



Fascination of
Plants Day
May 18th 2024

Denominazione attività: Il mondo sotterraneo delle simbiosi
Referenti attività: Marco Mucciarelli, Mattia Farruggia, Elena Martino
Data di svolgimento: 17/05/2024

Il mondo sotterraneo delle simbiosi

INFORMAZIONI DI SICUREZZA PER GLI STUDENTI

In questa pagina sono elencati i reagenti e gli strumenti che utilizzerete durante l'esperienza di laboratorio.

Per tutti i reagenti impiegati è particolarmente importante fare riferimento al docente preposto per la loro corretta manipolazione.

Nei laboratori sono depositate le schede di sicurezza relative ai reagenti utilizzati.

Inoltre, occorre:

- **Attenersi alle indicazioni per il rispetto della buona pratica di laboratorio e delle norme di sicurezza**
- **Utilizzare i DPI necessari come indicato dal docente e nella tabella**

Elenco reagenti utilizzati	Quantitativo per studente	Dispositivi di Protezione da utilizzare
Colorante Blu Cotone (1 g di <i>cotton blu</i> disciolto in 100 ml di acido lattico) Diluito 1:10 con acido lattico	1 ml	guanti
Acido lattico (non diluito)	1 ml	guanti

nb. Tutti i reagenti sono preparati in anticipo dal docente; lo studente non manipola polveri e non è coinvolto nella loro preparazione.

Elenco strumentazione in uso	Note sull'utilizzo
Microscopio ottico	Istruzioni per l'utilizzo verranno fornite durante la lezione
Stereo-microscopio	Istruzioni per l'utilizzo verranno fornite durante la lezione

Materiali monouso	Note sull'utilizzo
1 pinzetta	Istruzioni per l'utilizzo verranno fornite durante la lezione
1 lametta a filo singolo	idem
vetrini portaoggetti	idem
vetrini coprioggetti	idem
2 pipette di plastica da 3 ml	idem
1 vaschetta di plastica	idem
guanti	idem
Piastre Petri	idem
setaccio e cucchiaio in acciaio	idem
materiale vegetale: piante di trifoglio bianco micorrizzate o altra specie	idem

NB: Si ricorda che nei laboratori è obbligatorio indossare il camice.

PROTOCOLLO

1) Preparazione delle radici per lo stereomicroscopio:

Si possono impiegare sia radici prelevate da piantine coltivate in vaso, sia campioni prelevati in natura. **Radici giovani, più o meno sottili e allevate in un suolo naturale ma non troppo fertile danno i risultati migliori.**

NB. non tutte le piante vanno bene per vedere molte micorrize.

1. abbondante lavaggio sotto l'acqua del rubinetto degli apparati radicali per eliminare tutto il suolo
2. osservazione delle radici allo stereomicroscopio

2) Preparazione delle radici per la colorazione con blu cotone:

1. Chiarificazione delle radici in potassa 10% p/v per mezz'ora circa e a caldo (85°C). La chiarificazione è indispensabile per ammorbidire le radici e rendere i **tessuti radicali trasparenti** alla luce e **permeabili al colorante**. Le radici che verranno utilizzate sono state precedentemente chiarificate dal docente.

In classe iniziamo da qui:

2. Colorazione delle radici: le radici vengono trasferite in un contenitore con del colorante **blu cotone** (0.1% in acido lattico) e si trattano per almeno **20-30 minuti a temperatura ambiente**.

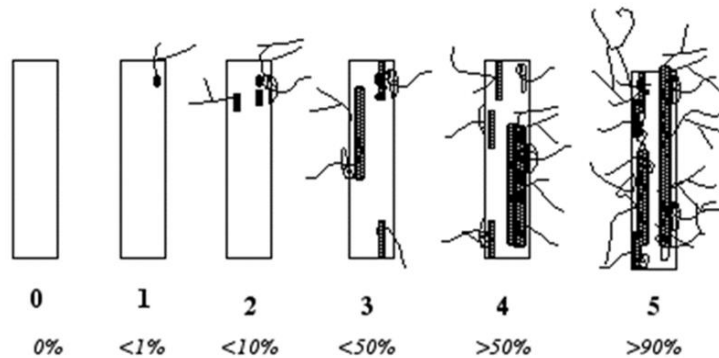
N.B. Non esistono coloranti specifici per le cellule dei funghi, ma il **blu cotone**, si accumula nelle ife fungine e funge da forte contrastante delle pareti cellulari, colorandole in blu.

Al termine dell'incubazione, si **adagiano le radici colorate su carta pulita** per assorbire e eliminare la maggior parte del colorante.

3. Decolorazione delle radici: indossando i guanti, le radici vengono trasferite con la pinzetta in una vaschetta contenente **acido lattico per la decolorazione** (almeno 30 minuti); questo passaggio è **fondamentale per asportare tutto il blu cotone in eccesso**.

Gli studenti iniziano da qui:

1. Montaggio su vetrino: indossando i guanti, **trasferire con la pinzetta 2-3 porzioni di radici sulla superficie del vetrino** avendo cura di non schiacciarle con la pinzetta. Se necessario aggiungere pochissimo acido lattico.
2. Se possibile, **ridurre le radici in porzioni di circa 0,5-1 cm** di lunghezza con la lametta e disporle ordinatamente sul vetrino.
N. B. Gli scarti delle soluzioni contenenti l'acido lattico vengo dispensati in un bidoncino apposito con tappo ermetico.
3. Osservazione dei preparati al microscopio ottico e valutazione della percentuale di micorrizzazione.



Quanto sono colonizzate mediamente le tue radici?