

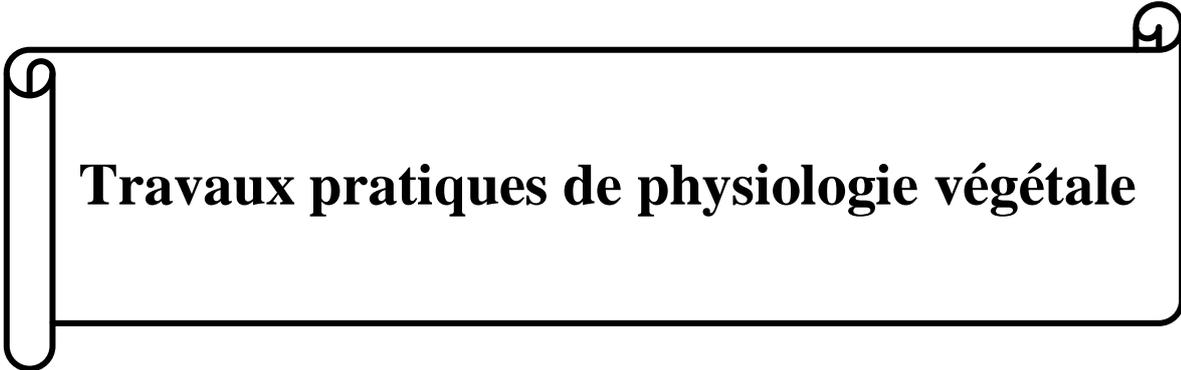
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université de Relizane

Faculté des Sciences et de la Technologie

Filière : Sciences alimentaires

Département : Agronomie

Niveau : 2^{ème} année Licence



Travaux pratiques de physiologie végétale

Présenté par Mr. Bettouati Abdelkader

Année universitaire : 2021 /2022

Fiche de TP N° 01 : Germination des graines

Introduction

La germination est une phase physiologique qui correspond à la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase de développement de la plantule. Le processus de germination commence dès que la graine sèche est hydratée.

La germination au sens strict correspond au temps qui s'écoule de l'imbibition de la graine jusqu'au début de la croissance de la radicule .Elle peut être subdivisée en trois périodes : imbibition de la graine, activation de la graine et début d'allongement des cellules de la radicule. Pendant la période d'imbibition, la graine absorbe l'eau du milieu externe. Elle gonfle, pouvant atteindre un volume triple de celui à l'état sec ; le tégument se rompt parfois. L'imbibition peut durer de quelques minutes à trois heures suivant la structure et la perméabilité des téguments. La période d'activation de la graine peut durer une dizaine d'heures. Aucun changement notable ne s'est visible. Seules s'opèrent quelques modifications du métabolisme, qui préparent le déclenchement de la croissance. Au cours de la période de début d'allongement des cellules de la radicule, et suivant les espèces, la radicule perce l'albumen et /ou les téguments de la graine. Dès que cette percée est réalisée, la graine a germé ; la germination au sens strict est terminée.

La seconde phase de la germination représente le début de la croissance de la plantule. Les différentes parties de celle –ci (radicule, tigelle, cotylédons, gemmule) vont entamer leur croissance successivement. La radicule croît d'abord. La tigelle entreprend ensuite sa croissance par élongation, dont l'importance varie considérablement suivant les espèces.

On distingue la germination épigée : où les cotylédons sont soulevés au dessus de la surface du sol et la germination hypogée : où les cotylédons restent souterrains (au-dessous de la surface du sol) .Pendant la germination, la plantule utilise pour la couverture de ses besoins énergétiques les réserve de la graine (amidons, lipides, etc.) , qui sont transformées, sous l'action d'enzymes appropriées, en substances directement utilisables pour la croissance (saccharose, acides aminés). Lorsque ces substances sont épuisées, la jeune plante, qui possède un appareil racinaire et un appareil aérien formés et fonctionnels et peut réaliser la photosynthèse, devient autonome et peut assurer elle-même sa propre croissance.

1. Objectifs

- Comprendre les différentes étapes du développement de la plante à partir de la graine ;

- Mise en évidence de la croissance par élongation ;
- L'évaluation de la croissance (taux et vitesse de croissance).

2. Matériels et réactifs

- Graines de lentilles, blé dur ou autres
- Eau de javel
- Boîtes de pétri
- Coton imbibé d'eau
- Papier millimétrique

3. Méthodes expérimental

a-Principe

Pour que la graine germe, il faut que les activités cellulaires reprennent. Dans un premier temps, elle doit impérativement s'imbiber d'eau. La respiration reprend et la consommation d'oxygène permet de tirer de l'énergie des molécules organiques mises en réserve, grâce à l'hydrolyse enzymatique. La plantule apparaît alors par multiplications cellulaires : racine d'abord puis feuilles. Elle a désormais besoin d'un support de culture. Puis elle subit une croissance par élongation des organes et un développement par acquisition de nouveaux organes.

b-Mode opératoire

- Laver les graines dans de l'eau javellisée afin d'enlever les bactéries. Puis rincer avec de l'eau distillée ;
 - Prendre des boîtes de pétri ;
 - Recouvrir le fond de la boîte de pétri de coton humide ;
 - Déposer 2 à 3 graines sur le coton dans chaque boîte ;
 - Placer les boîtes de pétri dans une salle à température ambiante et Chaque 2 jours, effectuer les mesures de la longueur des racines et tige
 - Représenter graphiquement la croissance de la racine de la tige en fonction du temps (jours)
- Calculer les paramètres de croissance pour les plantes germées (taux de croissance et vitesse de croissance).

c-Résultats

Dès la germination, la petite racine, appelée radicule, grandit pour former la racine principale. Elle s'allonge à partir de son extrémité contenant un méristème apical racinaire, et s'enfonce dans le sol. La jeune tige de l'embryon se développe en tige principale à partir d'un méristème apical caulinaire (situé à l'extrémité) qui assure la croissance en longueur. Cette tige est formée de noeuds (zones d'insertion des feuilles) et d'entre-noeuds (segments dépourvus de feuilles). Un bourgeon axillaire est situé à l'aisselle du point d'insertion de chaque feuille. Les rameaux secondaires poussent à partir des bourgeons axillaires. Chaque bourgeon contient un méristème. La croissance résulte de la division cellulaire, ou mitose, et de l'élongation des cellules. L'élongation est l'augmentation irréversible en volume selon une direction particulière. La croissance d'un organe est le résultat de l'augmentation du nombre de cellules qui le constituent et de la taille des cellules individuelles. La multiplication cellulaire présente généralement une allure exponentielle ou logistique (figure 1).

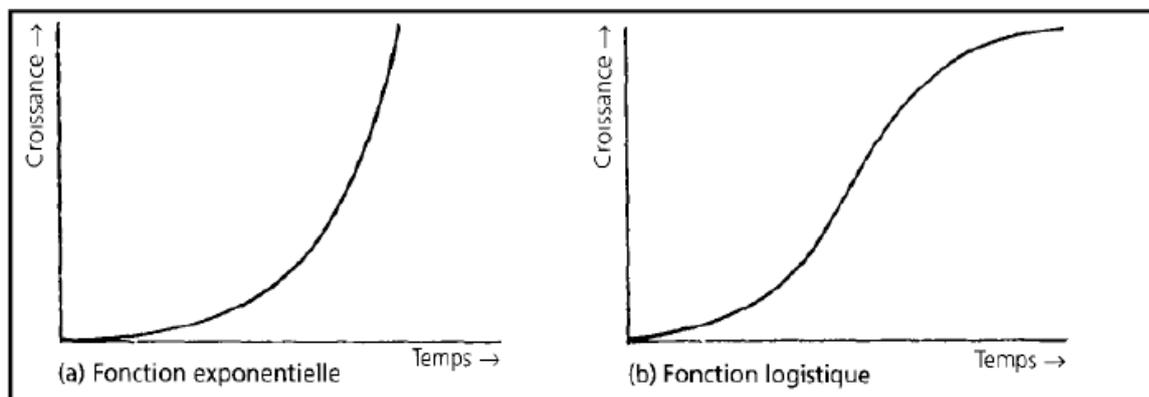


Figure 1. Allure générale de la courbe de croissance des plantes.

$$\text{La vitesse de croissance (V)} = \frac{\Delta Y}{\Delta T}$$

$$\text{Taux de croissance} = \frac{\Delta Y}{Y \Delta T}$$

D'où : Y : c'est la taille de la tige
 T : Temps de croissance

Fiche de TP N° 02. Détermination de la pression osmotique par la méthode de la plasmolyse-limite

Introduction

L'osmose est un phénomène de diffusion de la matière mis en évidence lorsque des molécules d'eau (de solvant de façon générale) traversent une membrane semi-perméable qui sépare deux liquides dont les concentrations en produits dissous sont différentes. La différence de concentration provoque une différence de *pression osmotique* qui engendre un déplacement du *solvant* à travers la membrane.

1. Matériels et réactifs

- Bulbe d'oignon ;
- Onze (11) verres de montre ;
- Solution de saccharose M (1 mol.L^{-1}) (soit 342 g/L ou 34,2%) ;
- Eau distillée ;
- 2 pipettes de 5 ml;
- Lame-lamelles ;
- Microscope optique ;
- pinces fines et rasoir.

2. Méthodes

2.1 Principe

Pour connaître la pression osmotique d'un tissu, il suffit de chercher, dans une gamme de solutions de concentration croissante, celle qui en équilibre osmotique avec les cellules. Comme cet état d'équilibre n'est pas directement perceptible, on admet que la solution qui produit un faible début de plasmolyse (plasmolyse limite) est pratiquement isotonique du milieu cellulaire.

2.2 Protocole

- Préparer une série de 11 tubes contenant des concentrations croissantes de saccharose ;
- Mettre quelques millilitres de chaque solution dans 11 verres de montre posés sur une feuille de papier, sur laquelle on indiquera les concentrations correspondantes ;
- Prélever de petits fragments d'épiderme à l'aide d'une pince fine ;
- Placer les morceaux d'épiderme dans les verres de montre ;
- Attendre 15 à 30 min et observer.

Tableau 01 :

N ^o des verres de montre	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
V ³ de la solution de sacc.(mL)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
Volume d'eau distillée (mL)	5	4.5	4	3.5	3	2.5	2	1.5	1	0.5	0
Concentration molaire (mol.L ⁻¹)	0	0,1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1

3. Interprétation des résultats

- Les cellules sont turgescentes pour les faibles concentrations de milieu et plasmolysées pour les fortes concentrations ;
- Il existe une concentration pour laquelle on observe une très légère plasmolyse (plasmolyse limite) ;
- En état de turgescence, l'entrée d'eau s'arrête lorsque la pression exercée par ce mouvement (pression osmotique) est équilibrée par la pression de réaction de la paroi (pression de paroi ou pression de turgescence).
- Calculer la pression osmotique du suc vacuolaire en fonction des résultats observés,

Exemple :

- Si la dernière préparation turgescente correspond au verre de montre n°4 (concentration molaire en saccharose : 0.3) et la première préparation plasmolysée correspond au n°5 (concentration molaire en saccharose : 0.4) on peut écrire que la concentration molaire de la *solution isotonique* au suc vasculaire et par conséquent la concentration molaire m du suc vacuolaire est compris entre

$$0.3 < m < 0.4$$

- La pression osmotique du suc vacuolaire est donc comprise entre les valeurs :

$$22.4 * 0.3 < P < 22.4 * 0.4$$

Fiche de TP № 03. Analyse du sol**Introduction**

Les analyses physicochimiques du sol permettent aux agriculteurs d'évaluer les niveaux de fertilisations des sols et de l'adapter aux programmes de fertilisation complémentaire en fonction des besoins des sols et des cultures. Ces analyses permettent aussi d'obtenir le meilleur rendement au niveau de la productivité, maîtriser les coûts de production et de protéger l'environnement.

Préparation du sol

Séchage : pour obtenir un sol uniforme

Broyage : pour augmenter la surface de contact entre le sol et les réactifs

Expérience 01. Dosage du calcaire dans le sol

- *Le calcaire total correspond à la quantité de Carbonate de calcium (CaCO₃)*
- Peser 1g de sol et verser dessus une solution de HCl (1N) ; après effervescence ajouter une quantité d'eau distillée, remuer et verser sur le filtre.
- Recueillir le résidu sur le filtre et mettre dans une étuve à 105°C jusqu'à poids constant.
- Mesurer le pourcentage de calcaire dans le sol selon l'équation suivante :
% de calcaire = $(P_i - P_f)/P_i \cdot 100$ ou : P_i : poids initial du sol ; P_f : poids final du sol.

- La formule de la réaction est la suivante :



Carbonate de Calcium + Acide chlorhydrique \longrightarrow Chlorure de Calcium

Expérience 02. Dosage de la matière organique dans le sol

- Peser 1g de sol, verser dessus 5ml d'H₂O₂ concentré, et remuer (le H₂O₂ concentré détruit la matière organique ; les produits sont dégradés en CO₂, H₂O et NO₂ et parfois SO₂) ;
- Filtrer et rincer avec de l'eau distillée ;
- Porter à l'étuve à 105°C jusqu'à poids constant ;
- Mesurer le % de la matière organique selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de MO} = (P_i - P_f)/P_i \cdot 100$$

P_i : poids initial ;

P_f : poids final.

- Les sols sont répartis en trois classes :

- Teneur faible < 4% ; Teneur modérée 4-9% ; Teneur élevée 9-30%

Expérience 03. Technique de sédimentation

La méthode de sédimentation consiste à séparer les constituants du sol en fonction de leurs poids selon la loi de Stokes.

Prendre un bécher en verre et ajoute un volume de terre et 3 d'eau et laisser décanter pendant 48h.

On aura 5 phases de décantation dans l'ordre :

1. Fraction grossière > 2 mm ;
2. Sable grossier : 2 à 0.2 mm ;
3. Sable fin : 0.2 à 0.04 mm ;
4. Limon : 0.04 à 0.002 mm;
5. Argile < 0.002 mm.

Selon les résultats obtenus, les sols se classent en différentes catégories :

- ✓ Sableux
- ✓ Limoneux
- ✓ Argileux

Expérience 04. Mesure du pH

Peser 5g de sol et mélanger à 10ml d'eau distillée (1/3 – 2/3), agiter la solution pendant une minute. Procéder à la lecture du pH.

On classe les sols selon leur acidité de la manière suivante :

pH < 4.5 : sols très acides

4.5 < pH < 6 : sols faiblement acide

6 < pH < 7 : sols équilibrés

pH > 7 : sols calcaire (basique)

Fiche de TP N° 04. Extraction, Séparation des pigments chlorophylliens par chromatographie sur papier

INTRODUCTION

Nous savons que les organismes chlorophylliens sont autotrophes pour le carbone, c'est à dire capables de synthétiser des substances organiques à partir de substances minérales. Cette synthèse nécessitant la lumière comme source d'énergie s'appelle donc photosynthèse. Chez les organismes photosynthétiques, l'utilisation de l'énergie lumineuse est rendue possible par l'existence de pigments, molécules capables d'interagir spécifiquement avec certaines longueurs d'onde de la lumière. Cette propriété confère aux pigments une couleur déterminée due à l'absorption de certaines longueurs d'onde lorsqu'ils sont éclairés par de la lumière blanche.

Parmi les pigments impliqués dans la photosynthèse se trouvent les chlorophylles a et b ainsi que les caroténoïdes. Ce sont des molécules lipophiles qui absorbent spécifiquement la lumière à certaines longueurs d'onde.

1. BUT :

Le but de cette expérience est de savoir extraire et Séparer des pigments chlorophylliens photosynthétiques foliaires par chromatographie sur papier.

3. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

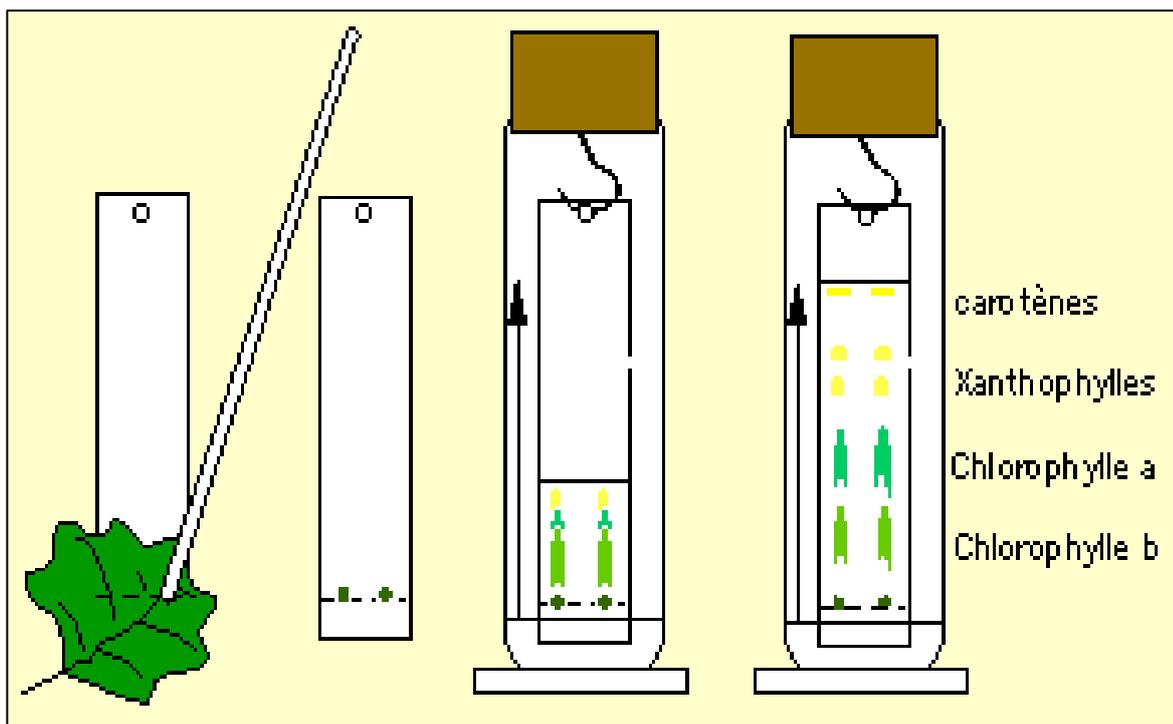
3.1. Extraction des pigments

- 1- Couper finement 3 g de feuilles dans un mortier.
- 2- Ajouter une pincée de sable et une pincée de carbonate de calcium CaCO_3 (pour neutraliser l'acidité du milieu).
- 3- Broyer soigneusement jusqu'à ce que l'ensemble forme une pâte.
- 4- Ajouter alors environ 20 ml d'acétone à 95° et continuer à broyer fortement quelques minutes, jusqu'à ce que la solution soit vert foncé. Laisser décanter (entonnoir + Filtre) dans un becher.

3.2. Séparation des pigments par chromatographie sur papier

Cette technique consiste à faire migrer, grâce à un solvant (appelé phase mobile ou éluant), les constituants de l'extrait du végétal déposé sur une plaque recouverte d'une fine couche de cellulose (appelée phase stationnaire). Ces constituants ont une «affinité » variable pour la phase stationnaire, ils vont par conséquent être plus ou moins retenus par celle-ci et migrer sur des distances variables. On décrit la plaque chromatographique en énumérant les Rf de chaque tache ou spot, obtenus en calculant le rapport du déplacement d'un pigment sur la distance parcourue par le front du solvant.

- Tirer un trait transversal avec un crayon à 1 cm du bord de la bande.
- Déposer une tache de 100 µl (le déposer en 2 prises pour obtenir un dépôt intensément coloré) d'extrait au centre du trait avec une micropipette.
- Laisser sécher le dépôt (Voir schéma ci-dessous).
- Placer la bande dans le flacon (éprouvette de 250 ml ou 500 ml enrobée par du papier aluminium), le fermer hermétiquement et faire coulisser le crochet de façon à ce que le bord de la bande plonge dans le solvant (85% d'éther de pétrole, 10% d'acétone, et 5% de cyclohexane) à 1 cm au-dessous du dépôt (Voir schéma ci-dessous).
- Laisser le chromatogramme se développer pendant 40 à 45 minutes.
- Calculer le **Rf = Rayon frontal** (distance parcourue par le pigment /distance parcourue par le solvant) et identifier chaque pigment en utilisant les indications fournies.
- Coller le chromatogramme sur votre feuille de TP.
- Commenter les résultats obtenus.



Fiche de TP N° 05: Dosage des pigments chlorophylliens

1- Dosage des pigments chlorophylliens

Pour le dosage des pigments chlorophylliens, on a suivi le protocole suivant :

Les teneurs moyennes en chlorophylle a et b sont déterminées par la méthode de **Rao et le blanc (1965)**, donc :

- Coupez les feuilles de variétés de blé de façon grossière avec une paire de ciseaux.
- Peser 0.5g à l'aide d'une balance.
- Placez les feuilles coupées dans un mortier.
- Ajouter 20 ml d'acétone 80%.
- Broyer avec carbonate de calcium plusieurs fois (pour faciliter le broyage) jusqu'à ce que le solvant prenne une teinte verte marquée.
- Filtrer le broyat sur papier filtre à l'aide d'un entonnoir sur les tubes à essais.
- Lecture en spectrophotomètre dans la longueur d'onde 645 nm et 663 nm.
- Le calcul de la quantité de la chlorophylle est obtenu par les formules suivantes :

Chl a : 12,07 (DO 663) – 02,69 (DO 645)

Chl b: 22,09 (DO 645) – 04,86 (DO 663)

Chl (a + b): 08,02 (DO 645) + 20,20 (DO 663)

2-Questionnaire de compte- rendu :

- 1-Exprimer la teneur en mg/l.
- 2- Exprimer cette teneur en mg/kg PF de feuilles.
- 3- Exprimer cette teneur en mg/dm² de surface foliaire.



Figure 1: Etapes à suivre pour le dosage des pigments chlorophylliens.

