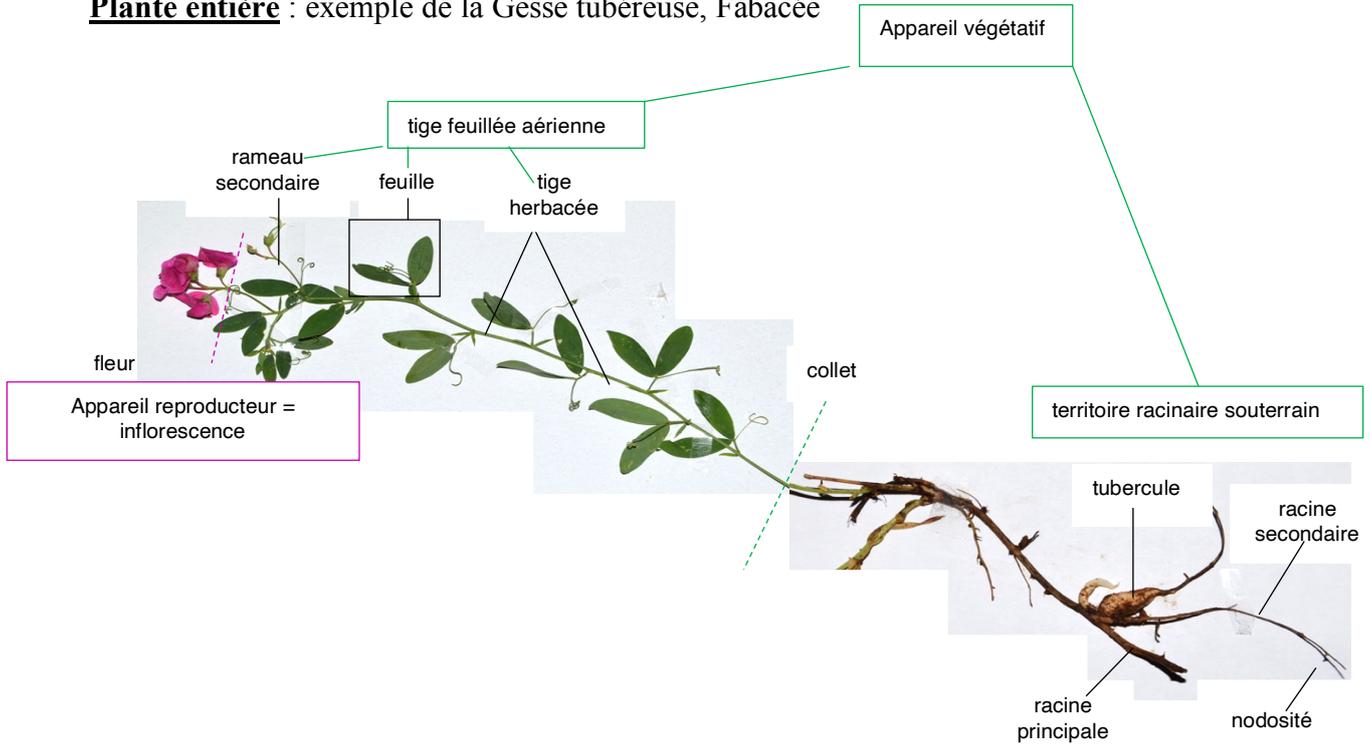


TP 4 : l'appareil végétatif des Angiospermes

Plante entière : exemple de la Gesse tubéreuse, Fabacée



I- Observation de plantules

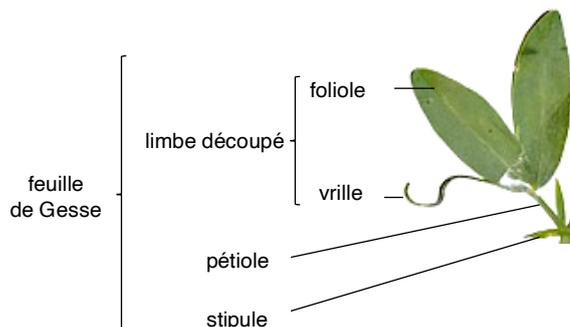
A- Description des feuilles

La feuille se définit comme un organe plat porté latéralement par la tige ; elle est fixée au niveau d'un nœud et accompagné d'un bourgeon axillaire. Elle présente une symétrie bilatérale.

La morphologie de la feuille permet de classer la plante dans deux groupes :

- les Dicotylédones possèdent une feuille non engainante qui se découpe en 3 portions :
 - o le limbe, plat, peut avoir des formes diverses ; il est découpé en folioles chez les Fabacées
 - o les stipules, plats au contact de la tige
 - o le pétiole, cylindrique et fin

Exemple de feuilles de Fabacées :



feuille de Vesce :
nombreux folioles,
vrille, mais stipules
réduits



feuille de Trèfle
trois folioles,
stipules engainants

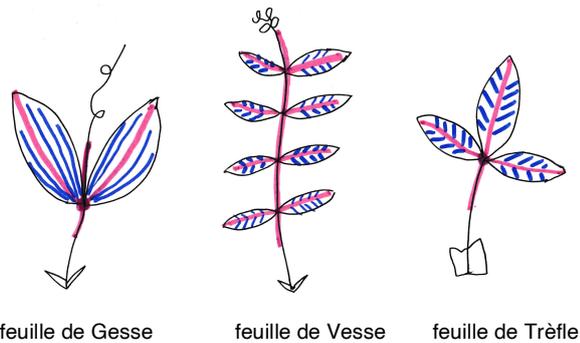
- les Monocotylédones possèdent des feuilles à nervation parallèle et de forme engainante autour de la tige ; leur feuille se découpe alors en :
 - o un limbe plat et entier à nervation parallèle
 - o une gaine
 - o une ligule, délicate membrane à la jonction gaine-limbe

Le limbe des feuilles porte une nervation : chaque nervure correspond à l'échelle microscopique au passage des faisceaux criblo-vasculaires. On distingue trois motifs de nervation :

- la nervation palmée : les nervures partent toutes d'un même point et rayonnent dans plusieurs directions
- la nervation pennée : les nervures partent toutes d'un même axe qui structure la feuille
- la nervation parallèle

On distingue également plusieurs niveaux de nervation : chez les fabacées à limbe découpé

- la nervation principale alimente les folioles
- la nervation secondaire dessine des lignes sur chaque foliole.



Nervation principale	palmée	pennée	palmée
Nervation secondaire	palmée (attention, presque parallèle)	pennée	pennée

B- Description de la tige

La tige se définit comme un organe cylindrique qui porte (ou a porté) des feuilles et des bourgeons.

Les bourgeons sont les zones de croissance de la tige et abritent les méristèmes. On distingue :

- le bourgeon terminal, situé à l'extrémité de la tige, assure sa croissance en longueur
- les bourgeons axillaires, situés à la base de chaque feuille, permettent une ramification éventuelle de la tige.

La disposition des feuilles est la phyllotaxie. Toute feuille se fixe en un point de la tige : le nœud.

- une feuille par nœud
 - o avec un angle de 180° entre deux feuilles successives : la phyllotaxie est alterne
 - o avec un angle de $100-120^\circ$ entre deux feuilles successives, ce qui donne une implantation en spirale des feuilles
- deux feuilles par deux et un angle de 90° entre deux paires de feuilles successives : la phyllotaxie est opposée
- plus de 2 feuilles par nœud : la phyllotaxie est verticillée

Une tige se structure longitudinalement en nœud et entre-nœud ; chaque segment composé d'un entre-nœud et d'un nœud se nomme un phytomère.

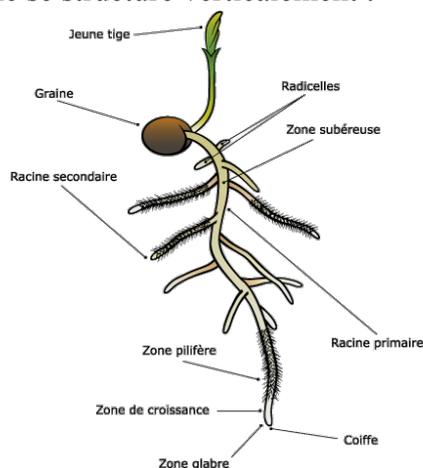
Quelquefois les entre-nœuds sont extrêmement réduits : la tige est en plateau.

Enfin certaines tiges sont vertes et souples : elles ont un port herbacé. D'autres tiges sont rigides et brunes et appartiennent à un arbre ou un arbuste.

C- Structuration longitudinale des racines

La racine se définit comme un organe cylindrique, en général souterrain, qui ne porte ni feuille ni bourgeon. Elle participe à l'ancrage au sol et à l'absorption hydrominérale.

La racine se structure verticalement :



La racine est le site de deux symbioses :

- la mycorhize est une symbiose entre la racine et du mycélium de champignon
- la nodosité est une symbiose spécifique aux Fabacées : entre la racine de Fabacées et des bactéries fixatrices de diazote du genre *Rhizobium*

Approche pratique :

Exercice 1 : présentation in situ de la plante de Fabacée adulte

- *étiqueter les différentes structures de la plante ; utiliser un code couleur pour mettre en valeur les 3 organes*
- *titrer et orienter*
- *photographier*

Exercice 2 :

- *observation de la racine de lentille à la loupe binoculaire*
- *estimation de la surface de contact entre les poils absorbants et le sol*
- *calcul du gain de surface*

Exercice 3 : dessin d'observation des plantules

Exercice 4 : observation microscopique de nodosités

Protocole :

- *écraser délicatement une nodosité sur une lame*
- *couvrir de bleu de méthylène et laisser agir 5 min*
- *rincer légèrement*
- *recouvrir d'une lamelle*
- *faire un croquis*

II- Étude histologique de la feuille

La feuille est un organe structuré en tissus dont l'agencement est organe-spécifique. Chaque tissu regroupe des cellules pourvues d'une paroi et d'une vacuole, visibles au microscope optique, et de nombreux compartiments : un noyau et des plastes, visibles au microscope optique, ainsi que des mitochondries, du REG, un appareil de Golgi, des lysosomes, peroxyosomes et vésicules.

Les cellules végétales sont des cellules eucaryotes dont la taille moyenne est de l'ordre de 100 μm . Elles possèdent paroi et vacuole.

A- Observation des stomates

Protocole 1 = observation microscopique d'un stomate

- écorcher la feuille, pour récupérer un échantillon d'épiderme ; le fragment s'il est trop grand se replie sur lui-même
- déposer sur lame dans une goutte d'eau, recouvrir d'une lamelle, observer

Protocole 2 = empreinte

- étaler une fine couche de vernis sur l'épiderme r d'une feuille, laisser sécher
- récupérer le vernis à l'aide d'une pince, le déposer sur lame et recouvrir d'une lamelle

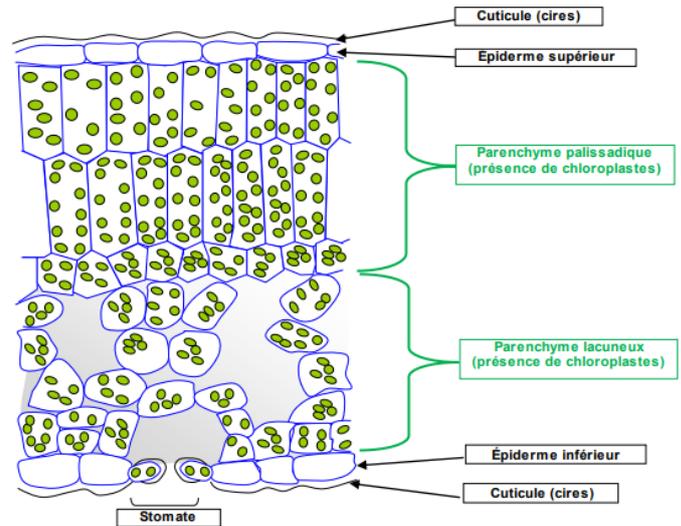
Protocole 3 = observation d'une coupe transversale de feuille et recherche d'un stomate en coupe

Stomate vue de dessus (poireau)	Stomate en coupe (muguet)

B- Etude histologique

Protocole 1 = réalisation d'une coupe non vidée et colorée au bleu de méthylène

- réaliser une coupe fine d'un foliole à la lame de rasoir et la placer sur une lame
- recouvrir d'une lamelle et observer



Protocole 2 = réalisation d'une coupe vidée et doublement colorée

- réaliser une coupe fine d'un foliole à la lame de rasoir et la placer dans le panier
- placer le panier dans un bain d'eau de javel installé dans un verre de montre pendant 10 min puis rincer
- placer le panier dans un bain d'acide acétique à fonction de fixateur pendant 5 min (pas de rinçage)
- placer le panier 2 min dans le colorant carmino-vert : c'est un mélange de rouge carmin, colorant de la cellulose et de vert d'iode, colorant de la lignine
- rincer, déposer sur lame, recouvrir d'une lamelle et observer

Description des tissus

	Forme des cellules	Disposition des cellules	Épaisseur et couleur de la paroi	Contenu cellulaire
épiderme				
Parenchyme chlorophyllien				
Xylème				
Phloème				

Les tissus végétaux sont reconnaissables par la forme globale des cellule et leur disposition, l'épaisseur et la chimie de leur paroi, la présence éventuelle de plastes.

C- Chromatographie

La chromatographie est une technique de séparation de molécules selon leur **affinité différentielle entre une phase stationnaire (le support) et une phase mobile (l'éluant ou solvant)**. Quand l'affinité de la molécule pour le support devient supérieure à celle pour la phase mobile, la molécule se dépose.

Le choix du support et de l'éluant est variable selon les molécules séparées.

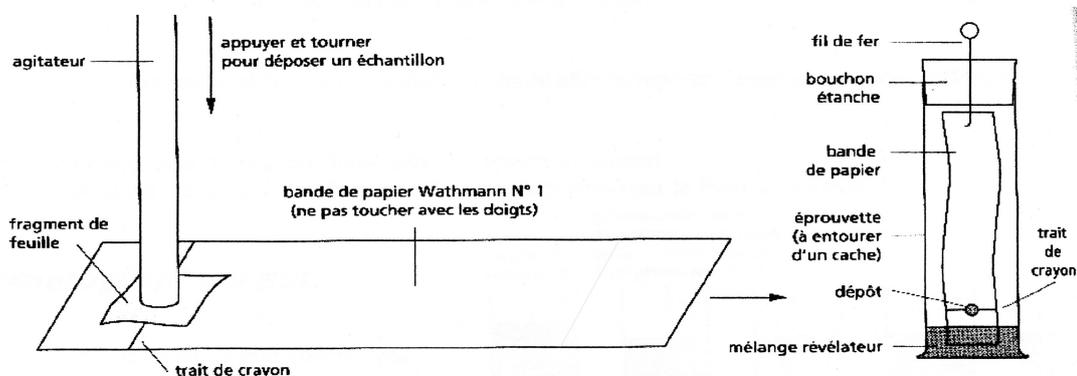
La chromatographie peut utiliser divers supports : papier, couche fine, colonne ; billes de silice enrobées d'un ligand et diverses phases mobiles fluides : solvant polaire, solvant apolaire, gaz. Elle utilise aussi différents moteurs pour déplacer la phase mobile : capillarité, gravité...

C1- Mise en évidence des pigments foliaires

Objectifs : dénombrer les pigments de feuilles photosynthétiques, par chromatographie sur papier

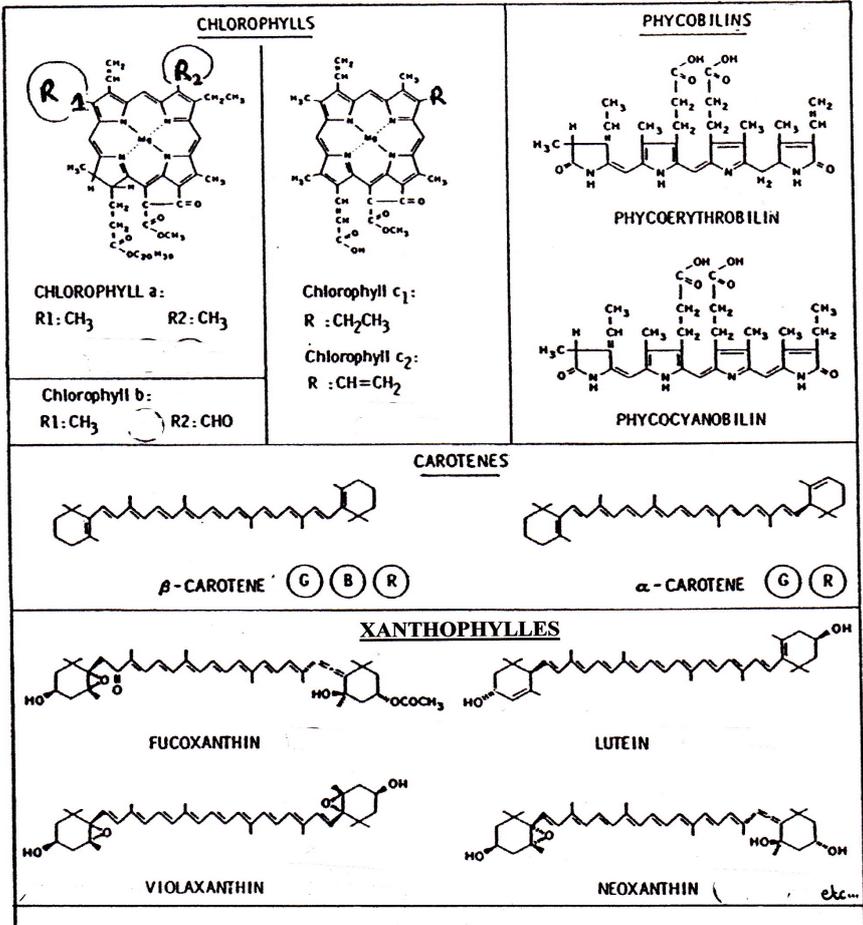
Protocole :

- **ne pas respirer le solvant** (solvant organique à base d'éthanol et d'acétone, adapté aux lipides)
- préparer l'éprouvette : mettre environ 1 cm de solvant et fermer hermétiquement, afin que l'atmosphère interne se sature en vapeurs de solvants.
- préparer le papier de chromatographie : une bande de papier Whatman que l'on ne doit **jamais toucher avec les doigts**. Vérifier sa dimension ! La placer sur la paillasse propre. Y tracer au crayon un trait correspondant à la ligne de dépôt : cette ligne doit obligatoirement se situer au-dessus du solvant. Positionner 3 points sur cette ligne : les 3 points de dépôt.
- écraser avec un agitateur en verre une feuille d'épinard sur deux points de dépôt ; déposer une goutte de purée de carotte sur le 2ème point
- accrocher la bande au crochet et la descendre dans l'éprouvette : **le solvant doit imprégner la base du papier mais ne doit pas recouvrir les dépôts. Le papier ne doit pas non plus toucher le verre. Le papier doit être bien vertical.**
- recouvrir le montage d'un **cache en papier noir** et laisser migrer 15 minutes environ : arrêter la manipulation quand la migration stoppe d'elle-même.
- sortir la bande ; la déposer sur un papier absorbant ; entourer très précisément les tâches de couleur visibles. Les couleurs naturelles risquent de disparaître assez rapidement à la lumière ou de se modifier.



Aucune révélation n'est nécessaire car les molécules sont colorées.

Faire un croquis du résultat puis interpréter-le.



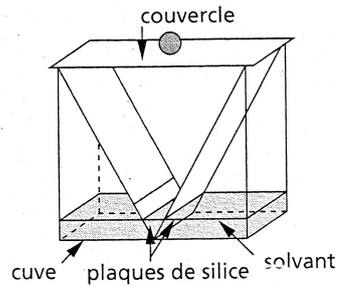
C2- Mise en évidence des sucres foliaires

Objectif : identifier la composition glucidique des sèves en utilisant des solutions de référence

Protocole :

- sur une feuille imprégnée de silice, tirer un trait au crayon à 1.5 cm de chaque bord de la plaque ; marquer sur cette ligne 4 emplacements numérotés
- prélever et déposer avec un cure-dent 3 gouttes de chaque solution ; laisser sécher entre les gouttes

- emplacement n°1 : glucose,
- emplacement n°2 : lactose
- emplacement n°3 : saccharose
- emplacement n°4 : SE sève élaborée
- emplacement n°4 : SB sève brute



- placer la plaque dans la cuve déjà remplie de solvant de migration : la ligne de départ doit être au-dessus du solvant. Le solvant choisi permet la séparation de toutes les molécules polaires.
- refermer hermétiquement et laisser migrer 20 à 30 min, jusqu'à ce que le front du solvant atteigne la seconde ligne
- sécher au sèche cheveu (la plaque ne doit plus sentir l'odeur du solvant)
- verser le mélange révélateur à base de permanganate dans une cuvette et y immerger la plaque pendant 10 s : égoutter et sécher au sèche-cheveux jusqu'à apparition de tâches jaunes (réduction du permanganate par les fonctions alcool des sucres) : ce révélateur caractérise les molécules réductrices.
- entourer au crayon les tâches jaunes et tracer au crayon les fronts de migration de chaque molécule et du solvant

Faire un croquis du résultat puis interpréter-le.