

## Colorazione degli apici radicali di cipolla

a cura di U. Matranga, M. Peli e A. Croce

*Questa esperienza permette di osservare le varie fasi del processo mitotico, quel processo che porta alla divisione di una cellula "madre" in due cellule "figlie", identiche e con lo stesso patrimonio genetico della cellula da cui si sono originate. La mitosi è suddivisibile in fasi ben distinte:*

*Profase: La cromatina comincia a condensarsi e a formare i cromosomi, la membrana nucleare si dissolve;*

*Metafase: Si forma una struttura chiamata fuso mitotico e i cromosomi si dispongono sul piano equatoriale di questa struttura;*

*Anafase: Le fibre del fuso agganciano i cromosomi a livello del centromero e tirando lo separano nei due cromatidi, che si dirigono verso i poli opposti della cellula;*

*Telofase: I cromatidi si condensano ai poli opposti della cellula per formare i due nuclei delle due future cellule figlie originate dalla mitosi;*

*Citodieresi: I cromatidi si dissolvono, si ricreano i due nuclei e la cellula si divide in due cellule figlie con due nuclei completi.*

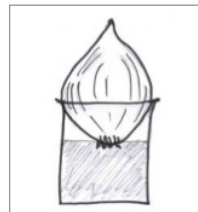
*Per analizzare questo complesso fenomeno si ricorre alle cellule che si trovano negli apici radicali di cipolla, a livello dei quali vi è una intensa attività di proliferazione cellulare.*

### Obiettivo

Evidenziare le fasi della mitosi nelle cellule degli apici radicali di cipolla.

### Procedimento

1. Mettere a radicare una cipolla bianca 3 o 4 giorni prima dell'esperimento in un becker contenente acqua del rubinetto: togliere prima le radici secche e posizionare la cipolla in modo che solo la zona radicale sia a contatto con l'acqua, come mostrato nella figura accanto.

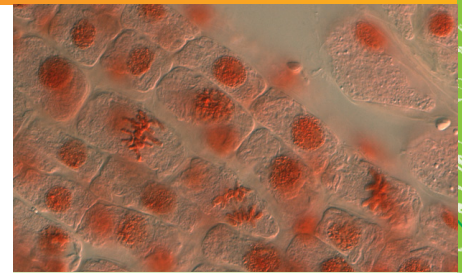
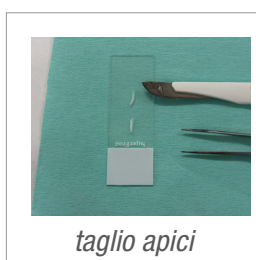


2. Preparare una soluzione idroalcolica di Safranina all'1% nel seguente modo:

- sciogliere 10 g di safranina in polvere in 100 ml di alcool etilico assoluto (soluzione madre),
- decantare, filtrare con carta da filtro e conservare in una bottiglia scura,
- prima dell'uso, diluire la soluzione madre 1/10 con acqua distillata (esempio 10 ml di soluzione madre + 90 ml di acqua).

3. Quando le cipolle avranno radicato, tagliare gli apici radicali (è preferibile usare frammenti corti di circa 2 cm).

4. Trasferire gli apici in una capsula Petri contenente HCl 5N e Lasciar agire per 3-5 minuti: l'acido cloridrico ha la funzione di indebolire le pareti cellulari e quindi di consentire l'ingresso del colorante nella cellula.



### Tempo previsto

30 minuti per la preparazione dei vetrini più 3-4 giorni per la crescita delle radici

### Materiali e reagenti

- ✓ Cipolle bianche (diametro circa 3 cm)
- ✓ Acqua del rubinetto
- ✓ Becker (per far radicare le cipolle)
- ✓ Piastre petri
- ✓ Pinzette
- ✓ Pipette Pasteur
- ✓ Bisturi
- ✓ Carta da filtro
- ✓ Matracci e pipette per preparare le soluzioni
- ✓ Soluzione di Safranina
- ✓ HCl 5N
- ✓ Smalto per unghie trasparente
- ✓ Vetrini portaoggetto
- ✓ Vetrini coprioggetto

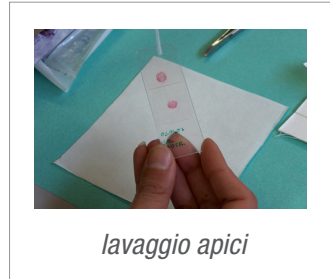
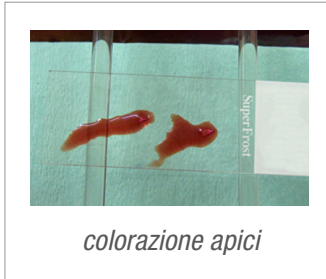
### Strumentazione

- ✓ Microscopio ottico

### Per la preparazione della soluzione di Safranina

- ✓ Safranina in polvere
- ✓ Alcool etilico assoluto
- ✓ Carta da filtro
- ✓ Bottiglie

5. Lavare gli apici in acqua distillata, per eliminare l'acido cloridrico (si può utilizzare il coperchio Petri ricoperto da un piccolo strato di acqua).
6. Prelevare gli apici ed appoggiarli su un vetrino, tagliare a circa 5 mm dall'apice ed eliminare la parte eccedente (deve rimanere solo la "punta" della radice). Schiacciare delicatamente con una pipetta Pasteur monouso, in modo da consentire il maggiore assorbimento del colorante.



7. Coprire gli apici con qualche goccia di colorante e attendere 5 – 10 minuti.
8. Versare sul colorante alcune gocce di acqua e tamponare con carta da filtro. Coprire con il vetrino coprioggetto e comprimere delicatamente.
9. Introdurre alcune gocce di acqua distillata tra il vetrino e il coprioggetto per lavare ulteriormente gli apici schiacciati ed eliminare il colorante in eccesso, avendo cura di raccogliere il colorante rimosso con un pezzetto di carta assorbente posizionato dalla parte opposta da cui è stata inserita l'acqua (l'acqua consente l'allontanamento del colorante che non è stato assorbito dalle cellule).

Osservare al microscopio con obiettivi a diverso ingrandimento. Se si vuole conservare il vetrino per 2-3 giorni, sigillare i bordi del coprioggetto con smalto per unghie trasparente. Lo smalto impedisce la disidratazione del campione, ma non permette una conservazione per lungo tempo.

Di seguito alcune immagini di apici radicali di cipolla colorati con safranina e osservati al microscopio ottico (63x). Le frecce indicano le cellule in divisione, lo stadio della mitosi è indicato sotto a ciascun riquadro.

