

**TP 02. Les structures et les
mécanismes de défense chez les
Angiospermes**

**Chapitre 01. Les relations entre organisation et
mode de vie chez les plantes à fleurs**

objectifs du TP

Le mode de vie fixée des végétaux leur empêche tout déplacement qui leur permettrait de fuir telle ou telle condition du milieu qui pourrait être dangereuse.

L'objectif du TP est d'identifier quelques mécanismes protecteurs en relation avec la déshydratation et la défense contre des phytophages chez le Houx.

Production attendue

compte-rendu décrivant la démarche scientifique réalisée lors de ce TP.

Pour cela :

- Emettre des hypothèses sur les mécanismes protecteurs utilisés par la feuille de Houx pour se défendre contre des phytophages et la déshydratation,
- Sélectionner dans les protocoles proposés, ceux qui vous permettront de tester vos hypothèses,
- Réaliser les protocoles sélectionnés,
- Rédiger un compte-rendu de votre démarche scientifique (courte introduction, problématisation, description de la démarche choisie, conclusion de vos expériences et conclusion générale répondant au problème soulevé)

compléments

Les échanges gazeux de CO₂ et d'eau, entre l'atmosphère et les cellules des feuilles, se réalisent au niveau de structures microscopiques dans l'épiderme des feuilles, **appelées stomates.**

L'action directe des rayonnements solaires sur la face supérieure des feuilles peut entraîner des pertes d'eau excessives.

compléments

Les enzymes sont des protéines qui jouent un rôle indispensable dans la digestion des aliments.

Les tanins sont des polyphénols provoquant entre autres, la précipitation des protéines et la baisse d'absorption intestinale du Fer chez les animaux.

travaux de J. R. OBESO (1997)

Les feuilles de houx très épineux sont broutées moins souvent par les grands mammifères ongulés (bovins, caprins, chevreuil et chevaux) que les feuilles d'arbustes moins épineux.

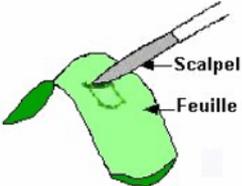
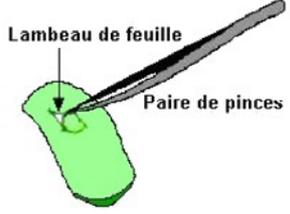
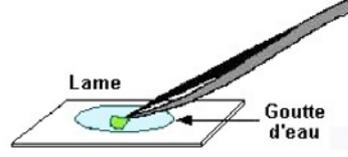
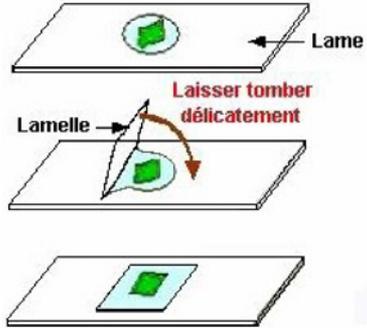
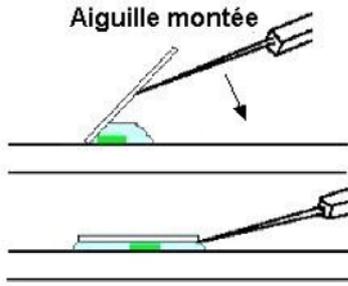
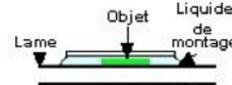
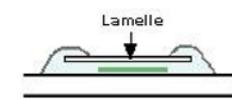
En revanche, les épines n'ont aucun effet sur les insectes.

Par ailleurs, il a été observé que les rejets issus de rameaux broutés présentent toujours une croissance annuelle plus faible tout en produisant des feuilles plus petites et très épineuses.

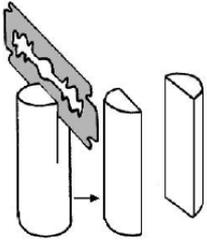
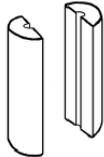
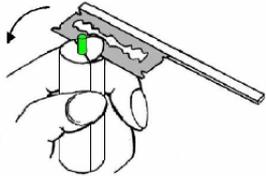
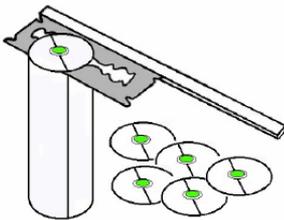
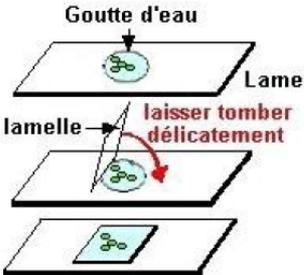
Materiel

- feuille fraîche de Houx et de laitue.
- flacon de vernis incolore muni d'un pinceau
- Microscope
- lames, lamelles
- pince fine, aiguille lancéolée, papier filtre,
- pissette d'eau, feutre, lampe.
- Lame de rasoir
- Tube à essai - flacon de perchlorure ferrique
- Bain marie thermostaté
- un mortier associé à un pilon

Prélèvement d'un fragment d'épiderme foliaire

Matériel		Colorants éventuels
- Scalpel, paire de pinces fines, paire de ciseaux fins, aiguille montée - Lame, lamelle - Eau		- Rouge neutre - Bleu de méthylène
Prélèvement et montage		
1 - Découper un petit carré d'épiderme (utiliser un scalpel ou une paire de ciseaux fins).	2 - Prélever le carré à l'aide d'une paire de pinces fines.	3 - Placer le carré dans une goutte d'eau préalablement déposée sur une lame.
 <p>Labels: Scalpel, Feuille</p>	 <p>Labels: Lambeau de feuille, Paire de pinces</p>	 <p>Labels: Lame, Goutte d'eau</p>
4 - Déposer délicatement la lamelle sur la préparation. <i>(colorer éventuellement avant ou après montage, les vacuoles au rouge neutre ou les noyaux au bleu de méthylène)</i>	4 bis - Pour déposer la lamelle, il est possible de s'aider d'une aiguille montée.	5 - Evaluer la qualité de la préparation
 <p>Labels: Lame, Lamelle</p> <p>Text: Laisser tomber délicatement</p>	 <p>Label: Aiguille montée</p>	Bonne préparation et bon montage  <p>Labels: Lame, Objet, Liquide de montage</p> <ul style="list-style-type: none"> - objet mince et correctement étalé - liquide sous toute l'étendue de la lamelle bien horizontale
		Mauvaise préparation  <p>Labels: Liquide de montage, Air</p> <ul style="list-style-type: none"> - objet trop épais d'un côté - lamelle inclinée avec coin d'air d'un côté - liquide débordant de l'autre
		Mauvais montage  <p>Label: Lamelle</p> <ul style="list-style-type: none"> - trop de liquide débordant sur le dessus de la lamelle

Réalisation d'une coupe végétale

Matériel		
pour réaliser et observer les coupes	pour colorer les coupes	
<ul style="list-style-type: none"> Des bâtons de moelle de sureau, Une lame de rasoir ou un rasoir de coupe face plane, Des lames et lamelles, Microtome à main genre Ranvier (facultatif). 	<ul style="list-style-type: none"> une allumette taillée en biseau, 6 verres de montre, eau et eau de javel, eau acétique à 1 %, carmino-vert (10 parties de carmin aluné + 1 partie de vert d'iode). 	
Réalisation de coupes transversales (racines, tiges ou feuilles)		
1- Inclusion de l'organe		
<p>- Fendre le bâton de moelle de sureau en deux dans le sens de la longueur.</p> 	<p>- Creuser dans chaque demi-cylindre obtenu une cavité de dimensions convenables (ni trop grandes ni trop étroites) pour loger l'objet à couper.</p> 	<p>- Placer l'objet dans ces cavités.</p> <p>- Réaliser une première coupe perpendiculaire à l'axe (ou plan) de symétrie de l'organe pour déterminer le plan de coupe ; prendre le rasoir d'une main et l'appuyer sur l'index de l'autre main puis le tirer à soi d'un rapide mouvement de faux.</p> 
2- Exécution des coupes	3- Coloration des coupes	4- Montage entre lame et lamelle
<p>- Réaliser plusieurs coupes en respectant le plan de coupe précédent et en utilisant la même technique.</p> <p>- Faire des coupes les plus fines possibles tout en sachant qu'un fragment de coupe peut permettre une bonne observation.</p> 	<p>- Porter les coupes à l'aide de l'allumette taillée en biseau, dans un verre de montre rempli d'eau.</p> <p>- Transférer ensuite les coupes dans les différents verres de montre en respectant les temps indiqués. (cf. la technique de coloration)</p> <p>Eau de Javel 15-20 min Eau 1min Eau acétique : 5 à 10 min Carmino vert : 3min Lavage</p>	<p>- Monter les coupes entre lame et lamelle dans une goutte d'eau.</p> <p>- Déposer délicatement la lamelle sur la préparation en s'aidant éventuellement d'une aiguille montée.</p> 
Réalisation de coupes tangentielles de tige		
<p>1 - Réaliser des coupes très fines et transparentes, tangentiellement à l'épiderme de la tige, privilégier la finesse à la longueur.</p> <p>Les déposer coté interne sur le dessus, au fur et à mesure, sur une lame dans une goutte d'eau.</p> <p>La tige étant cylindrique, la coupe tangentielle montrera au microscope un liseré d'épiderme en périphérie qui permettra l'observation de la surface de l'épiderme.</p> <p>2 - Sélectionner les coupes les plus fines et transparentes et recouvrir d'une lamelle,</p> <p>3 - Ajouter de l'eau si nécessaire en déposant délicatement une goutte en bordure de la lamelle.</p> 		

PROTOCOLE DE RÉALISATION D'UNE PRÉPARATION MICROSCOPIQUE D'EMPREINTE D'ÉPIDERME

Veiller à bien organiser et gérer le plan de travail pour manipuler proprement et en sécurité ; notamment, **proscrire toute présence d'eau au voisinage des lampes et des fils électriques.**

La face inférieure de la feuille est marquée d'une croix au feutre
Les empreintes d'épiderme reproduisent fidèlement le contour des cellules.

1. **Étaler** une goutte de vernis incolore (ou pansement liquide) sur une surface de 0,5cm de diamètre sur la face supérieure de la feuille fournie. **Éviter** les couches excessivement fines qui ne se décollent pas ainsi que les gouttes épaisses qui sèchent très lentement. (NB réaliser plusieurs étalements pour faire plusieurs essais).
2. **Répéter** l'opération sur la face inférieure.
3. **Faire sécher** la feuille quelques minutes, posée sur le verre de montre ou équivalent. sous une lampe.
4. Quand le vernis est sec, **soulever** le bord d'une couche de vernis à l'aide de l'aiguille lancéolée et la **décoller** délicatement à l'aide de la pince fine.
5. **Monter** entre lame et lamelle dans une goutte d'eau. **Placer** l'empreinte réalisée en la retournant face décollée sur le dessus.
6. **Répéter** la manipulation avec l'épiderme de la face inférieure.



AIDE A L'OBSERVATION DES STOMATES ET A LA LEGENDE DES DESSINS

Stomates d'un épiderme type :

Les stomates ont une structure en forme de disque constitué de deux cellules stomatiques arquées bordant une ouverture en forme de boutonnière à bords épais : l'ostiole. Les cellules entourant un stomate sont des cellules épidermiques.

Les empreintes d'épiderme reproduisent fidèlement le contour des cellules.

Mise en évidence des tanins

Protocole n° 1 Mise en évidence des tanins

Les tanins (polyphénols), ont la capacité de former des chélates colorés avec des sels de métaux lourds. Leur présence au sein d'une plante à étudier est mise en évidence par l'apparition d'une coloration ou la formation d'un précipité noirâtre intense, après ajout de perchlorure de fer à l'extrait de cette plante

Protocole de mise en évidence :

- Broyer 1 g de plante environ 20 mL d'eau distillée
- Dans un tube à essais, introduire 8 mL de la plante préalablement broyé.
- Ajouter un mélange 2 ml d'eau distillée et d'acétone 6 ml.
- Placer au bain marie (60°C max), pendant 5 min environ, en agitant de temps en temps.
- Filtrer sur papier filtre.
- Recueillir le filtrat dans un tube à essais
- Ajouter au filtrat 2 gouttes de perchlorure ferrique (FeCl_3) à 10%.

En présence de tanin, un précipité noir-vert intense apparaît.

Le chlorure ferrique a un caractère **d'acide fort** et présente donc tous les risques dus aux produits corrosifs. Des projections dans les yeux peuvent causer des brûlures graves. Il faut **porter des lunettes** quand on le manipule. Une éclaboussure sur la peau doit être lavée sans délai. Un contact prolongé cause une irritation et peut provoquer une brûlure.