

La prova di biologia quest'anno si articola in due attività: estrazione del DNA di banana e osservazione al microscopio dei granuli di amido, sia in farine vegetali sia in cellule di patata e banana. Già dal titolo e da queste prime righe si capisce che tutti gli esperimenti ruotano intorno alle banane. Per informazioni generali su quest'argomento si può far riferimento alle pagine di Wikipedia, in lingua italiana e inglese:

- <https://it.wikipedia.org/wiki/Banana>

- <https://en.wikipedia.org/wiki/Banana>

Tutte le varietà commestibili di banana sono ibridi e forme poliploidi delle due specie selvatiche di banane dotate di semi, *Musa acuminata* e *Musa balbisiana*. Nelle piante selvatiche i numerosi semi occupano quasi tutto lo spazio all'interno del frutto lasciando pochissima polpa mentre le varietà commestibili, di fatto, sono sempre senza semi (partenocarpiche). Nei paesi meno sviluppati, la banana è il quarto alimento di maggior consumo, dopo riso, grano e latte.



FIG. 1 (da *Annals of Botany* **100**: 1073–1084, 2007): diversità delle banane commestibili e piante da farina in un negozio del Kerala, nel sud dell'India. Le diverse varietà sono indicate dalle lettere minuscole in alto nella figura; per convenzione la lettera maiuscola 'A' si riferisce a DNA derivato da *Musa acuminata*, mentre 'B' rappresenta il genotipo di *Musa balbisiana*.

a, 'Red' (AAA), banana molto dolce, da dessert.

b, 'Palayam Codan' (AAB).

c, 'Njalipoovan' (AB) banana dolce da dessert, difficile però da cucinare

d, 'Robusta' o 'Cavendish' (AAA) la varietà più esportata in Europa e Stati Uniti

e, 'Nendran' (AAB), utilizzata per preparare dolci snacks fritti.

f, 'Peyan' (ABB) utilizzata nelle salse al curry e per snacks fritti.

g, 'Poovan' (AAB).

Recentemente gli esperti della FAO hanno lanciato l'allarme che la produzione mondiale di banane Cavendish è a rischio: la malattia di Panama causata dal fungo parassita *Fusarium oxysporum cubense*, denominato Tropical Race 4 (TR4), attacca le radici provocando l'avvizzimento della pianta. Numerose piantagioni del sud-est asiatico e dell'Australia sono già distrutte e ora il fungo è arrivato in Mozambico e Giordania. Per fortuna il Centro-Sud America finora è ancora immune. Gli scienziati sono al lavoro per sviluppare nuove varietà di banane resistenti a queste malattie, ricorrendo anche all'ingegneria genetica.

http://www.repubblica.it/economia/rapporti/osservazioni/italia/mercati/2014/04/10/news/banane_in_pericolo_un_fungo_le_stermina-83214100/

Attività Bio-1. Estrazione del DNA

Materiali a disposizione degli studenti

SUL BANCO DI LAVORO	IN COMUNE PER TUTTI
<ul style="list-style-type: none"> - 1 banana matura peso > 100 grammi - 1 fetta di ananas - Spruzzetta con acqua deionizzata - Cilindro da 100 mL, imbuto - Becher n.1 (100 mL) - Becher n.2 (250 mL, resistente al calore) - Provetta Falcon da 15 mL - Pipette da 10 ml, con pipettatore - Siringa da 1 -5 mL - Cucchiaino, forchetta, coltello - Tagliere - Colino, tazza adeguata al colino - Bicchiere piccolo - Termometro - Presine resistenti al calore - Contenitore in polistirolo con acqua e ghiaccio in cubetti 	<ul style="list-style-type: none"> • Sale da cucina (cloruro di sodio, NaCl) • Detersivo liquido concentrato • Una bilancia • Parafilm • Carta assorbente (tipo <i>scottex</i>) • Termostato impostato a 60 – 65°C • Macchina del ghiaccio • Timer • Etanolo freddo (conservato in frigorifero) • Portaprovette <p><i>N.B. I materiali in comune possono essere distribuiti a ciascun gruppo di studenti, se le risorse del laboratorio lo permettono.</i></p>

Per i seguenti materiali in comune, è opportuno preparare “aliquote” per ogni gruppo di studenti

- Ananas: una fetta per gruppo
- Etanolo freddo: 10 – 15 mL per gruppo
- Detersivo liquido: 15 – 20 mL per gruppo
- Sale da cucina (cloruro di sodio, NaCl): 5 – 10 grammi per gruppo

Alcuni strumenti possono essere sostituiti con altri equivalenti, a disposizione nel laboratorio

- Termostato impostato a 60°C (o bagnomaria con acqua calda a circa 60 – 65°C)
- Macchina da ghiaccio (preparare molto ghiaccio in cubetti)
- Becher da 100 mL (o bicchiere di uguale capacità)
- Becher da 250 mL, resistente al calore (o altro recipiente con le stesse caratteristiche)
- Provetta Falcon da 15 mL (o bicchiere a calice da spumante, anche in plastica)
- Tagliere (o piatto in plastica dura)
- Pipette da 10 mL, con pipettatore (o siringhe senza ago, o dosatore da cucina)
- Colino (o imbuto di dimensioni analoghe)
- Bicchiere piccolo (o altro contenitore per raccogliere il succo d’ananas)
- Contenitore in polistirolo (o insalatiera in plastica)
- Timer (o orologio con cronometro)

N.B. Scrivendo una mail all’indirizzo biologia@euso.it si può ricevere il testo della prova in formato word per modificare la strumentazione di laboratorio a disposizione degli studenti.

Preparazione dell'esperimento

È molto importante che l'insegnante responsabile per la biologia provi l'esperimento prima della data della gara, in tempo per controllare il materiale a disposizione e risolvere eventuali difficoltà, anche con l'aiuto degli organizzatori (*scrivere all'indirizzo biologia@euso.it*).

Estrarre il DNA da frutta e verdura è una classica esperienza di laboratorio, con percentuali di successo molto elevate. Oltre ai protocolli disponibili nei libri di testo e in rete, si trovano molti video su YouTube, utili per chi fosse alle prime armi. Per limitarsi a quelli in lingua italiana:


Estrazione del DNA da pomodoro - laboratorio di biologia - Istituto Volta Udine

<https://www.youtube.com/watch?v=TR9udzUx5L4>

Video amatoriali

<https://www.youtube.com/watch?v=2PK9hbqMKf8>



<https://www.youtube.com/watch?v=2JlgMUXzuy8>

Materiale specifico per quest'attività	Note
Detersivo liquido	La massima efficienza di lisi si ottiene preparando una soluzione di estrazione con un detersivo forte (1% di concentrazione finale). Va bene il comune detersivo per piatti concentrato. Controllare la concentrazione di detersivo nell'etichetta: se è bassa, si può raddoppiare il volume da aggiungere.
Etanolo (alcol etilico) 	Acquistabile in drogheria o nei negozi di ferramenta. <i>L'esperimento riesce anche con l'alcol denaturato.</i> Attenzione! Le sostanze infiammabili devono essere segnalate con il relativo pittogramma e gli studenti dovranno essere istruiti prima sui rischi derivanti dal loro uso.

Tradizionalmente, la precipitazione del DNA si esegue con etanolo freddo, perché la bassa temperatura riduce la solubilità. Tuttavia il fattore decisivo è sempre la concentrazione di sale, che prende contatto con il solvente facendo precipitare il DNA. Nel nostro caso, sono presenti 3 grammi di NaCl nella soluzione di estrazione, che mantengono un'elevata concentrazione salina anche dopo l'aggiunta della poltiglia di banana.

In effetti, l'esperimento riesce anche con etanolo a temperatura ambiente (provare per credere!)



https://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol_precipitation

Fasi dell'esperimento	Note
<p>2): Trattamento del campione biologico</p> <p>Si consiglia di acquistare banane mature e piuttosto grandi (peso >100 grammi).</p> <p>Più la pappetta è omogenea, più accurata è la separazione delle cellule. Per questo motivo i risultati migliori si ottengono con una banana matura (riconoscibile dalle macchie marroni sulla buccia)¹.</p>	
<p>3): Estrazione del DNA dalle cellule</p> <p>In mancanza di un termostato si può utilizzare un procedimento a bagnomaria per mantenere il campione a circa 60°C.</p> <p><i>In tal caso gli studenti dovranno verificare con un termometro che la temperatura si mantiene a 60 – 65°C per l'intera durata dell'incubazione.</i></p>	

Le immagini sono tratte da Giunti Scuola (Area riservata – Scienze Scuola):

Laboratorio 16-Per saperne di più-Estraiamo il DNA.

¹**Nota:** La banana è un frutto “climaterico”, cioè matura anche se staccato dalla pianta. Durante la maturazione l'amido accumulato nelle fasi precedenti è degradato e si sviluppano le caratteristiche organolettiche del frutto maturo. Questo processo è influenzato dalla temperatura, che a sua volta determina lo sviluppo di *etilene*. Per accelerare la maturazione, si può chiudere una o più banane in un sacchetto di carta (meglio se insieme a qualche mela): l'etilene sviluppato non si disperde nell'aria e ha quindi più effetto sui frutti. Bisogna invece evitare di conservare le banane in frigorifero, perché la bassa temperatura ne fa scurire la buccia.

Fasi dell'esperimento	Note
<p>3): Filtrazione dell'estratto</p> <p>In alternativa al colino si può utilizzare un imbuto, di dimensioni analoghe.</p> <p><i>Non usare "carta da filtro di laboratorio" perché ha i pori troppo piccoli e il processo di filtrazione diventa lentissimo. Ottima invece la carta di tipo "scottex", meglio se con fogli doppi.</i></p>	
<p>4): Precipitazione del DNA in soluzione alcolica</p> <p>In alternativa alla provetta Falcon si può utilizzare un bicchiere, meglio se stretto</p> <p><i>Il DNA precipita quando l'alcol supera il 64% della soluzione, in presenza di un'alta concentrazione salina (generalmente data dalla presenza di ioni Na^+ o NH_4^+).</i></p> <p><i>I gas disciolti nell'etanolo freddo possono creare piccole bolle d'aria, che restano intrappolate all'interno del reticolo bianchiccio formato dal DNA.</i></p>	<p>Foto DNA: Paolo Laveder</p> 

Bio-2: BANANE ACERBE E MATURE

Sono semplici esperimenti di microscopia ottica, che richiedono strumenti normalmente presenti in tutti i laboratori scientifici.

N.B. Adattare il testo della prova se il microscopio a disposizione in laboratorio non raggiunge il numero d'ingrandimenti specificato nel protocollo.

Materiali a disposizione degli studenti

- 3 provette contenenti grani di amido estratti da piante diverse, siglate rispettivamente con le lettere A (frumento), B (patata), C (mais)
- 1 banana acerba
- 1 patata
- Ago manicato o equivalente oggetto appuntito
- Reattivo di Lugol, contagocce
- Vetrini portaoggetto e coprioggetto
- Spruzzetta di acqua deionizzata, carta assorbente
- Microscopio ottico

Materiale specifico per quest'attività	Note
Reattivo di Lugol	2g di ioduro di potassio in 100 mL di acqua distillata, aggiungere 0.2g di iodio. <i>In alternativa acquistare la tintura di iodio in farmacia</i>
Amido di mais (maizena) Amido di frumento (frumina) Fecola di patate	Si acquistano al supermercato, nel reparto farine per dolci.
Banana acerba	Nella banana acerba i carboidrati sono prevalentemente in forma di amido, che sarà convertito progressivamente in zuccheri semplici durante il processo di maturazione. Una banana ben matura, che è ottima da gustare, ha solo l'1 o il 2 per cento di amido.

Nella banana acerba il colore della buccia evolve dal verde verso il giallo e in avanzato stato di maturazione tende a manifestare chiazze marroni corrispondenti ad accumuli di zuccheri.

- ✓ Per l'osservazione degli amiloplasti è preferibile acquistare le banane il giorno prima della prova, scegliendole tra le più acerbe disponibili in negozio.
- ✓ Per farsi un'idea indicativa di quanto amido è presente nella polpa, versare una o più gocce di Lugol su una fetta sottile di banana. È sufficiente esaminare un solo frutto per ciascun casco comperato.

Buon Lavoro!