

TP révisions 4

durée : 4h ; vendredi 12 juin (8h-12h et 13h-17h) ; salle de TP de bio.

Thèmes :

- SV-A : dissection d'une moule, d'un criquet, observation de branchies, de trachées, coloration de Gram, observations de lames d'histologie animale
- SV-F : étude de croisements et lien avec la méiose, préparation de lames de mitoses, observation de lames de mitose ou de méiose
- SV-G : structure, détermination et biologie florale
- diverses micrographies

I. Dissections

1. La moule

Les moules disséquées sont vivantes, et l'ouverture requiert une certaine technicité. Soyez très vigilants dans l'ouverture afin de ne pas vous blesser. Rappel : il est préférable de sectionner d'abord le muscle adducteur postérieur, puis le muscle adducteur antérieur. Attention de ne pas abîmer les tissus ! On rappelle que la dissection doit être présentée sous l'eau.

Parmi les manipulations classiques qui peuvent vous être demandées :

- dissection et légendes
- montage entre lame et lamelle de branchies dans de l'eau de mer, de façon à observer le mouvement des cils

2. Le criquet

Cette dissection est moins délicate que celle de la moule. Seul l'appareil digestif est au programme, parmi les systèmes internes, mais sa dissection ne comporte pas de difficulté.

Parmi les manipulations classiques qui peuvent vous être demandées :

- montage de trachées entre lame et lamelle
- présentation de la morphologie (adaptation au milieu, position systématique...)
- présentation des pièces buccales

Attention : vous avez peut-être appris à prélever la totalité du tube digestif et à la présenter sur le côté. C'est **à éviter**, car l'usage veut qu'on essaie, autant que faire se peut, de ne pas détacher d'organes de l'organisme si ce n'est pas strictement nécessaire.

II. Bactériologie : coloration de Gram

L'échantillon étudié ici est un jus récupéré dans une choucroute crue (chou lactofermenté). On rappelle le protocole du frottis et de la coloration de Gram :

- Prélever un échantillon contenant les bactéries, et le déposer sur une extrémité d'une lame microscopique.
- Etaler cet échantillon avec une lamelle, de façon à ne laisser qu'une fine pellicule.
- Sécher la lame par des passages brefs au dessus d'un réchaud, ou avec un sèche-cheveux.
- Fixer le frottis par un court rinçage à l'éthanol à 70°.
- Recouvrir de **crystal violet** (1 min), rincer à l'eau distillée.
- Recouvrir de **lugol** (30 s), rincer à l'éthanol à 70° goutte à goutte, en inclinant la lame. Arrêter la décoloration dès que l'alcool de rinçage est transparent. Rincer à l'eau distillée afin d'éliminer toute trace d'alcool.
- Recouvrir de fuschine (20 s), puis rincer à l'eau distillée.
- Séchez au réchaud ou au sèche-cheveu.

➤ **Mettez en œuvre le protocole de coloration, et réalisez l'observation. Déterminer le type de bactéries.**

III. Mitose et méiose

1. Observer des mitoses et méioses dans des racines jeunes

On rappelle le protocole de préparation des jeunes racines d'ail pour observation de figures de mitose.

- Prélevez quelques racines en coupant à quelques mm de l'apex.
- Placez-les 5 min dans une solution d'acide chlorhydrique à 1 mol.L⁻¹.
- Éliminez l'acide en épongeant avec du papier absorbant.
- Recouvrez les racines d'orcéine. La coloration dure 15 min.
- Éliminez l'excès d'orcéine avec du papier absorbant, puis placez une lamelle microscopique, et écrasez délicatement le tissu afin d'en séparer les cellules, puis observer.

➤ **Mettez en œuvre ce protocole de façon à mettre en évidence plusieurs stades différents de mitoses.**

2. Génétique formelle et méiose

Vous disposez de lames préparées qui présentent des résultats de croisements chez la drosophile. Selon la série donc vous disposez, les gènes et mutants sont les suivants :

	gène 1		gène 2	
série 2	VG		EB	
	allèle vg+ (sauvage)	allèle vg (muté)	allèle eb+ (sauvage)	allèle eb (muté)
	homozygote à ailes normales	homozygote à ailes vestigiales	homozygote à corps clair	homozygote à corps noir
série 3	VG		B	
	allèle vg+ (sauvage)	allèle vg (muté)	allèle b+ (sauvage)	allèle b (muté)
	homozygote à ailes normales	homozygote à ailes vestigiales	homozygote à corps clair	homozygote à corps noir

Vous disposez de trois plaques :

- P : individus parents P1 homozygote sauvage et P2 homozygote muté → une plaque pour 4 étudiants
- F1 : génération 1 (croisement P1 x P2) → une plaque pour 4 étudiants
- F2 BC : génération 2 (croisement F1 x P2) → une plaque par étudiant

➤ **Par des observations adéquates, déterminez si les deux gènes de votre série sont liés ou indépendant.**

IV. Observations microscopiques

Vous disposez de lames microscopiques de biologie.

- **Identifiez ces lames.**
- **Réalisez des dessins d'observation.**

V. Déterminations florales

Comme pour les séances précédentes, vous disposez de fleurs. Entraînez-vous à la dissection et à la détermination florale.

VI. Construire une phylogénie par phénétique (UPGMA)

On a construit une matrice de distances pour 7 espèces d'organismes vivants, afin de les classer par phénétique. Cette matrice a été obtenue par un alignement de séquences, et par le décompte du nombre des différences entre chaque séquence deux à deux.

	agame	blé	ét. d. mer	humain	maïs	poisson	poulet
agame		40,9	35,8	22,4	40,5	26,5	18,3
blé			37,3	40,5	10,8	39,5	42,5
ét. d. mer				34,1	37,2	31	34,6
humain					40,2	27,5	21,3
maïs						38,9	40,6
poisson							27,4
poulet							

UPGMA (*unweighted pair group method with arithmetic mean*) est un algorithme phénétique de construction de groupes emboîtés, donc d'arbres phylogénétiques, basé sur le rassemblement par deux des éléments les plus proches. On procède ainsi :

- A partir de la matrice de similitude à n lignes et n colonnes, on identifie la paire de séquences (notées s_1 et s_2) pour laquelle la distance est la plus petite. On définit un groupe, noté G_1 , constitué des séquences s_1 et s_2 .
- On construit une nouvelle matrice de similitude contenant $n - 1$ lignes et $n - 1$ colonnes, comportant les $n - 2$ séquences $s_3, s_4, \dots, s_n$ et le groupe G_1 . On calcule les valeurs de la matrice de la façon suivante :
 - La distance entre deux séquences s_i et s_j parmi $s_3, s_4, \dots, s_n$ est inchangée par rapport à la première matrice
 - La distance entre une séquence s_i parmi $s_3, s_4, \dots, s_n$ et G_1 est donnée par la moyenne de la distance entre s_i et chaque élément du groupe G_1 (soit la moyenne de la distance entre s_i et s_1 et de la distance entre s_i et s_2).
- A l'issue de cette étape, on recommence à l'étape a). La constitution des groupes est terminée lorsque la matrice ne contient plus que 2 lignes et 2 colonnes.

- **Construisez l'arbre phylogénétique correspondant aux 7 espèces considérées.**
- **Critiquez l'arbre obtenu.**