

Préparation et coloration faciles de méristèmes racinaires d'ail

OBJECTIF

Dans le cadre de la préparation d'une animation de bassin en SVT axée sur les TP au collège en cycle 4, nous avons été amenés à réaliser des préparations microscopiques de cellules méristématiques de racines d'ail colorées avec du jus de baies de myrtille commune (*Vaccinium myrtillus*). C'est un colorant simple et bon marché.

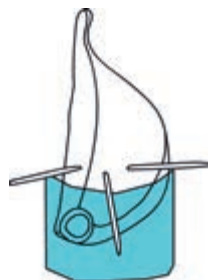
Nous avons appliqué et adapté la méthode de préparation de ce colorant décrite sur le site Planet-Vie : <https://planet-vie.ens.fr/content/coloration-chromosomes-jus-myrtille#2-preparation-du-colorant-et-materiel-experimental>.

MATÉRIEL UTILISÉ

- une tête d'ail
- un sachet de baies de myrtille (fraîches ou surgelées)
- alcool à 95 %
- papier filtre
- solution HCL à 1M
- solution d'acide acétique 45 %
- paire de ciseaux
- paire de pinces
- lame de verre
- lamelle
- microscope optique

PROTOCOLE

1. Développement des racines d'ail obtenu en 5 jours :
 - soit en plaçant le bulbe entier dans l'eau ;
 - soit en séparant les gousses. Chaque gousse est maintenue par des allumettes et ensuite placée au-dessus de l'eau.



1. Bulbe ou gousse (schéma) mis à germer dans l'eau

2. Lorsque les très jeunes racines atteignent environ 1 cm au maximum, les zones méristématiques peuvent être prélevées et traitées.
3. Préparation du colorant aux baies de myrtille :
 - broyer dans un mortier environ 20 grammes de myrtille auxquels on ajoutera le même

volume d'alcool à 95 % ;

– filtrer sur un papier préalablement imbibé d'alcool.

Cette solution mère se conserve très bien à l'obscurité.

4. Protocole de préparation de la lame :

– couper un fragment de racine à 5 mm de l'extrémité de la jeune racine ;

– déposer le fragment sur une lame de verre ;

– recouvrir le fragment avec une goutte de solution d'HCl 1M, attendre 5 minutes ;

– éliminer la solution acide avec un papier absorbant (attention à ne pas coller l'échantillon sur le papier) ;

– recouvrir le fragment avec du colorant au jus de myrtille ;

– attendre 20 minutes minimum. La coloration sera plus intense si la durée est allongée ;

– éliminer le colorant avec du papier absorbant ;

– recouvrir le fragment avec une ou deux gouttes d'acide acétique 45 % ;

– disposer une lamelle sur le fragment ;

– appuyer délicatement avec un coton tige sur la lamelle de façon à écraser le fragment et séparer les cellules ;

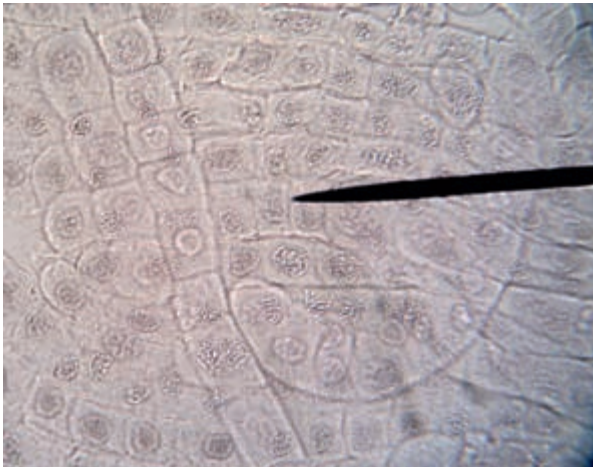
– observer au microscope optique à plusieurs grossissements.

RÉSULTATS

1. Les cellules sont séparées correctement. La solution HCl à 1M hydrolyse le ciment pectique qui relie les parois cellulaires facilitant l'écrasement de la racine sous la lamelle (site de Didier Pol, <http://www.didier-pol.net/3mitose.htm>)

2. Le repérage des figures de mitose est long en raison d'un nombre plus faible de cellules en division par rapport au nombre total de cellules.

3. Lors de la mise au point de ce TP nous avons comparé la coloration des cellules avec le colorant dilué au tiers avec de l'eau (indiqué sur le site Planet-Vie) et avec le colorant pur.



**2. Observations des cellules méristématiques d'ail au microscope (x 600)
Colorant dilué au tiers**

Les étapes de la mitose des cellules méristématiques sont visibles mais la coloration n'est pas assez intense (fig.2). Cette préparation a été colorée avec le colorant de myrtille dilué au tiers. On distingue la prophase, anaphase et télophase.



3. Observations des cellules méristématiques d'ail au microscope (x 600) Colorant pur

En utilisant le colorant de myrtille pur, les figures de mitose sont davantage mises en évidence.

CONCLUSION

La méthode fréquente de coloration des méristèmes d'ail avec le carmin acétique inclut une étape de chauffage par ébullition sous hotte aspirante présentant un danger pour les élèves mais également un investissement important pour un collège.

La méthode décrite ici peut être utilisée en classe par les élèves de cycle 4 et en évaluation par compétences. La préparation du colorant est rapide, peu onéreuse et non toxique. Il est possible également d'utiliser de l'huile à immersion avec l'objectif x 40 pour améliorer la qualité de l'observation des cellules.



Nicole Faure : professeure de SVT,
collège international Joseph Vernier, Nice,
nicolef2@gmail.com