

Notes sobre la tinció de teixits vegetals amb  
orceina per a observar-hi figures mitòtiques



Generalitat de Catalunya  
Departament d'Ensenyament  
Direcció General  
d'Ordenació Educativa  
Centre de Documentació  
i Experimentació de Ciències

Pg. de la Vall d'Hebron, 64-70  
08023 BARCELONA  
Tel. 417.68.75/417.67.70

## NOTES SOBRE LA TINCIÓ DE TEIXITS VEGETALS AMB ORCEINA PER A

## OBSERVAR-HI FIGURES MITOTIQUES.

Com a procediment general recomanem el que figura a "Prácticas de Biología" de l'Editorial Fontalba, Tema 10.

Pot anar bé, però, modificar lleugerament la manera de procedir indicada als apartats 1.2.3, 1.2.4, 1.2.6 i 1.2.8 de la següent manera:

1.2.3. - 1.2.4 - El material es pot anar recollint en portes o en vidres de rellotge.

1.2.6 - Poseu l'orceïna A en el porta o vidre de rellotge on hi ha el material a tenyir i flamejeu.

1.2.8. - Passeu el(s) fragment(s) a un (altre) porta i allí o bé a) feu l'aixafament i la tinció amb l'orceïna B, posada al costat del "cobreobjectes" per a que penetri, i seguiu fent pressió;

o bé b) tenyiu primer amb l'orceïna B abans de posar-hi el cobreobjectes, poseu llavors el cobreobjectes i feu finalment l'aixafament o "squash".

Preneu les precaucions que indica el llibre esmentat puix la substància és un xic tòxica.

L'orceïna A és acètica i clorhídrica. L'orceïna B és només acètica.

MITOSIS Y MEIOSIS

1.1.ª PARTE: OBSERVACION E INTERPRETACION DE FIGURAS DE MITOSIS EN TEJIDOS VEGETALES

OBJETIVO: 1. Confección de preparaciones temporales de tejidos vegetales en los que se encuentran células en división.  
2. Observación e interpretación al microscopio.

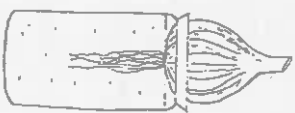
Para poder observar las distintas fases mitóticas conviene utilizar un material en crecimiento en el cual habrá muchas células en división, y probablemente, al matarlas al hacer la preparación, podremos sorprender algunas en cada una de las fases de la mitosis. De ahí que sean especialmente indicados por la facilidad de su manejo y observación, los meristemas terminales de las raíces en crecimiento. En esta práctica utilizaremos raíces de bulbos de cebolla.

1. Diapositivas.

Las diapositivas (véase lámina 3) están tomadas con un fotomicroscopio óptico con una gama de aumentos aproximada entre 100x y 1250x, según los casos, y en ellas se observan todas las fases mitóticas en un corte longitudinal de ápice de raíz de cebolla, teñido con hematoxilina férrica; con este tipo de tinción los cromosomas, que se tienen selectivamente, aparecen más oscuros que el resto celular.

2. Confección de las preparaciones.

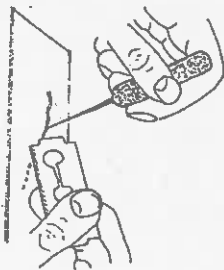
- 2.1 Elijase una raíz de cebolla de unos 5 a 10 mm de longitud (puede probarse con una tijera y observar las diferencias). Cortarla por la base con una cuchilla y situarla sobre un porta.
- 2.2 Sujétela por la base con una lanceta mientras con la cuchilla elimina la coifa (dispositivo protector cuyas células no están en división).
- 2.3 Inmediatamente por debajo de la coifa se encuentran ya las células meristemáticas, por tanto, sujetando con la lanceta, hay que procurar hacer cortes transversales (rodajas) lo más finos posible —casi translúcidos— inmediatamente debajo de la coifa. Recoger los cortes (2 ó 3) con la lanceta y situarlos horizontalmente en el centro del porta.
- 2.4 Repetir la misma operación pero a algunos milímetros de la coifa. Sitúense los cortes en el porta.
- 2.5 Aunque no es absolutamente necesario, se pueden fijar los cortes durante 10 min. con alcohol acético (3.1, véase tema 14).
- 2.6 Colocar unas gotas de colorante (orceína acética y clorhídrica) sobre los cortes. Teñir por menos durante 10 minutos.
- 2.7 Terminado el período de tinción flamear suavemente 2 ó 3 veces sin que el colorante lleve a hervir.
- 2.8 Una vez la preparación se ha enfriado se coloca el cubre y se hace el aplastamiento o "squash" apretando con fuerza el cubre contra el porta mediante el pulgar. Hay que tener cuidado que la superficie sobre la que se realiza la operación sea lisa a fin de no romper la preparación; mismo el cubre puede romperse si el corte es demasiado grueso. Conviene colocar papel de filtro entre el cubre y el dedo para no mancharse de colorante (que es algo tóxico y podría irritar la piel; así mismo hay que procurar no respirar sus vapores).



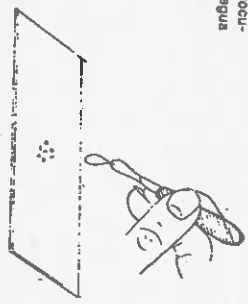
Se coloca una cebolla en un frasco, procurando que el agua moje el bulbo.



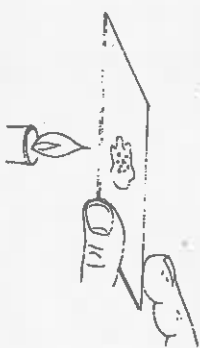
Se saca la cebolla y con la cuchilla se corta un trozo de raíz que se colocará en el porta.



Con la cuchilla se realizarán algunos cortes transversales muy finos, sujetando la raíz con una aguja empuñada.



Sobre los cortes se colocará una gota de colorante, y se dejará teñir durante unos 10 minutos.



Se flamea rápida y suavemente durante 2 ó 3 minutos, evitando que hierva el colorante.

**Orceína acética clorhídrica.**

La orceína acética es una mezcla de orceína, p. ej., Gurr (líquida) con ácido acético (2%). La orceína acética y clorhídrica se prepara mezclando 100 ml de orceína acética y 10 ml de HCl IN.

1.2.9 La preparación está ya lista para su observación. Este tipo de preparaciones dura sólo algunas horas, aunque hay algunas formas de poder conservarlas durante más tiempo. Quizá la más sencilla sea la siguiente: antes de montar el cubre se seca el colorante y se pone una gota de glicerina; se sienta el cubre y se hace el squash evitando que se deslice y finalmente se cementan los bordes con laca de uñas.

1.3 Observación y dibujo de las distintas figuras.

La observación al microscopio se hará como siempre enfocando y centrando el campo con el objetivo más pequeño, utilizando los demás para observar las distintas fases.