

# Colorazione e osservazione di **cellule radicali** di cipolla **in mitosi**

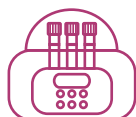
**Obiettivo** Allestire preparati colorati di cellule radicali di cipolla per identificare le varie fasi della mitosi al microscopio ottico.

**Autore** Istituto Nicola Pellati di Nizza Monferrato (AT)  
Primo classificato Mad for Science 2017  
Progetto “Biodiversità e Uva”



# Materiali e reagenti

- Apici radicali di cipolla
- Soluzione di acido cloridrico 15%
- Soluzione di Safranina 1%
- Pipette Pasteur
- Piastre Petri
- Vetrini copri oggetto
- Vetrini porta oggetto
- Carta assorbente



## Strumenti

- Bisturi
- Pinzette
- Microscopio ottico  
(eventualmente con  
fotocamera integrata)



## Sicurezza

- Camice
- Guanti
- Guanti antitaglio



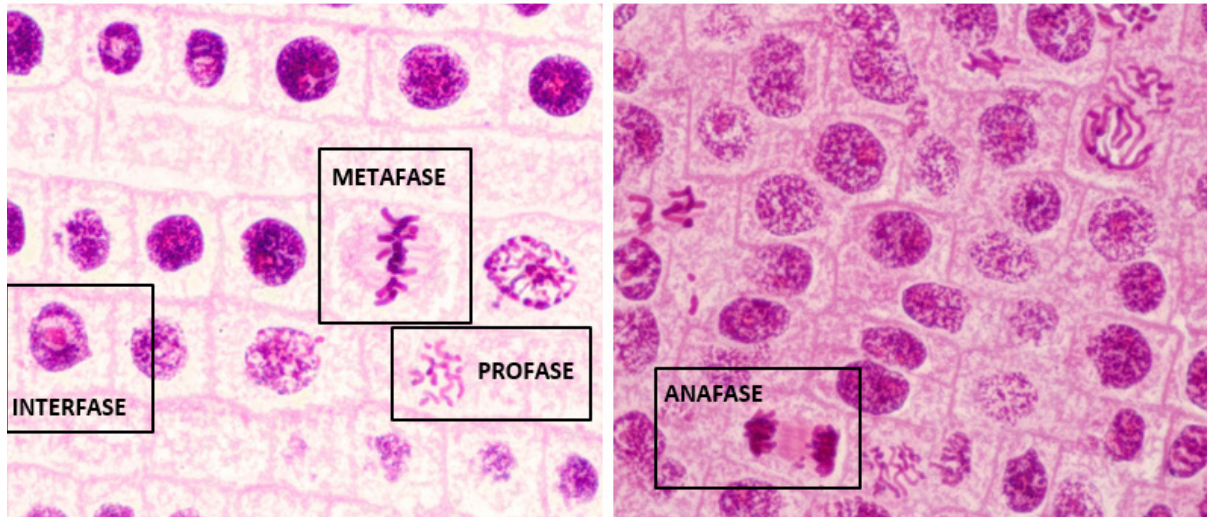
## Tempo

10 minuti per l'allestimento dei vetrini  
30 minuti per l'osservazione al microscopio delle cellule vegetali in mitosi



# Procedimento

- 1.** Lasciare radicare una cipolla in un becher riempito con acqua di rubinetto e rivestito con carta stagnola per circa una settimana, come riportato nel protocollo “Sviluppo degli apici radicali di cipolla” (sezione: “Biologia cellulare”).
- 2.** Con un bisturi e indossando i guanti antitaglio, tagliare qualche apice dalle radici della cipolla, preferendo tra tutti gli apici più giovani (frammenti corti circa 2 cm). Maneggiare con cura l’apice, in quanto è molto delicato e si sfalda facilmente.
- 3.** Con le pinzette trasferire gli apici in una piastra Petri, contenente una soluzione di acido cloridrico al 15%. Incubare per 5 minuti a temperatura ambiente.
- 4.** Con le pinzette spostare gli apici in un’altra piastra Petri (o nel coperchio della piastra usata al punto 3), contenente acqua deionizzata, ed incubare per 2-3 minuti a temperatura ambiente. Questo passaggio serve per eliminare le tracce di acido cloridrico.
- 5.** Con una pipetta Pasteur prelevare una goccia di soluzione di Safranina all’1% e depositarla su un vetrino porta oggetto.
- 6.** Con le pinzette trasferire gli apici radicali nella goccia di colorante e schiacciarli in modo da ridurne lo spessore. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente.
- 7.** Con una pipetta Pasteur depositare qualche goccia d’acqua sugli apici in modo da diluire il colorante.
- 8.** Coprire il vetrino porta oggetto con il vetrino copri oggetto, evitando di introdurre bolle d’aria e asciugare l’acqua in eccesso con carta assorbente.
- 9.** Osservare il preparato al microscopio ottico per individuare le cellule vegetali in attiva divisione, partendo dagli obiettivi a minor ingrandimento per poi passare a quelli a maggiore ingrandimento. Nelle immagini sottostanti sono indicate alcune fasi del ciclo mitotico da provare ad individuare in autonomia nei vetrini preparati seguendo questo protocollo.



Sezioni di apici radicali di cipolla con cellule in attiva divisione mitotica, in cui è possibile identificare: interfase, profase, metafase ed anafase. Nella mitosi la cellula "madre" si duplica originando due cellule "figlie" geneticamente identiche tra di loro e alla cellula originaria. Tra una divisione mitotica e quella successiva la cellula si prepara in quella che viene chiamata l'INTERFASE: i cromosomi si duplicano nel nucleo della cellula, originando due copie identiche, i cromatidi fratelli, che saranno suddivisi tra le cellule figlie. Nel ciclo mitotico vero e proprio: i cromosomi diventano visibili e si spiralizzano (PROFASE), si allineano lungo il piano equatoriale della cellula (METAFASE) e migrano, separati nei due cromatidi fratelli, ai due poli della cellula (ANAFASE). Nei riquadri dedicati alla metafase e all'anafase è ben visibile il FUSO MITOTICO, un fuso proteico che determina i movimenti dei cromosomi, prima allineandoli nella porzione centrale della cellula e poi separandoli alle due estremità. Infine, si forma una strozzatura della membrana cellulare che determina la separazione delle due cellule figlie (CITODIERESI, non mostrata nelle immagini).

## Note

- L'incubazione di 5 minuti degli apici radicali nella soluzione di acido cloridrico al 15% permette di indebolire la parete delle cellule vegetali e di facilitare la penetrazione del colorante nel passaggio successivo.
- Per preparare la soluzione di Safranina procedere in questo modo: pesare con una bilancia 10 g di Safranina in polvere e scioglierla in 100 ml di Etanolo 100%. Filtrare la soluzione e conservarla a temperatura ambiente e al buio (avvolta da carta stagnola). Prima dell'utilizzo, diluire la soluzione madre 1:10 in acqua, prelevando 1 ml di Safranina e aggiungendo 9 ml di acqua deionizzata. La soluzione di Safranina, se non manipolata correttamente, potrebbe causare irritazione degli occhi e della pelle: indossare i guanti, il camice e proteggere gli occhi. Tenere lontano da fonti di calore, scintille o fiamme libere.
- Per colorare i cromosomi si possono usare anche altri coloranti, come ad esempio l'Orceina acetica, che si prepara sciogliendo 1 g di Orceina in 100 ml di acido acetico al 45% (soluzione di Orceina acetica all'1% in acido acetico 45%).
- Negli apici radicali di cipolla è possibile osservare molte cellule in mitosi. Il numero di cellule in divisione aumenta man mano che ci avviciniamo alla punta dell'apice, nella zona meristemica. Le cellule del tessuto meristemico, infatti, sono cellule "giovani" indifferenziate e con la capacità di dividersi attivamente.