

Sciences de la nature

Séquence 26 : Génétique – Travaux pratiques

Réalisation de préparations microscopiques de mitose

Buts :

1. Observer le phénomène de division cellulaire (mitose) dans une racine en croissance d'oignon.
2. Rédiger un rapport d'expérience de ce travail pratique (TP).

1. Introduction

La mitose ou division cellulaire est un mode de reproduction asexuée des cellules eucaryotes (celles des animaux et des plantes) permettant leur multiplication. Elle conduit, à partir d'une cellule-mère, à la formation de deux cellules-filles identiques génétiquement, entre elles et avec la cellule-mère. Au cours de ce processus, les chromosomes de la cellule-mère sont dupliqués et répartis également entre les cellules-filles. Chez les organismes eucaryotes et pluricellulaires, il s'agit du principal facteur responsable de la croissance des tissus.

Pour observer aisément les différentes phases de la mitose et les chromosomes, il est préférable d'utiliser de jeunes organes végétaux en croissance dans lesquels les mitoses sont nombreuses. En outre, les cellules végétales sont généralement plus grosses que les cellules animales et donc plus faciles à observer au microscope. De plus, l'utilisation d'organes végétaux ne soulèvent pas de problèmes éthiques. Un matériel biologique particulièrement adapté, facile à obtenir et peu coûteux est fourni par les jeunes racines obtenues à la base de bulbes de diverses plantes (ail, oignon, échalote, jacinthe). Dans le cadre de ce TP, les racines d'oignons sont uniquement utilisées.

2. Matériel

- Matériel de protection ;
- Microscope ;
- Smartphone avec appareil photo intégré ;
- Trépied « porte-smartphone » ;
- Racines d'oignon ;
- Kit de dissection ;
- Plaque à dissection (doublée de double feuille blanche quadrillée) ;
- Lame/Lamelle ;
- Pipette jetable ;
- Essuie-tout ;
- Chronomètre ;
- Solutions (ces dernières sont préparées par l'enseignant) :
 - Acide acétique à 45% ;
 - Acide chlorhydrique 1 mol.L⁻¹ ;
 - Dans une fiole jaugée de 1 L, verser 914 mL d'eau distillée. Compléter à 1 L avec de l'acide chlorhydrique à 36 % (densité 1,178).

- Orcéine acétique, solution mère (non utilisée dans le cadre du TP) ;
 - Dissoudre 1 g d'orcéine dans 45 mL d'acide acétique pur. Faire bouillir jusqu'à dissolution et laisser refroidir. Filtrer et conserver le filtrat au réfrigérateur.
- Solution diluée à préparer extemporanément.
 - Mélanger 9 mL de solution mère avec 11 mL d'eau distillée et répartir dans des flacons compte-gouttes.

3. Protocole

3.1. Avant la date du travail pratique

Cette partie du protocole n'est pas réalisée par les élèves mais par l'enseignant. Pour obtenir le développement des racines en quelques jours (généralement 2 à 5 jours), il suffit de placer les bulbes quelques jours avant la manipulation sur un récipient rempli d'eau de façon à ce que le plateau du bulbe (sa base) baigne dans l'eau. Pour maintenir un niveau d'eau suffisant en dépit de l'évaporation, il suffit de rajouter chaque jour un peu d'eau dans les flacons.

La croissance des racines est rapide, de l'ordre de quelques mm par jour. Elle résulte des mitoses qui se produisent dans le méristème racinaire, zone de croissance située dans la zone subapicale de la racine. La Figure 1 ci-dessous montre le résultat obtenu en quelques jours pour différents bulbes.



Figure 1 : Bulbes d'oignon, d'ail et d'échalotes après croissance des racines.

Le méristème (Fig. 2) forme une petite tâche visible à l'œil nu, proche de l'extrémité des racines, comme on le voit dans le cliché ci-dessous. C'est la région qu'il convient de prélever pour réaliser la préparation.



Figure 2 : Racines en croissance d'un oignon.

3.2. À la date du travail pratique

- a) Travailler à l'intérieur du bac de dissection, préalablement doublé de deux feuilles de papier et avec le matériel de protection nécessaire.
- b) Prélever avec des ciseaux ou un scalpel, une jeune racine en croissance sur un bulbe (Fig. 3). Couper le segment terminal à 1-2 mm de l'extrémité de la racine (c'est l'échantillon) et le déposer à l'aide de la pince à dissection sur une lame porte-objet. On doit observer, près de l'extrémité, le méristème qui forme une petite tache. Veiller à ce que l'échantillon soit bien sec et qu'il n'y ait pas d'eau sur la lame. Plus le fragment prélevé est petit, dans l'idéal limité au méristème, plus le rapport du nombre de cellules en mitose par rapport au nombre total de cellules est élevé, facilitant ainsi l'identification des figures de mitose dans la préparation microscopique finale.



Figure 3 : Prélèvement des racines en croissance.

- c) Recouvrir l'échantillon d'**acide chlorhydrique** à 1 mol.L^{-1} , à l'aide d'une pipette jetable. Laisser agir 5 minutes (aide du chronomètre) pendant lesquelles l'acide hydrolyse le ciment pectique qui relie les parois cellulaires. Ceci facilitera ensuite la dissociation des cellules (Fig. 4).



Figure 4 : Racine recouverte d'acide chlorhydrique 1 mol.L^{-1} .

- d) Enlever l'acide avec un essuie-tout, utilisé comme papier buvard, en faisant attention de ne pas coller l'échantillon sur le papier.
- e) Recouvrir l'échantillon d'une solution d'**orcéine** diluée, à l'aide d'une pipette jetable, et laisser agir pendant 20 minutes (aide du chronomètre) (Fig. 5).

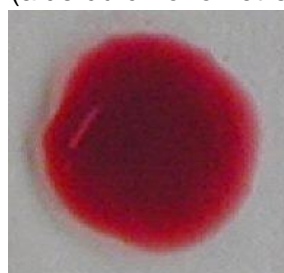


Figure 5 : Racine recouverte d'orcéine diluée.

Enseignant :
David Egger

Nom, prénom :
Classe :
Date :

- f) Éliminer le colorant avec un essuie-tout en faisant attention de ne pas entraîner l'échantillon. La lame doit être complètement propre (Fig. 6).



Figure 6 : Il n'y a plus d'orceïne diluée sur la lame porte-objet.

- g) Recouvrir l'échantillon d'une goutte d'**acide acétique à 45 %**, à l'aide d'une pipette jetable, et poser une lamelle couvre-objet (Fig. 7).

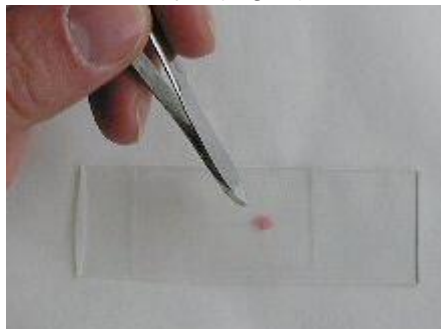


Figure 7 : Écrasement de l'échantillon avec la lamelle couvre-objet.

- h) Appuyer et déplacer doucement la lamelle (attention, fragile !) en s'aidant d'une pince pour aplatir l'échantillon et provoquer la dissociation des cellules. Cela forme une couche monocellulaire plus facilement observable.
- i) Passer la lamelle contenant l'échantillon sous la loupe binoculaire/microscope pour l'observation. **Le travail consiste alors à repérer toutes les différentes phases de la mitose dans votre échantillon.** Une fois qu'une phase de la mitose est repérée, prenez un cliché de votre observation (grossissement 400X, uniquement) grâce au trépied « porte-smartphone » et au smartphone (Fig. 8).

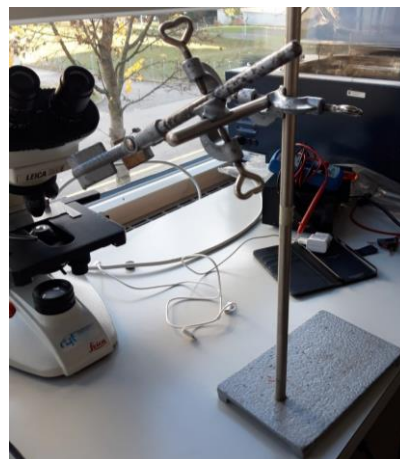


Figure 8 : trépied « porte-smartphone » (Photo : David Egger).

4. Résultats

L'identification des figures de mitose nécessite d'explorer soigneusement l'ensemble de la préparation car les cellules sont dissociées à la suite des traitements subis. Le nombre de cellules en division par rapport au nombre total de cellules est faible. Les clichés ci-dessous (Fig. 9, 10, 11, 12) présentent dans l'ordre chronologique le déroulement des phases caractéristiques de la mitose : prophase, métaphase, anaphase, télophase.

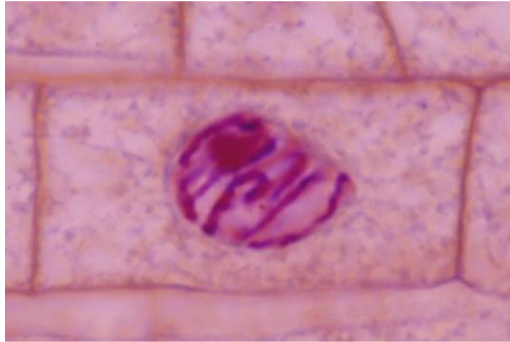


Figure 9 : Prophase.



Figure 10 : Métaphase.

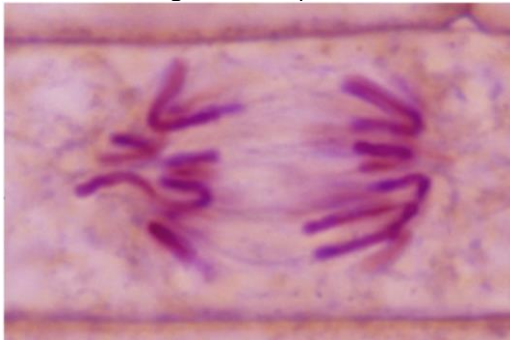


Figure 11 : Anaphase.

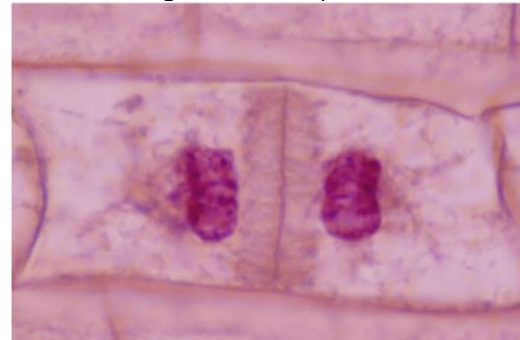


Figure 12 : Télophase.

5. Rapport de travaux pratiques

Ce rapport de TP compte pour une note de TS et doit être réalisé par groupe de 2 personnes : 1 rapport à rendre par groupe de 2. **La rédaction de ce rapport de TP s'effectue selon les règles de rédaction des pages 44, 45 (voire 46) de l'aide-mémoire**, comme d'habitude. Toutes les rubriques doivent être présentes. Vous avez droit à tous les documents que vous souhaitez.

Vous devez effectuer la rédaction du rapport de TP dans le document LibreOffice Writer, intitulé : « Modèle_rapport_TP.odt » et réalisé préalablement avec l'enseignant. Vous trouvez également la grille d'évaluation en supplément. La date de rendu sera discutée en classe avec l'enseignant. Toutefois, si vous ne rendez pas le travail à temps, celui-ci est sanctionné de la note de 1. Vous trouvez également des aides pour les différentes parties de votre TP, ci-dessous :

I. Introduction

Dans votre introduction, vous devez expliquer ce qu'est la mitose. Dans votre explication, vous veillez à utiliser le vocabulaire propre aux différentes phases de la mitose. Vous devez également expliquer le but de ce TP et comment ce dernier permet d'observer directement le processus de division cellulaire. Conseil : vous pouvez paraphraser les informations reçues durant le cours SCN.

Enseignant :
David Egger

Nom, prénom :
Classe :
Date :

(Maximum 200 mots).

IV. Protocole

Chapitre à réaliser sous forme de marche à suivre, cette dernière doit comprendre chaque étape avec une représentation légendée de votre choix (dessin, photo...) et l'indication du matériel utilisé.

(Pas de maximum de mots).

V. Résultats

Rubrique devant comprendre une photo légendée pour chaque phase de la mitose, observée au microscope. Il est évidemment possible d'observer plusieurs phases sur une même photo. Pour chaque photo, vous devez décrire vos observations. L'identification de chaque phase se déroule dans la partie conclusion. Si vous n'avez pas pu observer toutes les phases de la mitose, vous pouvez demander à d'autres groupes de vous donner une photo pour une phase manquante. Vous devez alors en référer à votre enseignant durant les périodes de TP et le mentionner dans votre travail.

(Pas de maximum de mots).

VI. Conclusion

En plus de la réfutation ou de l'acceptation de votre/vos hypothèse(s) de départ, vous nommez les différentes phases observées de la mitose et expliquez pourquoi vous attribuez telle ou telle phase à vos clichés.

6. Références bibliographiques

Pour la création de ce TP, l'enseignant s'est basé sur les sources suivantes :

Bailey, R. (2019, July 07). *The Stages of Mitosis and Cell Division*. ThoughtCo.
<https://www.thoughtco.com/stages-of-mitosis-373534>

Campbell, N., & Reece J. (2007). *Biologie* (7^e éd.). Pearson Education France.

Prat. R. (s.d.). *Réalisation de préparations microscopiques de mitose : une méthode sûre, rapide et peu coûteuse*. Biologie et Multimedia.
<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/mitose.htm>