato della mia esperienza, e ciò non ad altro scopo che di assoggettare il tutto al giudizio di quei sommi, affinchè riconoscano se l'esperienza realmente conferma l'esposta teoria, o se invece non debbasi riconoscere la necessità di qualche modificazione alla teoria stessa, cosicchè si debba ritenere, che anche allo stato in cui si trova,

il microscopio non abbia ancora detto la sua ultima parola. E difatti, la necessità di confrontare la teoria con la pratica fu spontaneamente riconosciuta dal sig. Sorby, il quale su la testimonianza di Helmholtz ci riferisce come Dippel abbia da reiterate esperienze trovato che il limite della vera risoluzione delle strie di Nobert si arresti al $\frac{1}{90000}$, il che precisamente sarebbe dentro i limiti di visione del raggio di mezzo dello spettro con la più grande apertura angolare. Oltre di questo l'illustre professore tedesco spiegherebbe come Stinde abbia potuto ritrarre in un fotogramma della *Surirella Gemma* delle linee, le quali si dicono essere ad intervalli di $\frac{1}{100000}$ di pollice nel riflesso che, come nella fotografia il raggio attivo è l'estremo violetto dello spettro, nel quale ha luogo il massimo attinismo, questo raggio avendo l'onda più breve, ne consegue che precisamente quello sia il raggio, il quale può arrivare a risolvere e definire spazi così eccessivamente ristretti. A tutto questo però avrei da aggiungere qualche riflessione. E prima di tutto mi sia permesso osservare, che la misura data per le linee (che certamente sono le longitudinali) della *Surirella Gemma* ritengo che sia esageratamente minore del vero. Le valve di quella interessante specie costituiscono un *test* molto rigoroso, non tanto per la minutezza dei suoi dettagli, quanto per il rilievo di quelle, rendendosi per tale ragione difficile l'illuminarle convenientemente con raggi obliqui. Però per quanto sia difficile il vederne perfettamente disegnate le divisioni longitudinali, o (a parlare con più rigorosa esattezza) per quanto possa rimanere arduo il distinguere nettamente la forma degli sferoidi, che costituiscono l'elemento strutturale di quella *Diatomea*, si hanno nell'istesso ordine di organismi diversi altri tipi, che sorpassano quella in finezza e difficoltà, come la *Frustula Saxonica*, la *Nityschia curvula* e l'*Amphipleura pellucida*, le quali non presentano neppure esse una divisione, che arrivi alla finezza attribuita alla *Surirella Gemma*. Questa pertanto non fu ritratta a mezzo della fotografia soltanto da Stinde, che oltre alle diverse magnifiche prove avutene dall'insigne micrografo americano colonnello Woodward, fu ancora superbamente ritratta dal dottore Gustavo Fritsch di Berlino, ed io stesso ne ottenni una figura ritraente i più piccoli dettagli dalla preparazione al balsamo, detta *test-plate* dell'esimio preparatore Möller: però non potrei calcolare il numero di quelle divisioni a più di 3000 al millimetro, che corrisponderebbero a 75000 al pollice inglese, e quindi l'intervallo sarebbe di un quarto più grande della misura indicata. Tale esagerata indicazione a mio credere procede dall'uso di alcuni micrografi di calcolare il numero delle minutissime strie sulla base del confronto del micrometro oculare, il quale processo (come

in altra occasione osservai in seguito di esperienza fattane) riesce tanto più fallace quanto maggiore sia il numero di quelle minutissime parti per un dato spazio, e quindi più difficile la stima. All'istessa causa vuolsi attribuire l'enorme numero di strie che i sigg. Sollitt e Harrison calcolarono per l'*Amphipleura pellucida* a 130000 al pollice inglese, ciò che corrisponderebbe approssimativamente a 5200 al millimetro, il quale numero concordemente si riconosce da tutti, che ad onta dei più grandi progressi del microscopio nè si è arrivato a vedere, nè forse vi si arriverà mai.

Ma se la determinazione del numero delle strie nelle Diatomee più fine e più difficili può essere soggetta a contestazione, non lo può certamente essere quella delle minime lineette, che vengono tracciate sul vetro del portentoso diamante della famosa macchina a dividere di Nobert. Nelle sue preparazioni di *linee-test* il Nobert ha saputo tracciare linee delicatissime disposte e distribuite in fasci da più in più serrati; finchè ha saputo tracciarne ad intervalli così estremamente piccoli da sorpassare in finezza le strie delle più difficili e fine Diatomee. In tale caso noi siamo fatti certi del rapporto degli intervalli delle strie componenti ciascun fascio con il millimetro, il quale rapporto fu finalmente spinto nelle ultime preparazioni distinte in 19 gruppi o fasci fino a $\frac{1}{1130}$ del millimetro. Il professore Helmholtz nel riportare il giudizio di Dippel, il quale dichiara non essere possibile l'ottenere la vera risoluzione di quelle maravigliose strie più oltre del gruppo distribuito a intervalli di $\frac{1}{75000}$ di pollice, corrispondente a linee 3600 al millimetro, fa intendere non essere giunto a sua notizia, che il sopracitato colonnello Woodward abbia potuto ottenere ancora la risoluzione del 19.° gruppo, della quale risoluzione si ha non dubbia prova nella riproduzione fotografica più volte fattane. Questo illustre micrografo con la generosità e singolare gentilezza che lo distingue, fino dal 1873 nel mandarmi numerosi saggi dei suoi fotogrammi in illustrazione a interessanti lavori istologici, e in riproduzioni di Diatomee, e dei diversi *tests*, volle ancora mandarmi le immagini fotografiche delle sudette linee di Nobert comprensivamente al famoso 19.° gruppo. Nelle diverse riproduzioni specialmente di quest'ultimo gruppo rimase evidente avere avuto luogo delle difrazioni, le quali produssero numerose frange d'interferenza, che ci rendono incerti nel determinare dove precisamente incomincino le vere strie, e dove seguano le spurie. È incontrastabile, che se non si conoscesse *a priori* l'esistenza e il numero di quelle delicatissime linee, si esiterebbe assai nel determinarlo, se pure ci si potesse pervenire. E tale osservazione cade più specialmente in acconcio con la prima immagine del 19.° gruppo, che il Wood-

ward ritrasse con l'ingrandimento di 1100 diametri da un obbiettivo di $\frac{1}{16}$ di pollice di foco, il quale con sistema ad immersione era stato costruito da Powell e Lealand. Però questa immagine amplificata a 2800 diametri permette contare le 37 strie, che si avevano nella preparazione originale, quantunque delle ondulazioni o meglio un periodico ingrossamento di ciascuna linea dia prova (a mio credere) di una direzione viziosa nella obliquità del raggio, il quale è stato incidente invece che doveva dirigersi normale al gruppo o fascio delle linee. Questi fotogrammi sono stati ottenuti con ingrandimento definitivo di 2500 diametri per mezzo di un obbiettivo ad immersione di $\frac{1}{18}$ di foco costruito dal celebre ottico americano Tolles. Se queste immagini fossero giunte a cognizione del professore Helmholtz non so se non lo avrebbero persuaso ad applicare diversamente, se non a modificare, la sua teoria. Da quelle immagini è autenticamente dimostrato che il microscopio quale è al presente, e con tutti gli inevitabili suoi difetti può definire e risolvere $\frac{1}{112519,96}$ di pollice inglese, che esattamente corrisponde a $\frac{1}{4480}$ di millimetro, quantunque vogliasi riconoscere, che questo risultato è raggiunto dalla fortunata combinazione della coincidenza esatta delle frange dovute all'interferenza dei raggi con le minutissime linee del suddetto gruppo.

Che se vogliasi dire che un tale risultato non si può ottenere altrimenti che dall'applicazione dei processi fotografici al microscopio, in quanto che allora non è che il raggio estremo violetto che agisce, il quale è precisamente quello che ha l'onda più corta, pure con questo rimarrà dimostrato, che dunque il limite della visione nel microscopio va più oltre di quanto gli si vorrebbe assegnare come ultimo limite. In altra circostanza io parlai della utilità dell'applicazione della fotografia al microscopio, e nel dimostrarne l'opportunità diceva, sentirmi « persuaso che *per lo meno* quella (la fotomicrografia) avrebbe dovuto ritrarre quanto può essere percepito dall'occhio applicato » alla estremità del microscopio nella osservazione diretta ». E questo io deducevo dalla circostanza dell'essere l'immagine fotografica una immagine rigorosamente unica come quella, che è prodotta da un solo raggio elementare dello spettro, essendo gli altri raggi esclusi da un vetro di cobalto, che nella mia pratica pongo nel mezzo del tragitto della luce; ed il raggio rosso, che in parte accompagna il violetto, non avendo azione alcuna, non esiste per la fotografia. Ma oltre tale riflesso il professore Helmholtz ed il Sorby opportunamente mi ricordano, come il raggio violetto estremo, nel quale risiede il massimo di energia attinica o chimica, è ancora quello, che ha l'onda più breve; e perciò è adatto a fare percepire l'immagine di dettagli così

minuti, che non potrebbero mai essere manifestati da qualsiasi altro raggio. Godo pertanto, che mi venga per tal modo somministrato nuovo argomento ad inculcare la utilità dell'applicazione dei processi fotografici al microscopio, risultando dimostrato con quanto si è detto, che non solamente la fotomicrografia ha l'immenso vantaggio di poter moltiplicare agevolmente le immagini autentiche degli organismi microscopici, ma di più la sua pratica viene a costituire un delicatissimo mezzo a spingere più oltre l'efficacia e la portata del microscopio nelle più difficili ricerche.

Ma non è soltanto la fotomicrografia, che possa raggiungere la risoluzione del 19.^o gruppo delle linee di Nobert, lasciando così distinguere $\frac{4}{412519,96}$ parte del pollice. Nella Sessione VI del 28 maggio 1872, Anno XXVI dell'Accademia Pontificia de'Nuovi Lincei, avendo l'onore di parlare = Sulla risoluzione delle linee di Nobert e sui progressi della fotomicrografia = narrai come eccitato dal vedere le belle e fortunate prove del ch. Woodward, ritraenti quelle arciminutissime linee, anche io mi sentissi stimolato a cimentarmi nella difficilissima prova. In quella occasione esposi come dopo lunghi e pazienti tentativi giungessi pure felicemente a distinguere con illuminazione artificiale quelle minime lineette, le quali nel loro successivo ravvicinarsi nelle serie dei diversi gruppi parevano sfidare l'efficacia dei miei mezzi. Dissi pure allora come l'istesso felice risultato fosse da me ottenuto con tre diversi obiettivi ad immersione, dei quali disponevo, cioè con il N.^o 10 di Hartnack, VII di Gundlach, e 10 di Nachet. Non è dunque soltanto con il raggio violetto estremo (che solo agisce nella fotografia), che si possa dal microscopio rendere visibili tanto minimi intervalli, mentre li ho potuti nettamente distinguere nella osservazione diretta a luce bianca. Nè mi rimane alcun dubbio di potermi essere illuso, avendo reso testimonio della cosa qualche mio amico, e perchè potei bene accorgermi quando mi si presentarono le linee spurie in luogo delle vere.

Però se può da taluno rivocarsi in dubbio la genuinità delle linee da me vedute, e fatte vedere ad altri, trattandosi di cosa interamente subbiettiva, eguale dubbio non rimarrà nè potrà rimanere in quelle, che veggonsi fedelmente ed esattamente figurate nel fotogramma da me ottenuto del 19.^o gruppo, che in quella occasione io feci con un obiettivo fotomicrografico appositamente costruttomi da Gundlach, il quale fotogramma ebbi allora il piacere d'inviare con una scelta d'immagini di Diatomee al Colonnello D.^r Woodward per il Museo medico dell'armata degli Stati Uniti. Quel gentilissimo e distinto micrografo mi indirizzava con sua lettera del 25 ottobre 1872 una giusta

osservazione, la quale però faceva nascere il dubbio, se le strie che delineavansi nella immagine del 19.^o gruppo fossero vere o spurie; e questo rimaneva tanto più difficile a chiarire, in quanto che la negativa, dalla quale era tratta, come era la più soddisfacente per la finezza e decisione, altrettanto era male riuscita al punto di vista fotografico, essendo estremamente velata. Il D.^r Woodward mi scriveva, che nella mia fotografia il numero delle linee appariva inferiore a quello da esso ottenuto nelle sue prove: alla quale osservazione io risposi, che anche nella mia negativa il numero delle linee era certo minore a 57, ma che questo dipendeva dall'essermi io servito per originale di un'altra preparazione, nella quale i fasci avevano minore ampiezza, conservando però l'istesso rapporto degli intervalli, come ne faceva fede lo scritto inciso al diamante a lato della preparazione. Se non che non potendo confermare la verità della mia risposta con misurare la larghezza del gruppo nella preparazione, non essendo questa più in mie mani, mi si affacciò alla mente altra prova da potere con sicurezza decidere, se quelle linee siano vere o spurie. Tale metodo consiste nel misurare (come ho realmente fatto) a mezzo di oculare micrometrico a punte variabili (che in seguito confrontavo con micrometro obiettivo) la distanza delle linee, quale poi si divide per il numero dei diametri di ringrandimento, ed il quoziente deve coincidere con l'intervallo originale della preparazione. Tale prova ha il vantaggio di astrarre dalla difficoltà di fare la numerazione delle linee, rimanendo sempre malagevole il precisare quale sia l'ultima linea vera, e quale la prima spuria. Questa prova eseguita su la negativa mi ha completamente accertato non essermi male apposto in riguardo alla genuinità delle linee da me riprodotte.

Ma in rapporto alla impressione fotografica da me ottenuta, ritraente esattamente figurate e distinte le finissime lineette del 19.^o gruppo, v'è da notare una circostanza abbastanza interessante, su la quale desidero richiamare l'attenzione del professore Helmholtz, e dell'esimio sig. Sorby, affinchè abbiano da giudicare, se il risultato da me ottenuto sia in accordo con la loro teoria, o se invece questa non debba essere in qualche parte modificata. Fu già ricordato quanta sia l'influenza dell'ampiezza dell'angolo di apertura nella efficacia degli obiettivi, e nella loro maggiore o minore forza di risoluzione dei minimi dettagli. Parmi facile l'intendere, che stante la maggiore rifrangenza dell'acqua per i raggi luminosi sopra quella dell'aria, quando negli obiettivi così detti ad immersione una goccia di acqua s'interponga fra la lente di fronte, e la preparazione, quell'obiettivo potrà raccogliere ed introdurre raggi di maggiore obliquità di quello che possa aver luogo in un obiettivo a secco, nel quale fra la lente di fronte e l'oggetto si frappone invece uno strato di

aria. Quindi con molto buon diritto è stato stabilito nella determinazione dell'estremo limite di visibilità del microscopio, che quel limite per gli obbiettivi ad immersione a pari condizione sarà circa di $\frac{1}{4}$ inferiore a quello degli obbiettivi a secco, cioè, quelli potranno arrivare a fare visibili delle particelle di $\frac{1}{4}$ più piccole di quelle che può giungere a mostrare uno di questi. Ma l'obbiettivo fotomicrografico di $\frac{1}{15}$ di pollice tedesco (zoll) di foco, costruitomi da Gundlach, che servì a produrre il fotogramma del 19.^o gruppo è per l'appunto un obbiettivo a secco, così che credo sia fuor di dubbio, che io sia fino ad ora il solo, il quale abbia ottenuto simile risultato, mentre le immagini fotografiche dell'istesso gruppo avute dal Woodward (come già si disse) si ottennero da due ottimi obbiettivi ad immersione dei celebri ottici Powell e Lealand di Londra, e Tolles di Boston. Se dunque quel gruppo presenta intervalli di $\frac{1}{412520}$ di pollice, se un obbiettivo ad immersione a parità di perfezione può distinguere e risolvere intervalli più piccoli che un obbiettivo a secco sembrerebbe ne dovesse logicamente seguire, che, se l'obbiettivo a secco di Gundlach è arrivato a definire nettamente quell'intervallo corrispondente a $\frac{1}{4430}$ di millimetro, un obbiettivo ad immersione in eguali condizioni potrebbe pervenire a risolvere $\frac{1}{412520}$ di pollice inglese, cioè un millimetro diviso in 5626 circa.

Mi si potrà domandare da alcuno : quale dunque potrà riguardarsi ultimo limite della portata del microscopio nella sua forza di definizione ? Privo qual sono di cognizioni adeguate delle leggi sulla costituzione fisica della luce, e nella impossibilità di rendermi esatto conto dei fenomeni di interferenza, e delle circostanze che le diminuiscono, o le mettono in evidenza, non sono assolutamente al caso di potermi pronunziare su tal punto. Solamente io dirò, che quando mi accinsi alla risoluzione delle linee di Nobert con l'osservazione diretta, quantunque abbia dovuto lungamente adoperarmi con ogni più fino artificio per arrivare alla definizione certa del 19.^o gruppo, così che se mi fossi subito accinto all'esame di quello isolatamente ne avrei per certo disperato; pure arrivato a distinguere nettamente quelle arcifinissime linee, io mi sentiva ancora nella persuasione di poter fare qualche passo più oltre. Ho sempre augurato mi si presentasse occasione di avere l'assistenza di alcun fisico di alto valore, il quale potesse diligentemente considerare le circostanze della mia pratica tanto negli esercizi fotomicrografici, quanto nella osservazione diretta al microscopio con le diverse modificazioni nella direzione della luce, e con l'impiego della illuminazione rigorosamente monocromatica ottenuta dalla decomposizione di un raggio solare a mezzo del prisma. È difficile che un fisico teorico si sia mai dato il fastidio di ripetere e tentare quelle mille

combinazioni diverse, che un dilettante passionato come me ha potuto adoperare con costanza per più anni; così che forse il fisico ne potrebbe essere condotto a notare circostanze, che gli potrebbero essere sfuggite. Per il momento mi contenterò di dire, che non credo la sentenza del ch. professore Helmholtz, che assegna per limite della vera visione del microscopio $\frac{1}{80000}$ di pollice, ossia $\frac{1}{8280}$ di millimetro, sia inappellabile: però è altrettanto vero, che, se siamo pervenuti a risolvere anche $\frac{1}{142620}$ di pollice, o $\frac{1}{4480}$ di millimetro, e forse si potrebbe fare alcun piccolo passo più oltre, questo potrà essere soltanto nel caso che la divisione notata alla superficie sia equabile, e intanto vi si potrà pervenire in quanto che si possono ottenere delle frange d'interferenza, che combinino esattamente con quella divisione. Al punto al quale è giunto il microscopio per la nobile emulazione sorta fra i migliori ottici pratici, e per il simultaneo sforzo dei principali suoi fabbricatori, e per l'aiuto prestato loro dai fisici e matematici, in quanto riguarda la combinazione di lenti, che opera l'ingrandimento, difficilmente potrà fare altri notevoli progressi. Ad onta di questo ho ferma fiducia, che quel prezioso strumento di osservazione potrà considerevolmente avanzare nel più efficace agevole e sicuro suo impiego; ciò che si otterrà con perfezionare la parte, che riguarda la illuminazione, e la calcolata e conveniente direzione e intensità di quella. Recherà il massimo servizio alla scienza e ai suoi cultori chi partendosi da adeguate cognizioni teoriche delle leggi, che riguardano la luce, vorrà diligentemente studiare la questione, combinando una bene intesa disposizione delle parti del microscopio sottoposte al portaoggetti per modo tale da diminuire se non anche da eliminare completamente quel procedere alla cieca e quell' empirismo, al quale con grave jattura di tempo e noia sono condannati tutti quelli, che si adoperano ad ottenere dal microscopio nei singoli casi il massimo utile, così che in qualsiasi circostanza si possa con non moltissima pratica essere padroni di disporre senza esitazione il microscopio a rendere il migliore possibile effetto e servizio.



