

## Réaliser, en classe, des préparations de mitose

*Une technique classique, intéressante, permettant une bonne observation des chromosomes, peut être facilement réalisée par des élèves de 2<sup>nd</sup>e ou de terminale.*

### MATÉRIEL

#### Matériel vivant

##### *Cellules méristématiques de racines de Jacinthe ou d'Ail.*

- ▶ Les racines sont obtenues avec des bulbes dont la base trempe dans l'eau. L'apparition des racines est plus rapide si les bulbes sont maintenus au froid pendant quelques jours, au réfrigérateur par exemple. Compter environ une semaine pour avoir des racines d'Ail utilisables; pour les Jacinthes, cela dépend des traitements subis par le bulbe (forçage).
- ▶ Les cellules de Jacinthe sont plus grandes que celles de l'Ail, l'observation des chromosomes en est facilitée.
- ▶ 24 à 48 heures avant leur utilisation, les bulbes sont placés au réfrigérateur ce qui provoque un ralentissement des divisions cellulaires. Le froid étant un inhibiteur du fuseau achromatique, ce traitement augmente le nombre de métaphases et permet de se passer de colchicine.

#### Produits nécessaires (pour 12 groupes)

HCl; 1 mol/l (50 ml)

Acide acétique à 45 % (50 ml)

Orcéine acétique diluée (20 ml) (ne se conserve pas).

Les produits sont fournis aux élèves dans des flacons de 3 ml munis de compte-gouttes.

- ▶ L'orcéine diluée est préparée à partir d'une solution-mère à raison de 9 ml de solution-mère pour 11 ml d'eau distillée. La solution-mère d'orcéine se conserve 3 à 4 ans. On la prépare en dissolvant 1 g d'orcéine Merck dans 45 ml d'acide acétique pur, bouillant. Laisser refroidir puis filtrer.
- ▶ N.B. L'orcéine acétique est relativement spécifique des chromosomes. On peut aussi l'utiliser pour l'étude de la méiose, par exemple dans les cellules-mères des grains de pollen. On fait des frottis de jeunes anthères, lorsqu'elles sont encore translucides (environ au 1/3 de leur longueur définitive). Colorer directement, sans hydrolyse préalable.

### RÉALISATION

#### Mode opératoire

- Prélever l'extrémité d'une racine (1 cm environ). Réaliser une tranche fine dans la partie médiane à l'aide d'une lame de rasoir, dans le sens longitudinal. Pour les racines d'Ail, se contenter de les fendre en deux.
- Placer le fragment sur une lame de verre et le recouvrir d'acide chlorhydrique. Laisser l'acide agir 5 mn afin d'hydrolyser le ciment pectique, ce qui permettra le *squash*.
- Enlever l'acide à l'aide d'un papier filtre.
- Dilacérer soigneusement à l'aide d'aiguilles fines (aiguilles à insectes).
- Recouvrir d'orcéine diluée et laisser agir 10 à 15 mn. (Les colorants évoluant avec le temps, il est nécessaire de contrôler la durée exacte avant les TP).



- Eliminer au maximum l'orcéine avec un papier filtre sans entraîner le matériel végétal.
- Dilacérer à nouveau les morceaux les plus gros si nécessaire. Contrôler la taille des fragments au microscope (objectif  $\times 4$  ou  $\times 10$ ) sans mettre de lamelle.
- Mettre une goutte d'acide acétique à 45 %, poser une lamelle sur la préparation.
- Placer la lame entre deux feuilles de papier filtre sur une surface bien plane. Poser le pouce à l'endroit de la lamelle et appuyer bien verticalement de tout son poids.
- Décoller la lamelle avec une aiguille montée (une partie des cellules reste sur la lamelle), rajouter une goutte d'acide acétique et remettre la lamelle ou une lamelle propre.

### Observation

- ▶ Les cellules doivent être bien séparées les unes des autres; légèrement dilatées par l'acide acétique, elles présentent des angles arrondis. Le cytoplasme est peu ou pas coloré, les chromosomes sont roses à rouges. Les chromosomes sont, eux-aussi, dilatés par l'acide acétique ce qui les rend encore plus faciles à observer. Les plaques métaphasiques sont bien visibles de même que les groupes de chromosomes anaphasiques. L'écrasement n'est pas suffisant pour disperser les chromosomes et permettre un comptage.
- ▶ Si l'on veut conserver les préparations quelques temps, monter dans de la glycérine acétique (1 volume de glycérine + 1 volume d'acide acétique), luter avec une colle cellulosique.

### Difficultés rencontrées

- Le fragment coloré ne contient pas ou peu de cellules méristématiques : la racine a été coupée en biais (fréquent). Contrôler que le méristème a bien été prélevé : il est légèrement coloré en jaune.
- Dilacération insuffisante
  - Coloration trop pâle (il faut tester le colorant)
  - Peu de figures de division : faire faire plusieurs préparations à chaque élève afin d'augmenter les chances d'obtenir les diverses phases de la mitose.

## UTILISATION

La manipulation et l'observation, (sans dessins) prennent 1 heure à 1 h 30. Cette manipulation peut être placée avant l'étude de la mitose, l'intérêt de l'observation étant centré alors sur la condensation du matériel nucléaire, mais elle peut être utilisée aussi après l'étude complète de la mitose, en une sorte d'exercice pratique où les élèves doivent retrouver les stades déjà connus. Elle crée un intérêt pour les techniques de cytologie qui permet une meilleure compréhension des documents photographiques relatifs à la mitose, aux chromosomes, aux caryotypes. Elle permet de montrer combien la compréhension d'un phénomène est indissociable de la technique utilisée pour l'explorer.

### Bibliographie

- LACOUR (L.F.) & DARLINGTON (C.D.). — *The Handling of Chromosomes*.  
 LOUIN (M.) & LANGERON (M.). — *Manuel de microscopie*. — Paris : Masson, 1978.  
 MOGENET (B.). — Etude pratique des chromosomes. — *Biologie Géologie (Bull. de l'APBG)* 3-1982, p. 589-592.