

TP1: Réalisation des plaques métaphasiques

I. Introduction

La Mitose, appelée aussi la division cellulaire permet de multiplier le nombre de cellules en conservant la quantité et la qualité des informations contenues dans les chromosomes. Ces événements sont classés en 4 phases : prophase, métaphase, anaphase et télophase.

Ce TP sera organisé en deux séances :

- 1- Présentation du TP, organisation des manipulations et préparation des végétaux pour la germination ;
- 2- Réalisation des plaques métaphasiques.

II. Matériel et réactifs

Réactifs	Matériel
-CaSO ₄ (Sulfate Calcium) (60mg/l), -MgSO ₄ (Sulfate de Magnésium anhydre) (60mg/l), -NaHCO ₃ (Bicarbonate de sodium) (96mg/l), -KCl (Chlorure de potassium) (4mg/l), -Carmin acétique (2%) ou acéto-orcéine (2%) -C ₂ H ₄ O ₂ (Acide acétique 45%), -HCl (Chlorure d'hydrogène) 1N, -C ₂ H ₆ O (Ethanol).	- Espèces végétales : <ul style="list-style-type: none"> ✓ Des bulbes d'oignon (<i>Allium cepa</i>) : intacts, de diamètre 3 à 7 cm, (poids moyen de 25 g). ✓ Des graines de lentilles cultivées : <i>Lens culinaris subsp. culinaris</i>): -Microscope et loupe optique , -Bain Marie -Etuve -Balance de précision, -Lames, lamelles, tubes à essai, micropipettes, pipettes, éprouvettes,, béchers, pince, seringue, Erlenmeyer...etc.

III.Méthodes

III.1. Présentation du TP, organisation des manipulations et préparation des végétaux pour la germination.

- ✓ Sélection les espèces végétales pour ce TP :
 - Des bulbes d'oignon (*Allium cepa*) : intacts, de diamètre 3 à 7 cm, (poids moyen de 25 g).
 - Des graines de lentilles cultivées : *Lens culinaris subsp. culinaris* :
- ✓ Nettoyage, lavage des bulbes d'oignon et graines de lentilles cultivées
- ✓ Scarification et élimination des racines mortes des bulbes d'oignon.
- ✓ La germination des espèces végétales (bulbes d'oignon et graines de lentilles cultivées).
 - Immerger l'extrémité des bulbes dans un flacon rempli de milieu de culture humide à température ambiante
 - Étaler les graines de lentilles cultivées dans une boîte de Pétri tapissée de papier filtre humide à température ambiante.

III.2. Réalisation des plaques métaphasiques

- ✓ Couper les jeunes racines de 1-1.5cm de longueur, dans des tubes contenant une solution composée d'éthanol et d'acide acétique en proportion 3:1, pendant : 24 h à 4 °C ;
- ✓ Placer le fragment dans une solution d'acide HCl (1N) à 60 °C, pendant 10 mn, dans le bain Marie ;
- ✓ Dilacérer soigneusement à l'aide d'aiguille fine ;
- ✓ Rincer avec de l'eau distillée ;
- ✓ Recouvrir le fragment avec l'acéto-orcéine ou carmin acétique (2%) et laisser agir 10 min dans le bain Marie ;
- ✓ Réaliser une coupe fine à l'extrémité méristématique terminale, à environ 0.5 cm sous une loupe optique ;
- ✓ Placer l'échantillon entre lame et lamelle, écraser soigneusement ;
- ✓ Procéder à l'observation sous microscope optique à l'aide d'un objectif de faible grossissement (X 10) puis grossissement (X 40 pour terminer avec le dernier grossissement (X 100) à immersion;
- ✓ Etablir un caryotype des plaques métaphasiques ;
- ✓ Photographier les plaques métaphasiques.

IV. Ce qui est demandé :

Réaliser un compte rendu.

Bon courage