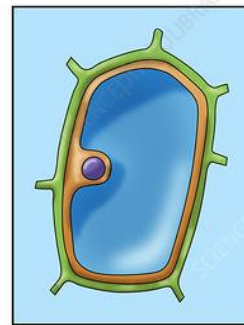
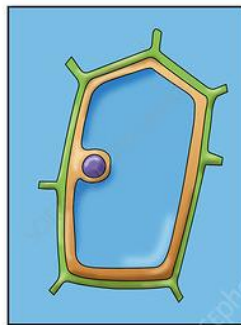
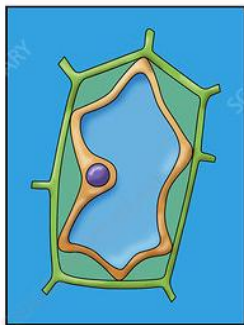


TRAVAUX PRATIQUES DE PHYSIOLOGIE VEGETALE

Filière : Sciences de la Vie

Semestre : 4



Responsable : Pr. LAGRAM Khalid

Année universitaire: 2019-2020

Recommandations générales

1. les étudiants travaillent par binôme
2. le port de la blouse pendant **toute la séance** de TP est **obligatoire**
3. Il est indispensable de préparer la séance de TP : lire attentivement le texte du fascicule correspondant à la manipulation du jour.
4. Réserver, à la fin de la séance, 10 minutes pour le rangement et le nettoyage de la paillasse.
5. Ne pas jeter de papiers ni de réactifs dans les éviers.
6. Laver la verrerie avec de l'eau savonneuse et la rincer à l'eau distillée.
7. Le compte-rendu que vous devez obligatoirement remettre à l'enseignant à la fin de chaque séance constitue l'essentiel de ce sur quoi vous serez noté. Il devra comporter en haut et à gauche de la première page les noms et prénoms, le numéro de la carte d'étudiant, l'année d'étude, le sous-groupe ainsi que la date et le titre de la séance.
8. Vous devrez également apporter un grand soin à la rédaction de votre compte rendu.
9. L'évaluation du compte-rendu –matérialisée par la note/20- obéira aux critères suivants :
 - ✦ Répondre aux questions posées dans l'ordre proposé
 - ✦ Apporter des réponses précises, claires et concises
 - ✦ Il sera tenu compte dans la note du soin que prendra l'étudiant pour manipuler et ranger sa paillasse ainsi que pour la présentation de son compte-rendu.

TP N° 2 : Absorption de l'eau par la cellule végétale

I. GENERALITES

Les échanges d'eau entre deux compartiments séparés par une membrane hémiperméable sont réglés par les lois de **l'osmose**.

La pression **osmotique** d'une solution est définie comme l'attraction exercée par une solution sur les molécules d'eau dont elle est séparée par une membrane hémiperméable.

Les lois d'osmose s'apparentent à celles des gaz parfaits: la pression osmotique d'un corps non électrolyte en solution diluée dans un volume V, à la température T, peut être comparée à la pression exercée par un gaz enfermé dans une enceinte close;

$$P.V = n.R.T \longrightarrow P = R.T.C$$

Avec :

- **n = nombre de moles du corps non électrolyte,**
- **V = volume de la solution,**
- **R = constante des gaz parfaits = 0,083 L . Atm . mol⁻¹ . K⁻¹,**
- **C = concentration molaire en mol/l,**
- **T = température absolu (en Kelvins).**

La pression osmotique (Π) d'une solution est donc donnée par la relation : **$\Pi = C . R . T$**

Au niveau des **tissus végétaux**, les échanges d'eau se font à travers les parois et les membranes. Le milieu intracellulaire comprend une grande vacuole centrale qui renferme une solution aqueuse complexe : le **suc vacuolaire**.

Les solutés contenus dans le suc vacuolaire exercent une force d'attraction sur les molécules d'eau appelée force ou **pression osmotique**.

A l'opposé, il existe une pression dirigée en sens inverse qui vient s'opposer à la pression osmotique, cette pression est due à l'élasticité de la membrane vacuolaire dilatée ; c'est ce que nous appelons la **pression de turgescence**. Cette pression s'oppose à l'entrée de l'eau dans la cellule.

La vacuole, par sa concentration en solutés (donc par sa pression osmotique et son **potentiel hydrique**) et en relation avec la pression exercée par la paroi cellulaire, règle la **turgescence** de la cellule. **Le mouvement de l'eau** est régi alors par la résultante des deux forces opposées. Cette résultante est appelée force de succion (S). **$S = - \Pi + P_t = P_t - \Pi$** (Π = pression osmotique de la cellule et P_t = pression de turgescence).

Il est possible donc de faire varier la pression de **turgescence** d'une cellule en faisant varier la pression **osmotique** du milieu extérieur. Si l'on plonge les cellules dans des solutions sucrées de différentes concentrations (concentrations croissantes de saccharose par exemple), on observe **trois états de la cellule** en fonction de la pression osmotique externe :

- 1:** Le milieu est moins concentré que la vacuole de la cellule. L'eau a tendance à entrer dans la cellule. La cellule gonfle et exerce une pression sur la paroi (pression de turgescence).
- 2:** Début de plasmolyse; de fins tractus cytoplasmiques relient le protoplaste à sa paroi; Dans une cellule en état de plasmolyse commençante ou plasmolyse limite, la pression de turgescence est nulle et $S = \Pi$.
- 3:** A l'équilibre dans une solution très concentrée $P_t = 0$, $\Pi = S$ c'est la plasmolyse. Dans la cellule plasmolysée, les tractus sont rompus et le protoplaste est parfaitement arrondi ;

A l'équilibre dans l'eau pur $\Pi = P_t$ c'est la pleine turgescence. Entre la plasmolyse et la turgescence P_t , Π et S prennent des valeurs intermédiaires

II. OBJECTIFS DES MANIPULATIONS

✦ Manipulation N°1

L'objectif de cette manipulation consiste à la **détermination de l'effet de la pression osmotique d'une solution sur l'état la cellule** ; Déterminer pour quelles valeurs de pression osmotique du milieu extérieur (Π_{sol}), les cellules végétales de la betterave rouge sont en état de ;

- Turgescence
- Plasmolyse
- Plasmolyse limite

✦ Manipulation N° II

Cette deuxième manipulation vise à :

- Détermination pondérale de la quantité d'eau échangée entre la cellule et le milieu extérieure en calculant le ΔP
- Déterminer la capacité du végétal étudié à absorber l'eau, en mesurant la succion initiale (S_0)
- Détermination de l'état osmotique initial du matériel végétal étudié en comparant la valeur de succion initiale (S_0) avec celle de la plasmolyse limite (Π_L)

III. PROTOCOL EXPERIMENTAL

✦ Manipulation N° I

1. Préparation d'une gamme de concentrations croissantes de saccharose

1.1. Préparation de la solution mère de saccharose

- Il faut préparer 100 mL d'une solution mère de saccharose de concentration $C = 1 \text{ mol/L}$. Le laboratoire dispose d'un flacon de granules de saccharose. Sur l'étiquette de ce flacon on lit l'inscription : $PM = 342,30 \text{ g/mol}$.

1.2. Préparation de la gamme de concentrations croissantes de saccharose

- A partir de la solution mère molaire déjà préparée dans l'étape précédente, préparer dans 11 tubes à essais numérotés de 1 à 11, des solutions de concentrations croissantes : du 1 jusqu'à 0 mol/L (10 ml pour chaque concentration, selon le tableau ci-dessous).

Tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Saccharose (ml)											
Eau distillée (ml)											
[saccharose] (mol/l)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1

2. Préparation et observation des coupes fines des tissus du matériel végétal

- À partir de la série des tubes préparée précédemment, verser environ 2ml de chacune des dilutions dans un alvéole (préalablement numéroté), puis recouvrir les alvéoles avec une plaque afin de limiter l'évaporation.
- NB: Le reste des solutions (8ml) sera utilisé ultérieurement dans la manipulation N° II.
- À l'aide d'une lame de rasoir, réaliser après chaque 5 min des coupes très minces du matériel végétal (3 à 5 coupes).
- Immerger, successivement et de 5 min en 5 min, dans chaque alvéole les coupes réalisées.
- L'incubation a été faite dans la température de la salle (environ 22°C)
- Après 30 minutes d'immersion (dans chaque alvéole), récupérer et monter les coupes entre lame et lamelle, dans une goutte de la solution de saccharose dans laquelle elles se

trouvaient, puis observer au microscope en commençant par le faible puis le fort grossissement

- Pour chaque concentration de saccharose noter l'état des cellules (Plasmolysées ou Turgescents)
- Déterminer et encadrer les concentrations (X et Y) entre lesquelles s'observe le début du décollement cytoplasmique. Cette valeur représente la pression osmotique du végétal à la plasmolyse limite
- Déterminer ensuite la concentration moyenne de saccharose correspondante à l'état de plasmolyse limite, puis en tirer la valeur de la pression osmotique à la plasmolyse limite (Π_L), exprimée en atmosphère
- Dessiner les différents états cellulaires

✦ Manipulation 2

1. Détermination pondérale de la quantité d'eau échangée entre la cellule et le milieu extérieure

- Découper 11 rectangles de papier aluminium et numéroté les de 1 à 11 (éviter de les mouiller)
- À partir du matériel végétal (Betterave rouge rapidement séché), découper à l'aide d'un emporte pièces des cylindres de tissus ayant 0,6 cm de diamètre
- Découper ensuite, ces cylindres en petits cylindres épaisses de 0,5 à 0,7 cm au maximum. Préparer 33 morceaux de ce type.
- Sécher les cylindres légèrement en les passant doucement sur le papier absorbant
- Envelopper chaque **trois cylindres avec** un morceau de papier aluminium numéroté, pour éviter qu'ils ne se dessèchent
- Peser chaque trois cylindres enveloppés dans un papier aluminium et noter le poids initial P_i
- Enlever le papier aluminium puis introduire chaque trois cylindres dans le tube correspondant (solution de saccharose correspondante), tout en conservant les rectangles de papier aluminium au sec
- Opérer suivant un rythme régulier de façon à ce que chaque cylindre passe le même temps à l'air libre
- Homogénéiser les essais par agitation des tubes au vortex (refaire la même chose toutes les 30 minutes environ)

- Après 1,5 heures de contact avec le milieu extérieur, sortir doucement les cylindres des solutions et sécher-les rapidement et doucement à l'aide du papier absorbant
- Envelopper à nouveau les cylindres dans les rectangles de papier aluminium correspondants et peser-les à nouveau et noter le poids final Pf
- Calculer, pour chaque concentration de saccharose, la variation relative de poids en pourcentage des cylindres (ΔP en %). (Tableau ci-dessous). ($\Delta P = (P_f - P_i) / P_i \times 100$).

Tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Poids initial P_i (g)											
Poids final P_f (g)											
ΔP (%)											

2. Déterminer la capacité du végétal étudié à absorber l'eau et son état osmotique initial

La mesure de la succion S_o , inconnue, consiste à soumettre des échantillons végétaux à un milieu extérieur exerçant une pression osmotique capable de s'opposer complètement aux échanges extérieurs d'eau. Dans cette situation d'équilibre, la pression osmotique extérieure est égale à la succion et nous permet de la mesurer.

Pour ce faire, représenter graphiquement ΔP en fonction de la concentration en saccharose, Après on détermine la concentration C_o , puis on calcule la succion initiale (S_o) du matériel végétal étudié.

Déterminer ensuite l'état osmotique initial du matériel végétal étudié

Quelques résultats des deux manipulations à exploiter pour remplir vos comptes rendus

Manipulation 1 : Effet de la concentration du milieu extérieur sur l'état cellulaire

Tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
[saccharose] (mol/l)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
État des cellules (T/ P)	T	T	T	T	T	T	P	P	P	P	P

Manipulation 2 : Détermination pondérale de la quantité d'eau échangée entre la cellule et le milieu extérieure

Tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Poids initial Pi (g)	1,31	1,39	1,31	1,19	1,41	1,3	1,17	1,35	1,35	1,31	1,16
Poids final Pf (g)	1,64	1,68	1,64	1,42	1,55	1,4	1,36	1,37	1,3	1,19	1,05
ΔP (%)											

Consulter ce lien pour remplir le compte votre rendu du TP en ligne

<https://forms.gle/bq6Su8re5hYDeiJeA>