

BIO1540

Introduction à la biologie cellulaire

Manuel de laboratoire 2015

Université d'Ottawa

Département de Biologie



uOttawa

BIO1540 – Introduction à la biologie cellulaire

Manuel de laboratoire – Hiver 2015

Table des matières :

Introduction	1
Laboratoire 1 : Introduction à la microscopie et aux cellules	9
Laboratoire 2 : Perméabilité du globule rouge	21
Laboratoire 3 : Processus cellulaires chez <i>Amoeba proteus</i>	25
Laboratoire 4 : La Mitose	29
Laboratoire 5 : La Méiose	39
Annexes	
Représentation graphique des données quantitatives	51
Les unités du système international (SI)	56
Préparation d'un tableau	57
Dessin biologique	59

Mes coordonnées (remplissez ces infos en cas de perte du manuel) :

Nom: _____ Section de laboratoire : _____

Courriel : _____

Mes Démonstrateurs :

Démonstr. 1: Nom : _____ Heures de bureau: _____

Courriel* : _____

Démonstr. 2: Nom : _____ Heures de bureau: _____

Courriel* : _____

*les adresses des démonstrateurs sont également disponibles sur la page Contact du site web des laboratoires.

Pour les **absences** et les questions concernant les **horaires**, contactez l'équipe Biolab à : biolab1@uottawa.ca

Pour les questions sur les notes, le contenu des laboratoires et rapports, ou toute autre question sur les laboratoires, **contactez le coordonnateur des laboratoires :**

Dr. Fabien Avaron

Centre des Biosciences (BSC) pièce 106

Courriel : fabien.avaron@uottawa.ca

Heures de bureau: _____ (voir site web)

Site web des laboratoires BIO1540 : www.biolab1.uottawa.ca

BIO1540 – Introduction à la biologie cellulaire

Hiver 2015

Les séances de laboratoire ont lieu au troisième étage du Centre Biosciences (BSC). Pour connaître les dates de vos laboratoires, vous devez connaître votre section de laboratoire. Visitez le site web des laboratoires (biolab1.uottawa.ca/BIO1540/) pour plus d'information.

Horaire hebdomadaire:

	Lundi (Section & pièce)	Mardi (Section & pièce)	Mercredi (Section & pièce)	Judi (Section & pièce)	Vendredi (Section & pièce)
Semaine 1	A1 BSC302 A6 BSC310	A2 BSC302	A3 BSC302	A4 BSC302 A7 BSC310	A5 BSC302
Semaine 2	B1 BSC302 B6 BSC310	B2 BSC302	B3 BSC302	B4 BSC302 B7 BSC310	B5 BSC302

Horaire de la session : (pas de laboratoires entre le 15 et le 21 Février)

Mon	19 jan	A1, A6	Lab1
Tue	20 jan	A2	
Wed	21 jan	A3	
Thu	22 jan	A4, A7	
Fri	23 jan	A5, A8	

Mon	26 jan	B1, B6	Lab1
Tue	27 jan	B2	
Wed	28 jan	B3	
Thu	29 jan	B4, B7	
Fri	30 jan	B5, B8	

Mon	02 fév	A1, A6	Lab2
Tue	03 fév	A2	
Wed	04 fév	A3	
Thu	05 fév	A4, A7	
Fri	06 fév	A5, A8	

Mon	09 fév	B1, B6	Lab2
Tue	10 fév	B2	
Wed	11 fév	B3	
Thu	12 fév	B4, B7	
Fri	13 fév	B5, B8	

Mon	23 fév	A1, A6	Lab3
Tue	24 fév	A2	
Wed	25 fév	A3	
Thu	26 fév	A4, A7	
Fri	27 fév	A5, A8	

Mon	02 mar	B1, B6	Lab3
Tue	03 mar	B2	
Wed	04 mar	B3	
Thu	05 mar	B4, B7	
Fri	06 mar	B5, B8	

Mon	9 mar	A1, A6	Lab4
Tue	10 mar	A2	
Wed	11 mar	A3	
Thu	12 mar	A4, A7	
Fri	13 mar	A5, A8	

Mon	16 mar	B1, B6	Lab4
Tue	17 mar	B2	
Wed	18 mar	B3	
Thu	19 mar	B4, B7	
Fri	20 mar	B5, B8	

Mon	23 mar	A1, A6	Lab5
Tue	24 mar	A2	
Wed	25 mar	A3	
Thu	26 mar	A4, A7	
Fri	27 mar	A5, A8	

Mon	30 mar	B1, B6	Lab5
Tue	31 mar	B2	
Wed	01 avr	B3	
Thu	02 avr	B4, B7	
Fri	03 avr	Vendredi Saint	
Fri	10 avr	B5, B8	

Examen final : Samedi 11 avril 13h00-14h30 toutes sections - Voir le site web pour plus d'information

Objectifs Généraux

La partie laboratoire du cours BIO1540 vise à:

- 1) Vous familiariser avec les différentes étapes de la méthode scientifique en utilisant une approche expérimentale
- 2) Développer la capacité à analyser et à communiquer efficacement les résultats expérimentaux
- 3) Compléter et approfondir la matière enseignée dans le cadre du cours théorique
- 4) Apprendre l'utilisation d'un microscope photonique et l'acquisition d'images numériques de cellules procaryotes et eucaryotes.
- 5) Vous familiariser avec le milieu du laboratoire, les techniques expérimentales de biologie, ainsi que les mesures de sécurité en vigueur dans le laboratoire.

Matériel (obligatoire)

Sarrau

Manuel de laboratoire

Lunettes de sécurité

Cadenas ← n'oubliez pas

Crayon / plume et marqueur permanent

Matériel conseillé:

un cahier de note (ordinaire)

un crayon à dessin (HB ou plus dur)

du papier à dessin (papier dactylo blanc)

une gomme à effacer

une règle transparente en plastic

Site Web des laboratoires: www.biolab1.uottawa.ca/BIO1540/

Ce site contient de nombreux documents sur les laboratoires, les horaires de chaque section, des instructions et outils. Visitez-le régulièrement.

Séances de laboratoire

Les laboratoires commencent à 14h30 du lundi au Vendredi

A partir du laboratoire 2, chaque séance débutera par un petit questionnaire noté (« quiz ») sur les buts et objectifs du laboratoire. Il est donc essentiel d'arriver à l'heure. **Les retardataires ne pourront entrer qu'à la fin du quiz et recevront un zéro pour celui-ci.** Les séances se terminent à 17h20, et tout le monde doit avoir quitté le laboratoire à cette heure.

Règlements des laboratoires

Pour des raisons de sécurité (ordre du Service des incendies) et d'espace, **aucun vêtement d'extérieur, sac d'école, sac de gymnastique, etc., n'est autorisé à l'intérieur du laboratoire.** Chaque étudiant(e) dispose d'un casier à l'extérieur du laboratoire. **Vous ne pouvez verrouiller votre casier que pour la durée de la séance. Tout cadenas laissé après les séances de laboratoire se enlevé. Ne laissez pas d'objets de valeur dans un casier non protégé par un cadenas.** Vous pouvez également déposer vos objets de valeurs dans les tiroirs situés sous les bancs dans les laboratoires.

Les 7 règles d'or :

1. **Les sarraus** sont obligatoires donc vous devez toujours porter le vôtre au laboratoire.
2. **Les lunettes de sécurité** sont obligatoires. Vous devez les avoir avec vous à chaque laboratoire et les porter lorsque la situation l'exige.
Vous ne pouvez pas entrer dans les salles de laboratoire sans votre sarrau.
3. L'usage de lecteurs MP3 ou **téléphone cellulaire est interdit.**
4. Il est **interdit** de **manger ou de boire** dans les laboratoires.
5. Il est **interdit** de **chahuter** dans les laboratoires. Nous utilisons du matériel coûteux et parfois même dangereux ainsi que des substances toxiques.
6. Le **calme** est de rigueur. Nous encourageons la discussion mais de décibels limités.
7. **La propreté est essentielle.** Tenez votre matériel et vos notes en ordre. Nettoyez le matériel, votre microscope et votre poste de travail à la fin de chaque séance.

La sécurité au Laboratoire

Que devriez-vous faire si :

1. Vous cassez de la verrerie (les béchers, les pipettes, etc.) ou un thermomètre.
Avertissez votre démonstrateur, qui mettra les morceaux dans une boîte pour la verrerie cassée. Si vous cassez un thermomètre, un technicien (qui a suivi les ateliers sur le nettoyage des déchets dangereux) viendra régler la situation.
2. Vous vous coupez ou vous avez un autre problème médical.
Avertissez votre démonstrateur(trice), qui utilisera le contenu de la trousse de premiers secours dans les tiroirs étiquetés de BSC 302 ou BSC 335 pour vous aider (une trousse de premier secours plus complète est disponible à BSC 331 et BSC 141. Il y a un téléphone dans chaque salle de laboratoire **pour les urgences médicales (poste 5411)**). Dans le corridor devant chaque salle de laboratoire vous trouverez une douche oculaire d'urgence, une douche de sécurité et un bouton rouge qui déclenchera une alarme au Service de Protection.
3. Vos vêtements prennent feu lorsque vous êtes au laboratoire.
Avertissez votre démonstrateur(trice), qui vous amènera à la douche de sécurité dans le corridor pour éteindre le feu. Les extincteurs d'incendie, situés près de chaque porte, pourraient également être employés à ces fins.
4. Vous entendez un signal d'alarme.

Restez calme. Quittez le laboratoire immédiatement en bon ordre et rendez-vous à la sortie d'urgence primaire pour votre pièce. Les sorties d'urgences primaires et secondaires, pour les laboratoires du troisième étage au Centre Biosciences, sont indiquées sur le plan d'évacuation affiché dans le corridor et sont les suivantes :

<u>Salle</u>	<u>Sortie d'urgence primaire</u>	<u>Sortie d'urgence secondaire</u>
BSC 312/330	Cage d'escalier A	Cage d'escalier B
BSC 302/335	Cage d'escalier B	Cage d'escalier A
BSC 310	Cage d'escalier B	Cage d'escalier A

Introduction

Si la sortie primaire n'est pas accessible, continuez tout de suite à la sortie d'urgence secondaire. Après être descendu la cage d'escalier, quittez le pavillon. Il faut s'éloigner à une distance d'au moins 30 mètres du pavillon et attendre d'autres instructions.

5. Un liquide toxique est projeté dans vos yeux.

Avertissez votre démonstrateur(trice), qui vous amènera à une des deux douches oculaires d'urgence situées en arrière de la salle. Un petit panneau vert près de l'évier vous signale cette station. Tirez le tuyau d'eau vers vous et gardez vos yeux sous le jet d'eau pendant au moins quinze minutes. Il y a une autre douche oculaire d'urgence dans le corridor. Par la suite, votre démonstrateur vous amènera au service de la santé.

Évaluation de la composante laboratoire de BIO1540 :

Vous serez évalués sur vos compétences techniques, votre préparation aux laboratoires, des rapports de laboratoires ainsi qu'un examen final écrit.

Voici le détail de l'évaluation : Questionnaire pré-lab : 5%

Lab1-5: 9% chacun

Examen final : 50%

La composante laboratoire de BIO1540 vaut 25% du cours BIO1540 dans la mesure où vous remplissez les conditions de présence.

Présence aux laboratoires et Absences :

Avec Justification : Même avec une justification, vous devez être présent à 3 des 5 laboratoires **ET** remettre les travaux associés aux laboratoires auxquels vous assistez **ET** écrire l'examen final. Le cas contraire, les laboratoires vaudront 12.5% du cours et les 12.5% restant seront transférés à la partie théorique.

En cas d'absence pour raison médicale vous devrez fournir une note médicale à votre démonstrateur/trice ou au coordonnateur des laboratoires.

Tous les billets d'absence doivent être transmis **dans les 7 jours**, ou vous recevrez un zéro pour le laboratoire manqué.

Sans Justification : Vous devez assister à **4 des 5** laboratoires et remettre 80% travaux notés. Tout manquement à ces conditions résultera en l'obtention d'un zéro pour la composante laboratoire.

Si vous manquez un laboratoire pour des raisons non médicales, contactez biolab1@uottawa.ca le plus rapidement possible pour reprogrammer votre laboratoire. Si c'est trop tard, contactez le coordonnateur aussitôt que possible. Vous recevrez un zéro pour tout laboratoire manqué sans justification.

Si vous savez à l'avance que vous serez absent(e) à un des laboratoires, contactez biolab1@uottawa.ca aussitôt pour reprogrammer votre séance.

Format des rapports de laboratoire :

Format : De préférence imprimé (mais peut être manuscrit) sur papier blanc, **8.5 x 11 pouces** (interligne 1.5, 12 pts). Commencer avec une page de titre (voir l'exemple sur la page 8),

agrafer les pages en haut à gauche. **Ne remettez pas votre rapport dans un cartable, ni dans une chemise en plastique (ce matériel sera recyclé sans vous être rendu).** Les graphiques doivent être tracés à la main sur du papier millimétré. Un fichier contenant des instructions précises pour chacun des laboratoires sera posté sur la page du site web dédiée à chaque laboratoire.

Les rapports de laboratoires doivent respecter certains critères de qualité. Par exemple, les rapports contenant des pages arrachées d'un cahier ne seront pas considérés et recevront un zéro. Contactez votre démo. ou le coordonnateur si vous avez des questions à ce sujet.

À quelle date dois-je remettre mon rapport ?

La date de remise des rapports sera indiquée par vos démonstrateurs. Les rapports doivent être remis le **jour dû au plus tard à 17h00**. Le complexe BSC est fermé les fins de semaines toute la journée et la semaine après 18h00.

Est-ce que je peux remettre mon rapport en retard?

Oui, mais pas plus de **2 jours**. De plus, 10% de pénalité par jour sera comptée. A compter du 3^{ème} jour, l'étudiant recevra un ZERO pour son rapport, qui sera néanmoins corrigé.

La fin de semaine compte pour deux jours, donc les rapports dus le vendredi doivent être impérativement remis avant le lundi 17h00 pour ne pas recevoir un zéro.

Où déposer mon rapport?

Au rez-de-chaussée du centre de Bioscience. Entrez au 30 Marie Curie, passez les portes à gauche puis tournez à droite dans le hall de Biosciences en direction de la cours Husky. Les boîtes sont dans le recoin sur votre droite (voir plan sur le site web des laboratoires).

Assurez-vous de bien déposer votre rapport dans la boîte correspondant à votre section. Si vous avez eu l'autorisation d'assister au laboratoire avec une autre section (voir **Absence**, ci-dessous), remettez votre rapport avec la section avec laquelle vous avez suivi votre laboratoire. Si vous remettez votre rapport dans la mauvaise boîte, une pénalité de retard pourrait être comptée (c'est votre responsabilité).

Note : Le bâtiment Biosciences est fermé la fin de semaine donc il vous sera impossible d'accéder à la pièce de dépôt des documents entre Vendredi soir et Lundi matin.

Plagiat : Lisez ceci attentivement avant de remettre votre 1^{er} rapport

Sauf instructions contraires, chaque étudiant doit remettre son propre rapport. De ce fait, chaque rapport doit être le fruit unique de votre travail et non une copie de l'ouvrage de quelqu'un d'autre. Même si vous consultez d'autres étudiants, ou partager vos résultats avec votre partenaire de laboratoire, vous devez rédiger un rapport individuel.

Si deux rapports (ou parties de rapports) identiques sont identifiés pendant la correction, un **zéro** sera attribué comme note pour toutes les personnes concernées et un avertissement émis. Par rapport ou partie d'un rapport, nous comprenons : tout texte, graphique, légende, tableau, dessin, ou autre partie remise dans un rapport (sauf la page de titre). Contactez votre

Introduction

TA ou le coordinateur si vous avez des questions à ce sujet.

Le plagiat d'un ouvrage, du travail d'un(e) autre étudiant(e), etc., constitue une fraude académique et est susceptible de sévères sanctions. Pour plus d'information, visitez :

<http://sass.uottawa.ca/sites/sass.uottawa.ca/files/plagiat.pdf>

Vous y trouverez des explications afin d'éviter le plagiat, et savoir ce qui est acceptable et ce qui est inacceptable concernant la citation des sources.

Évaluation technique continue

La note pour les techniques de laboratoire sera déterminée en utilisant les critères suivants: Avez-vous assisté à chacune des séances de laboratoire? Êtes-vous prêt pour chaque séance de laboratoire? Travaillez-vous bien avec un coéquipier? Maîtrisez-vous les procédures expérimentales, la manipulation de spécimens et l'utilisation d'appareils spéciaux. Suivez-vous toutes les procédures de sécurité au laboratoire? Retournez-vous le matériel emprunté pour vos expériences? Nettoyez-vous votre endroit de travail à la fin de votre séance? Avez-vous remis votre microscope correctement à son casier? La note technique sera incorporée à l'évaluation de chaque laboratoire.

Tests et examen

Au cours de cette session, il y aura de petites interrogations au début des séances visant à évaluer votre degré de préparation pour l'expérience du jour.

L'examen final écrit aura une durée de 1.5 heure et la date déjà fixée (voir page 1 de l'introduction). Il consistera en questions à réponse courte et choix multiple portant sur tous les aspects du laboratoire et la théorie associée. Attention l'examen final arrive juste après le dernier laboratoire. Ne soyez pas surpris à la fin de la session.

Aide supplémentaire

- 1- Lisez soigneusement les documents disponibles sur le site web. La réponse à la plupart des questions y figure, en particulier dans les fichiers d'instruction ou les présentations pré-lab.
- 2- Contactez votre démonstrateur/trice. Assurez-vous d'avoir toutes les informations nécessaires pour le/la contacter : adresse courriel, heures de bureau. Si vous n'êtes pas disponible le jour des heures de bureau de votre démo, arrangez un rendez-vous ou consultez un(e) autre démo (les heures de bureau de tous les démonstrateurs sont disponibles sur le site **web BIO1540-labs**).
- 3- En cas de problème ne pouvant pas être résolu par un démonstrateur, ou pour toute assistance supplémentaire, contactez-moi le coordinateur des laboratoires à fabien.avaron@uottawa.ca (ou passez à mon bureau : BSC106).
- 4- Si vous avez des besoins particuliers pour les laboratoires, adressez-vous au service d'appui au succès scolaire pour obtenir de l'aide et de l'information, et/ou contactez le coordinateur des laboratoires. En général, n'hésitez pas à contacter les membres de l'équipe d'enseignement si vous éprouvez des difficultés liées aux laboratoires BIO1540.

Bonnes manières et courriel:

Incluez toujours le code du cours dans la case **sujet** de votre courriel. Dans le message lui-même, indiquez **votre nom et numéro d'étudiant** (des salutations sont également appréciées). Les messages non signés et impolis seront ignorés. Utilisez votre courriel Uottawa autant que possible.

Accommodements / problèmes liés aux laboratoires :

N'hésitez pas à contacter le coordinateur des laboratoires si vous éprouvez des difficultés avec les laboratoires. Si vous avez besoins d'accommodements particuliers pour des raisons médicales ou autres, visitez le site du service d'appui au succès scolaire (service d'accès) à www.sass.uottawa.ca, et/ou contactez le coordinateur. Nous ferons notre maximum pour vous fournir les meilleures conditions d'apprentissage disponibles.

Bonne session,

Dr. Fabien Avaron,
Coordonnateur des laboratoires de première année.

**Le taux de transpiration chez les plants de tomate
(*Solanum lycopersicum*) - effets de la température
et du mouvement d'air**

**Par Jean-Patrick Dubois
1762847**

BIO1540 Section A1

Démonstrateurs:

**Jean Leclerc et
Christine Gallant**

23 janvier 2015

Département de Biologie

Université d'Ottawa

Lab n° 1 - Introduction à la microscopie & observation des cellules procaryotes et eucaryotes

Introduction

La plupart des cellules et organismes que vous allez étudier se situent à la limite de visibilité des microscopes optiques. Il est donc essentiel que l'éclairage et la mise au point soient les meilleurs possibles. De plus, il est important de manipuler correctement le microscope pour ne pas endommager celui-ci, ni les préparations étudiées. Lisez donc attentivement ces instructions même si vous avez déjà utilisé des microscopes.

Le guide Biolabo

Le site Biolabo (<http://salinella.bio.uottawa.ca/biolabo/>) contient de nombreuses ressources utiles pour les laboratoires de biologie. Dans la section **Microscopie**, vous trouverez des pages vous décrivant les deux types de microscopes que vous allez utiliser durant la session, ainsi que leur utilisation.

Infinity Capture

Bien qu'il soit possible de faire toutes les observations en regardant dans les oculaires, vous pouvez également les faire sur l'écran de votre ordinateur grâce aux cameras dont sont équipés chaque microscope. Pour cela, vous utiliserez le logiciel **Infinity Capture**. Visitez le site des laboratoires pour savoir comment utiliser **Infinity Capture** (dans la section « liens »). Toutes les observations de ce laboratoire peuvent être faites à l'écran ou à travers les oculaires. Chaque méthode a ses avantages et inconvénients. C'est à vous de décider.

Oculaires	Moniteur
Résolution plus grande	Utilisateurs peuvent partager les observations
Champ de vision plus large	Plus confortable à long terme Prise d'image pendant les observations

Le microscope composé

Dans Biolabo, cliquez sur **Microscope CX41**, puis sur **éléments et fonctionnement**. Ceci vous amènera à un diagramme annoté de votre microscope. Familiarisez-vous avec les différentes composantes représentées dans cette figure. Cliquez ensuite sur **Réglage et alignement** afin de savoir comment utiliser et transporter le microscope.

Après avoir lu toutes les instructions, sortez les deux microscopes du placard situé sous l'évier le plus proche de votre poste de travail. Positionnez-les entre l'écran d'ordinateur et la fin du comptoir. Assurez-vous de toujours tenir votre microscope à la verticale lorsque vous le transportez sinon, les lentilles des oculaires pourraient tomber. Le microscope de doit donc jamais être incliné ni balancé. Attention, le microscope composé est pesant, faites attention lorsque vous le soulevez.

*Même si vous n'en avez pas besoin tout de suite, sortez le **microscope à dissection** maintenant et installez-le à côté du microscope composé.*

Connectez les cameras des microscopes aux ordinateurs via les câbles USB **avant** de lancer le logiciel de capture d'image. Assurez-vous de connecter les câbles correspondant à votre ordinateur et non celui de l'équipe assise en face de vous.

Constitution d'un microscope composé

Un microscope comprend des lentilles, une source lumineuse et des dispositifs de réglage de la distance entre les lentilles et l'objet observé. Avant d'aller plus loin, vous devez connaître les composantes importantes du microscope et comprendre leur rôle. Repérez les éléments suivants dans le guide BIOLABO et sur votre microscope :

La **tourelle porte-objectifs** porte les divers objectifs et permet de changer de grossissement.

La **platine** supporte et dirige le spécimen observé. Un système de molettes permet de bouger la platine.

La **vis macrométrique** sert à modifier rapidement la distance entre le spécimen et l'objectif, ce qui permet de faire une mise au point approximative.

La **vis micrométrique** sert à faire la mise au point finale en modifiant légèrement la distance entre le spécimen et l'objectif. Toujours utiliser la vis micrométrique sous l'objectif 40x.

L'**oculaire** est la lentille grossissante par laquelle on regarde le spécimen. Elle est montée au-dessus de la tourelle porte-objet, et son facteur de grossissement est habituellement de 10x. Tous nos microscopes sont

parfocaux, de sorte que la mise au point n'est pas complètement perdue lorsque l'on change d'objectif.

L'**objectif** est la lentille grossissante située du côté du spécimen. La figure 1 donne le détail des inscriptions gravées sur le côté des objectifs.

Le **condenseur** est un dispositif optique servant à concentrer la lumière venant de la source lumineuse. Il n'a aucun pouvoir grossissant.

La **molette de réglage du condenseur** permet de focaliser sur le spécimen la lumière concentrée.

Le **diaphragme d'ouverture** sert à éliminer les reflets de lumière indésirables en agissant sur l'angle du cône de lumière en provenance du condenseur. Ce diaphragme a donc un effet sur le pouvoir séparateur puisqu'il fait correspondre l'ouverture numérique du condenseur avec celle de l'objectif.

Production de l'image dans un microscope composé

La partie la plus importante d'un microscope est l'objectif. Toutes les autres parties de l'instrument sont conçues pour aider l'objectif à produire la meilleure image possible. Celle-ci n'est pas l'image la plus grossie, mais la plus nette. Un fort grossissement n'apprend rien de plus sur le spécimen si l'image n'est pas nette.

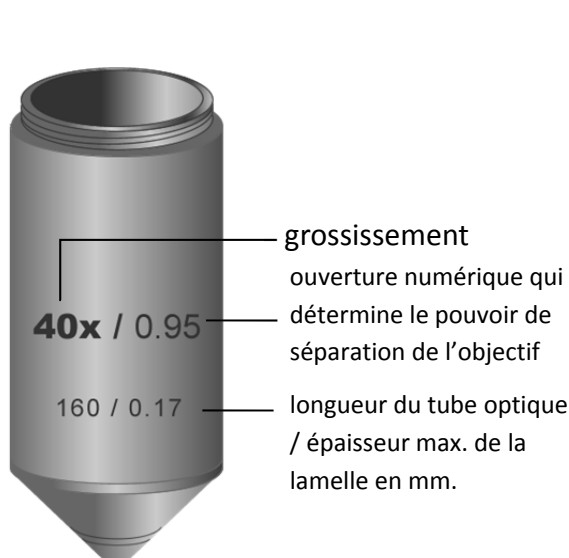


Figure 1 : Informations gravées sur l'objectif

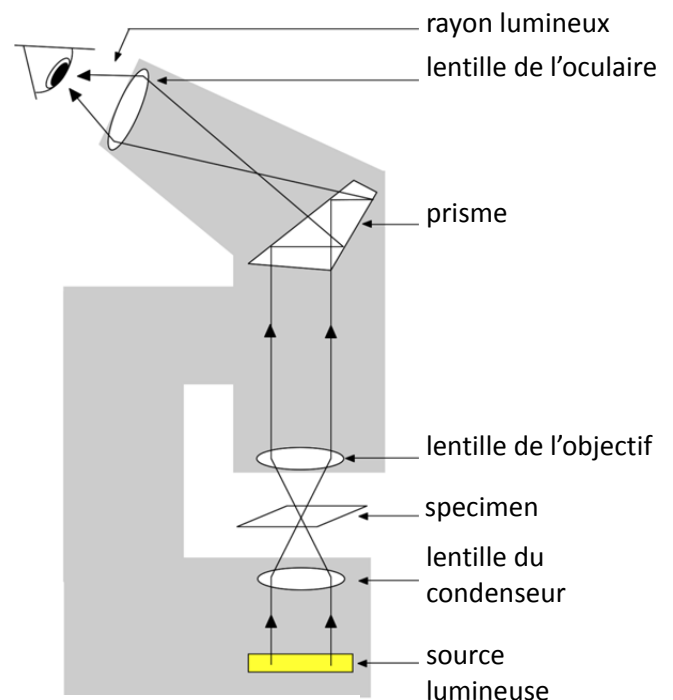


Figure 2: Production de l'image dans un microscope composé.

Le pouvoir séparateur d'un dispositif optique est sa capacité à distinguer deux objets proches l'un de l'autre. L'œil humain considère comme en contact deux objets situés à moins de 100 μm l'un de l'autre.

Utilisation du microscope

Manipulez le microscope AVEC PRÉCAUTION! C'est un instrument délicat et coûteux dont il faut prendre soin. Transportez-le avec les deux mains, l'une prenant le bras et l'autre soutenant le pied du microscope. Si l'oculaire ou l'objectif est sale, nettoyez-le UNIQUEMENT à l'aide des Kimwipes ou du papier à lentille et du liquide prévu à cet effet, sinon vous risquez de rayer la lentille. Essuyez immédiatement toute trace de liquide nettoyant qui pourrait dissoudre la colle maintenant la lentille en place. N'OUBLIEZ PAS que votre démonstrateur est là pour vous aider. Donc, APPELEZ-LE quand vous avez besoin d'aide !

1. Assurez-vous que le cordon d'alimentation soit branché à l'arrière du microscope et dans la prise de courant.
2. En utilisant la lame préparée portant la lettre « e », suivez les étapes 2 à 13 de la section **Réglage et alignement** du microscope CX41 du guide BIOLABo. Souvenez-vous, les observations ci-dessous peuvent être effectuées à l'écran ou aux oculaires.

Orientation et distance de travail

1. En commençant par la lentille de balayage 4x, placez la lame portant la lettre « e » sur la platine.
2. Dessinez ce que vous voyez au microscope : _____
3. Si vous aviez une lamelle portant la lettre « t », que verriez-vous sur la platine et au microscope ? _____
4. Déplacez maintenant lentement la lamelle vers la droite, puis vers la gauche en utilisant la molette appropriée. Notez vos observations : _____
5. De la même manière, déplacez lentement la lamelle en l'éloignant, puis en la rapprochant de vous. Notez vos observations : _____

6. Mettez la lamelle au point à 10X et observez la distance entre l'objectif et la lamelle. Cet espace est La distance de travail. Qu'arrive-t-il à la distance de travail lorsque vous passez à l'objectif 40X ?

Profondeur de champ

Toute lentille possède une profondeur de champ, qui correspond au nombre de plans focaux (=l'épaisseur) dans lesquels les objets sont au point. Faites l'expérience suivante : Étendez la main le plus loin possible devant vous et tenez le pouce vers le haut. Regardez fixement le pouce et remarquez que les objets situés dans l'arrière-plan sont flous. De la même manière, si vous mettez au point un microscope sur une surface, les surfaces situées plus bas ou plus haut ne sont pas au point. Plus vous avez de plans focaux au point simultanément, plus la profondeur de champ est élevée (et inversement). La profondeur de champs varie selon de multiples facteurs, comme la distance avec l'objet observé et la courbure de la lentille (qui à détermine également le facteur de grossissement).

1. Placez sur la platine une lamelle préparée de spécimen de *Cimex lectularius*. Avec l'objectif 4X, ajustez la mise au point de pour qu'une des pattes du spécimen soit nette..
2. À l'aide de la vis **micrométrique**, changez légèrement la mise au point et observez l'effet sur la netteté du spécimen.
3. Répétez ces opérations avec les différents objectifs. Que concluez-vous sur la profondeur de champ à différents grossissements ? Est-ce qu'elle augmente ou diminue avec le grossissement ? (Autrement dit, pouvez-vous voir plus de plan focaux à 4X ou à 40X?)

Grossissement

Le grossissement est inscrit sur chaque objectif ou oculaire. Le grossissement total d'une combinaison objectif-oculaire est le produit des grossissements de ces deux lentilles.

Grossissement de l'objectif	4x	10x	40x
Grossissement de l'oculaire	10x	10x	10x
Grossissement total	40x	100x	400x
Intensité lumineuse	Forte	Moyenne	Basse
Distance de travail	22mm	10.5mm	0.56mm

Tableau 1: Comparaison du grossissement, distance de travail et intensité lumineuse de trois objectifs du microscope composé.

Vous pouvez également calculer le grossissement de votre image en utilisant la formule suivante :

$$\text{Facteur de grossissement} = \frac{\text{taille mesurée de l'objet}}{\text{taille réelle de l'objet}} = \text{_____} \times$$

Taille du spécimen et facteur de grossissement de l'image

Avant de commencer cette partie, lisez soigneusement la section du site web des laboratoires décrivant l'utilisation du logiciel utilisé pour prendre des photos numériques (**Infinity Capture**).

Le but de cette section est de vous enseigner différentes techniques vous permettant de déterminer la taille de divers objets observés sous un microscope (ou à l'écran). Le principe général est très simple :

La proportion entre 2 objets ne varie pas entre l'écran et le monde réel :

$$\frac{\text{taille réelle de l'objet A}}{\text{taille réelle de l'objet B}} = \frac{\text{taille à l'écran de l'objet A}}{\text{taille à l'écran de l'objet B}} \Leftrightarrow \frac{A_1}{B_1} = \frac{A_2}{B_2}$$

Voici quelques exemples illustrant cette formule :

Procurez-vous une lame préparée. Choisissez l'objectif approprié sur le microscope, ajustez la luminosité et la mise au point afin d'obtenir une belle image numérique bien calibrée puis prenez une photo.

Détermination de la taille d'un objet en utilisant la taille du champ de vision (CDV):

Il existe de nombreuses façons de déterminer la taille d'un objet à l'écran. L'une d'entre est d'utiliser la taille (connue) du champ de vision de la caméra.

- 1- Sur l'écran de l'ordinateur, à l'aide d'une règle (mais sans écrire sur le moniteur), mesurez l'objet dont vous voulez connaître la taille réelle (=A₂)
- 2- Ensuite, mesurez la largeur totale de votre photo à l'écran (=B₂)
- 3- Reportez-vous au tableau 2 de la page 21 qui indique la taille réelle du CDV sous l'objectif que vous utilisez (=B₁)
- 4- Utilisez la formule suivante :

$$\text{Taille réelle de l'objet (A}_1\text{)} = \frac{\text{taille réelle du CDV (B}_1\text{)}}{\text{taille du CDV à l'écran (B}_2\text{)}} \times \text{taille de l'objet à l'écran (A}_2\text{)}$$

Exemple : Sur une photo prise à l'objectif 4x, un insecte mesure 10cm (à l'écran). La photo complète fait 20cm.

Quelle est la taille réelle de l'insecte ? _____

Ne rangez pas le microscope composé maintenant vous en aurez besoin à nouveau plus tard dans ce laboratoire.

Rappelez-vous:

1. Travaillez toujours avec un microscope propre. Nettoyez-le avec le papier à lentille fourni. N'oubliez pas non plus de nettoyer la lamelle !
2. Commencez toujours par localiser le spécimen avec un faible grossissement, puis augmentez petit à petit le grossissement.
3. N'utilisez jamais la vis macrométrique avec l'objectif 40x. Utilisez seulement la commande du mouvement lent.
4. N'utilisez pas l'objectif 100x dans les laboratoires de première année. Il s'agit d'un objectif à immersion et vous n'avez pas été formé pour son utilisation.
5. Réglez toujours l'éclairage lorsque vous changez d'objectif. S'il y a trop de lumière, l'image est floue, la mise au point est impossible (et vous risquez d'avoir mal à la tête).

Le microscope stéréoscopique (microscope à dissection)

Le microscope stéréoscopique, aussi appelé microscope à dissection, sert à observer des objets trop gros ou trop épais pour être observés à l'aide d'un microscope composé.

Un stéréomicroscope est toujours muni de deux oculaires produisant une image stéréoscopique ou en trois dimensions. Contrairement à un microscope composé, cette image n'est pas inversée.

Nos stéréomicroscopes donnent des grossissements allant de 6,7X à 45X. En actionnant la molette de commande du grossissement, située de part et d'autre de la partie soutenant les oculaires, l'observateur peut obtenir un changement continu du grossissement.

Nos stéréomicroscopes fonctionnent avec une source de lumière réfléchie ou transmise. La lumière réfléchie provient du dessus du spécimen opaque et est réfléchie vers l'observateur. La lumière transmise arrive du dessous et traverse un spécimen translucide avant d'atteindre l'œil de l'observateur. Les deux types d'illumination sont contrôlés par les molettes et interrupteurs situées à l'arrière de la base du microscope.

Utilisation du microscope stéréoscopique

1. Sur la page d'accueil de Biolabo, cliquez à la gauche sur **Microscope à dissection** puis sur **éléments et fonctionnement**.
2. Cliquez sur l'étape 1 et lisez-la attentivement.
3. Cliquez et lisez les étapes 2 à 7.
4. Mettez une pièce de monnaie sur la platine.
5. À l'aide de la molette de mise au point située d'un côté ou l'autre du bras, abaissez ou relevez l'objectif jusqu'à ce que la pièce soit au point. Examinez-la à la lumière réfléchie, puis transmise. Quel type de lumière convient mieux à un spécimen opaque ?

Modifiez le grossissement à l'aide de la commande de zoom.

6. Examinez d'autres spécimens, comme des larves d'artémies placées sur un verre de montre, à la lumière réfléchie, puis transmise. Notez la taille approximative d'une larve : _____

Cellules procaryotes et eucaryotes

Les organismes vivants sont composés d'unités structurales et fonctionnelles appelées cellules. Les cellules sont généralement rangées dans deux catégories: les cellules **procaryotes** et les cellules **eucaryotes**.

Les **cellules procaryotes** appartiennent à deux grands groupes : les archées (ou Archeae) et les eubactéries. Ces cellules sont en général plus petites (1-5 μ m) que les cellules eucaryotes mais elles représentent les organismes les plus abondant de la planète et environ de la moitié de la biomasse (Biology, Brooker *et al.* 2010, McGraw-Hill&Ryerson). Les procaryotes se caractérisent par l'absence de membrane nucléaire et d'organites délimités par une membrane (comme les mitochondries et les chloroplastes). Leur matériel génétique se compose d'une large molécule circulaire d'ADN, plus de petits fragments circulaires (plasmides) pouvant représenter 5% du génome. Les cellules de ce type que vous allez étudier aujourd'hui sont des cyanobactéries, des bactéries photosynthétiques.

Les **cellules eucaryotes** sont en général de plus grande taille. Elles possèdent un noyau entouré d'une membrane, leurs organites sont plus nombreuses et plus complexes (mitochondries, chloroplastes) et leur génome de plus grande taille. Les organismes eucaryotes peuvent être uni- ou pluricellulaires.

Aujourd'hui, vous allez pouvoir observer les ressemblances et les différences entre les cellules procaryotes et eucaryotes, et vous rendre compte de la diversité à l'intérieur de chacune de ces deux catégories.

Vous devez aussi vous familiariser avec tout un ensemble de structures cellulaires et d'organites que vous êtes susceptibles de voir. Avant la séance de laboratoire, notez la définition et la fonction des éléments suivants : membrane cytoplasmique (ou cellulaire), paroi cellulaire, protoplaste, cytoplasme, vacuoles, noyau, nucléole et chloroplastes.

Cellules eucaryotes : Elodée (plante)

1- Prenez une jeune feuille verte d'élodée (*Elodea*) dans la boîte contenant les échantillons. Montez-la dans une goutte d'eau sur une lamelle propre, en mettant la face convexe de la feuille vers le haut. Mettez une lamelle couvre-objet.

2- Observez cette préparation à 4X, puis à 10X. Négligez les structures ovales brunâtres éventuellement présentes. Ce sont probablement des Diatomées épiphytes. Observez plutôt les cellules voisines de la nervure centrale à la base de la feuille et les cellules situées au bord de la feuille.

- Pouvez-vous voir les différentes couches cellulaires constituant l'épaisseur de la feuille ? _____
- Inscrivez la longueur _____ et la largeur _____ d'une cellule de la feuille en micromètres.

3- Mettez au point à 40X et repérez la paroi cellulaire, la vacuole, le noyau, le cytoplasme et les nombreux chloroplastes verts.

- Quel processus biologique important se déroule dans les chloroplastes?

- Quel pigment est à l'origine de leur couleur verte?

- Les chloroplastes ont-ils tous la même forme ? Décrivez leur forme :

- Les chloroplastes bougent-ils ? Quel mouvement suivent-ils ?

- Le phénomène que vous venez d'observer s'appelle **courants cytoplasmiques** ou **cyclose**. D'après-vous quel pourrait être le rôle d'un tel phénomène ?

4- Vous vous êtes probablement rendu compte que la **membrane cytoplasmique** des cellules végétales est trop mince pour être visible au microscope optique. Pour voir les limites réelles du cytoplasme (même si l'on ne voit pas la membrane elle-même, on peut voir où elle est située), il faut traiter les cellules de manière à ce que la membrane cytoplasmique se décolle de la paroi cellulaire rigide. Pour cela, on place la cellule dans une solution fortement saline, qui provoque une diminution du volume de la cellule en faisant sortir l'eau par osmose. Comme la paroi cellulaire reste dans son état original, il se forme un espace entre la paroi cellulaire et les limites du **protoplaste** (c'est-à-dire la cellule moins la paroi cellulaire), qui devient alors visible.

- Enlevez la lame de la platine du microscope. Ôtez délicatement la lamelle de votre montage et ajoutez une goutte de solution de NaCl à 5% sur la feuille d'Élodée puis remplacez la lamelle.
- Mettez au point à 40X. (N'oubliez pas de faire la mise au point d'abord à 4X, puis à 10X, et enfin à 40X.)
- Les cellules sont-elles plasmolysées ? (sinon, attendez un peu.) À quoi ressemblent-elles maintenant ?
- La paroi cellulaire a-t-elle été affectée ? _____
- Que devient la grande vacuole centrale au cours de la plasmolyse ?
- Prenez une image numérique d'une cellule d'Élodée plasmolysée. Quelles sont les différences avec votre image précédente ?

Cellules procaryotes: *Oscillatoria* (eubactéries: cyanobactéries)

1. Regardez attentivement un échantillon dans son pot. Quelle couleur le décrit le mieux ? _____
2. Préparez une lame aqueuse de *Oscillatoria* frais en procédant de la manière suivante :
 - À l'aide de pinces ou d'une pipette en plastique, déposez une très petite quantité de matière verte sur une lamelle propre.
 - Ajoutez une petite goutte d'eau du pot.
 - Placez avec soin une lamelle couvre-objet. Ce n'est pas grave s'il y a quelques bulles d'air. Vous réussirez de mieux en mieux avec de la pratique. Cependant, s'il y a trop de bulles d'air, votre préparation risque de sécher très rapidement, ce qui pourrait compromettre vos observations.

3. Mettez au point, en commençant avec l'objectif **4X** – passez au **10X** si vous ne voyez rien.
 - Pouvez-vous voir de nombreux filaments verts ? _____
 - Les filaments se déplacent-ils ? _____
4. Passez à l'objectif **10X** puis **40X** et mettez au point, uniquement à l'aide de la commande du mouvement lent.
 - Distinguez-vous les cellules formant chaque filament ? _____
 - Estimez la largeur d'un filament en micromètre : _____
 - Quelle est la largeur de ce même filament en **millimètre** : _____

ATTENTION : Vous travaillez avec des cellules vivantes. Travaillez rapidement et veillez à ce que vos spécimens soient toujours humides. Manipulez toujours les tissus vivants avec soin. Une préparation biologique morte, sèche ou endommagée est INUTILE!

Rangement du microscope après usage

1. Suivez l'étape 14 du guide Biolabo pour le microscope à dissection et remettez en place l'objectif de faible puissance (4X).
2. Enlevez de la platine la lamelle préparée et remettez-la à sa place.
3. Nettoyez la platine des microscopes et votre poste de travail avec un essuie-tout.
4. Remettez délicatement le microscope dans le placard en enroulant le cordon d'alimentation sans serrer autour des oculaires. Il est important de laisser votre place de travail quand vous quittez. Vous perdrez des points si vous ne suivez pas ces instructions.

Assurez-vous également de ne laisser aucune lame sur la platine porte objet.

Évaluation

Un test portant sur les composantes des microscopes, les spécimens et les mesures aura lieu au début du laboratoire 2. Arrivez à l'heure (14h30 du lundi au jeudi et 13 :00 le vendredi).

Référence :

1- Le système métrique (voir aussi appendice II du manuel)

1 cm (centimètre) = 10^{-2} m (mètre)

1 mm (millimètre) = 10^{-3} m (1/1000 mètre)

1 μ m (micromètre) = 10^{-6} m (1/1,000,000 mètre)

1 nm (nanomètre) = 10^{-9} m

1 mm = 10^{-3} m = 10^{-1} cm = 10^3 μ m

2- Taille des champs de vision à la caméra et à l'oculaire

Tableau 2: Champs de vision – Microscope composé Olympus CX41

Objectif	Champ de vision de la caméra (mm)
4X	1.80
10X	0.72
40X	0.180
100X	0.072

Tableau 3: Champs de vision – Microscope à dissection Olympus SZ61TR

Réglage Zoom	Champ de vision de la caméra (mm)
0.67X	24.5
0.8X	-
1X	15.0
2X	6.60
4X	-
4.5X	3.4

Lab n° 2 - Perméabilité du globule rouge

Introduction

Lors du premier laboratoire, nous avons observé les effets du changement de tonicité sur des cellules d'Élodée. Nous allons étudier aujourd'hui le passage spontané de molécules (eau et solutés) à travers la membrane de cellules animales : les globules rouges (ou érythrocytes).

Les globules rouges présentent des avantages pour l'étude de la perméabilité de la membrane cellulaire:

1. On peut obtenir facilement de grandes quantités de cellules homogènes.
2. On peut les conserver pendant longtemps dans un état isolé (trois ou quatre jours dans le NaCl isotonique, une semaine dans du sérum à 4°C);
3. Les érythrocytes contiennent de grandes quantités du pigment hémoglobine. Quand le volume d'une cellule dépasse un volume critique, la cellule se déchire et elle libère ses pigments dans le milieu qui la contient. Ce phénomène est appelé "hémolyse".

Osmose

L'osmose est le mouvement spontané des molécules d'eau à travers une membrane semi-perméable. L'eau traverse librement la membrane plasmique, principalement grâce à des protéines spécialisées comme les aquaporines, qui forment des canaux à travers la membrane. Les mouvements d'eau sont principalement dus à l'ajustement de la tonicité : l'eau va migrer du milieu où la concentration totale en soluté est inférieure vers le milieu où la concentration en soluté est supérieure.

La tonicité peut être définie comme les mouvements d'eau provoqués par une solution. Par exemple, des cellules placées dans un milieu hypo-osmotique vont voir leur volume augmenter du fait de l'entrée d'eau dans la cellule. Si la solution est très hypotonique, l'entrée d'eau sera telle que la membrane plasmique se déchirera. Ceci provoquera la mort de la cellule et le relargage de ses constituants dans le milieu extracellulaire (comme l'hémolyse des globules rouges).

Une solution hypertonique va au contraire causer la sortie de l'eau depuis la cellule et provoquer une diminution de son volume. La cellule ressemblera à un sac dont la membrane est toute fripée.

Diffusion

Les molécules en solution dans le milieu extracellulaire peuvent également traverser la membrane de façon spontanée contre leur propre gradient de concentration. Ce phénomène est appelé diffusion.

Le laboratoire d'aujourd'hui nous permettra d'étudier le passage par diffusion de molécules à travers la membrane des globules rouges, ainsi que les mouvements d'eau provoqués par cette diffusion. La diffusion est plus ou moins facile et rapide selon les groupements chimiques portés par les molécules. Certaines molécules traversent relativement rapidement la membrane, et pour d'autre la membrane est pratiquement infranchissable. Visitez la page du lab2 sur le site web des laboratoires pour plus d'informations sur la diffusion.

Hémolyse

L'hémolyse, ou destruction des globules rouges est obtenue lorsqu'un grand volume d'eau entre dans la cellule et provoque la rupture de la membrane plasmique.

Ceci peut être provoqué en plaçant les cellules dans un milieu hypotonique (voir osmose), ou dans une solution isosmotique d'un soluté pouvant diffuser à travers la membrane (p.ex. l'éthylène de glycol). Une solution est appelée isosmotique si la même concentration de molécules (pénétrantes et non-pénétrantes) est présente à l'intérieur et l'extérieur de la cellule. Lorsque l'on place les globules rouges dans une telle solution, la pression osmotique est initialement la même de part et d'autre de la membrane plasmique, mais cela ne dure pas. Au fur et à mesure que les solutés diffusent à travers la membrane et entrent dans la cellule, la pression osmotique à l'intérieur de la cellule augmente et l'environnement extérieur devient hypotonique. Pour tenter de rétablir l'équilibre l'eau va entrer dans la cellule. L'eau va s'accumuler pour finalement provoquer l'hémolyse.

Le temps qu'il faut à une substance pénétrante pour provoquer l'hémolyse est un indicateur de la perméabilité de la membrane des érythrocytes à cette substance.

Lorsqu'environ 75 % des cellules sont hémolysées, la suspension de globules rouges apparaît soudainement transparente. Cette propriété vous servira de critère pour mesurer la perméabilité d'un globule rouge exposé à différentes substances pénétrantes.

*la pression osmotique correspond à la concentration de tous les solutés (pénétrants et non-pénétrants)

Protocole expérimental

A- Expériences sur la perméabilité

1. Aperçu :

Vous allez mesurer le temps que mettent 5 solutions à provoquer l'hémolyse dans du sang de mouton. Chaque mesure sera effectuée 3 fois (en triplicat) afin de pouvoir calculer la moyenne et l'erreur type des temps d'hémolyse.

2. Matériel à disposition :

-Une fiche cartonnée au centre de laquelle figure une épaisse ligne horizontale a été fixée à la prise électrique située au centre de votre banc.

- 5 tubes en plastique gradués (utilisés pour mesurer les volumes)

-15 carrés de parafilm qui serviront de bouchon pour les tubes.

-5 x 3 tubes à essai en verre

-Une des deux séries de solutions dans des flacons de 20ml :

Série A :	Eau distillée	Série B :	Eau distillée
	Glycérol 0.3 M		Thiourée 0.3M
	Glycol d'éthylène 0.3 M		Triton X-100 2% (v/v)
	Saccharose (Sucrose) 0.3 M		D-Glucose (Dextrose) 0.3 M
	Urée 0.3M		Ethanol 0.3 M

3. Procédure :

1. Préparation des tubes : Prenez le flacon contenant la 1ère solution et versez 5ml dans l'un des tubes gradués. Ensuite, transférez ces 5ml dans le 1^{er} tube à essai. Recommencez 2 fois (toujours avec la solution 1) en remplissez 2 autres tubes. Etiquetez les tubes 1-1, 1-2, 1-3.

Procédez de même avec les 4 autres solutions à tester (étiquetez les tubes 2-1, 2-2 etc...)

Une fois les 15 tubes remplis, préparez-vous pour les mesures, en commençant par la solution 1 :

2. Prenez un des tubes à essai rempli, penchez-le légèrement sur le côté, puis à l'aide d'une pipette en plastique*, déposez une goutte de sang sur la paroi du tube.

*Ne pressez que très légèrement la pipette afin de ne pas aspirer tout le sang, sinon vous allez en manquer pour la suite des expériences.

3. Couvrez rapidement le tube avec un carré de parafilm et inversez (puis redressez) le tube à essai une fois. Commencez à chronométrer à ce moment-là (t=0). Maintenez le tube à essai devant la fiche cartonnée. Au début, la solution sera trouble et vous ne verrez pas clairement la ligne tracée au centre de la fiche. Après certain temps la suspension deviendra brusquement transparente et la ligne tracée au marqueur apparaîtra clairement. À cet instant cessez votre chronométrage: le point d'hémolyse a été atteint. Inscrivez le temps nécessaire pour atteindre l'hémolyse.

Conseil : tenez votre tube au moins à 10cm de la fiche cartonnée afin de bien voir le moment où l'hémolyse se produit.

4. Répétez les étapes 2 et 3 avec les deux autres tubes contenant la solution en cours.

5. Répétez les étapes et 3 pour les 4 autres solutions.

Vous devez vous assurer que les conditions expérimentales demeurent rigoureusement identiques lorsque vous répétez les expériences. Il faut que les résultats de chaque expérience soient parfaitement reproductibles.

Inscrivez tous les résultats dans vos notes.

Calculez la moyenne et l'erreur type de la moyenne du temps d'hémolyse pour chacune des 5 solutions testées.

Calcul de la moyenne et l'erreur-type :

Y= mesure ; n=taille de l'échantillon

$$\text{Moyenne : } \bar{Y} = \frac{\sum Y}{n} \qquad \text{Écart-type: } s = \sqrt{\frac{\sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n}}{n-1}}$$

$$\text{Erreur-type : } SE = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Vos démonstrateurs vous montreront comment calculer la moyenne et l'erreur-type en utilisant Microsoft Excel pendant le laboratoire

B- Observation microscopique de globules rouges soumis à des solutions salines.

Placez une petite quantité de sang* sur lamelle et ajoutez-y une goutte de NaCl 0.145 M. Recouvrez la préparation avec une lamelle. Observez la lame au microscope. Décrivez l'aspect du globule rouge que vous observez. Dessinez-le et mesurez sa taille en prenant une photo numérique. Répétez cette procédure avec les deux concentrations de NaCl suivantes: 0.350 M et 0.065 M. N'oubliez pas de placer les lames et lamelles dans le contenant destiné au verre brisé. Lavez vos mains après cette expérience.

*Une très petite quantité de sang est suffisante pour observer les cellules (goutte de 1-2mm de diamètre). Si vous mettez trop de sang sur la lame vous ne verrez pas les cellules individuelles et il sera difficile de faire une mise au point précise.

Lisez les instructions pour le rapport du laboratoire 2 sur le site web des laboratoires

Lab n° 3 - Processus cellulaires chez *Amoeba proteus*

Objectifs du laboratoire

- Observer le mouvement amiboïde au microscope
- Reconnaître les organites et les structures cellulaires d'*Amoeba proteus*
- Suivre sous le microscope et prendre des photos de la vacuole contractile (VC) au cours de son cycle
- Représenter le volume de la vacuole contractile au cours du temps sur un graphique
- Observer l'endocytose et la phagocytose chez l'amibe

Introduction

Amoeba proteus est un protiste (eucaryote unicellulaire) appartenant au groupe Amoebozoa. Cet organisme est courant dans le fond des étangs et des lacs d'eau douce. L'amibe se déplace en formant des pseudopodes (« faux pieds »), et se nourrit en absorbant de la nourriture (incluant des proies) dans des vacuoles digestives qui sont formées par invagination de la membrane plasmique. Un individu *Amoeba proteus* peut atteindre 600 micromètres (μm) de long. *Amoeba proteus* est facile à cultiver en laboratoire et constitue un bon modèle pour de nombreux processus cellulaires.

Mouvement amiboïde

C'est chez les Amoebozoaires que le mouvement amiboïde est le plus caractéristique et le plus spectaculaire. C'est sur ces organismes qu'ont été menées les études originales et fondamentales sur ce sujet. Vous pouvez lire d'avantage sur les mécanismes impliqués dans le mouvement amiboïde p.128 du livre de cours (Campbell Biologie 4^{ème} édition).

Comme mentionné précédemment, l'amibe se déplace en formant des pseudopodes, qui sont des excroissances de la membrane s'étendant dans le sens du mouvement. Une fois un pseudopode formé, la cellule en entier semble migrer dans la direction de celui-ci. La formation des pseudopodes est relativement bien expliquée, et semble reposer sur un processus commun à toutes les cellules qui se déplacent de cette façon (on parle de *motilité* des cellules) : la formation de longs polymères d'actine. L'actine est une protéine présente notamment dans le cytosquelette des cellules eucaryotes (microfilaments). Pendant la formation d'un pseudopode, des molécules d'actine libre (actine G) se lient les unes aux autres pour former des filaments (on parle alors d'actine-F), qui vont pousser la membrane plasmique du côté où les filaments s'allongent (fig. 1). Une fois le pseudopode formé, des molécules d'adhésions vont le fixer au substrat, alors que l'« arrière »* de la cellule se détache du substrat. Une série de contractions, dont le mécanisme n'est pas complètement élucidé, vont ensuite avoir lieu à l'arrière de la cellule dans la région de l'uroïde (on peut voir les replis de la membrane à ce niveau), et

pousser le contenu de la cellule vers l'avant. La cellule se déplace ainsi assez rapidement, en étendant constamment des pseudopodes.

*la cellule d'*Amoeba proteus* ne possède pas d'avant ou d'arrière à proprement parler, on emploie ici ces termes relativement à la direction du mouvement de la cellule.

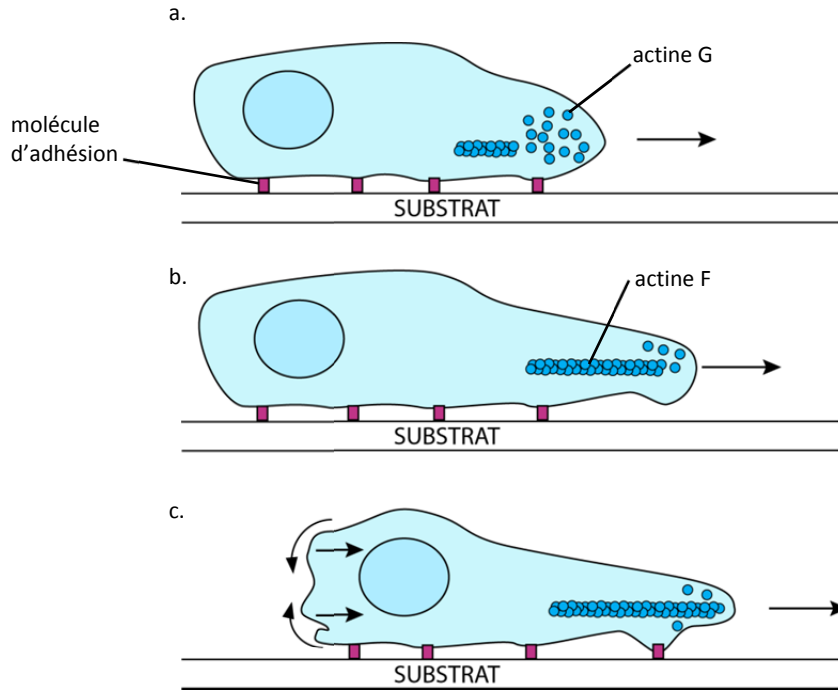


Fig 1 : Représentation schématique du mouvement amiboïde (modifié d'après référence 1).

Montage aqueux :

Afin de pouvoir observer les amibes de façon prolongée et sans risquer de les écraser, utiliserons des lames munies d'une petite cavité pour y placer les amibes. Ces dernières sont très sensibles à la chaleur et aux rayons lumineux de courte longueur d'onde. Il vous faudra donc travailler en gardant l'intensité lumineuse de votre microscope relativement faible. Assurez-vous que la lamelle couvre toute la cavité pour empêcher que l'eau s'évapore, ce qui tuerait votre amibe.

1. Observez tout d'abord une amibe sous le microscope à faible ou moyen grossissement. Notez les changements de forme et de direction. Estimez la vitesse à laquelle les pseudopodes se forment et disparaissent.
2. A un grossissement plus élevé, essayez de distinguer les principales régions de la cellule : l'ectoplasme hyalin, l'endoplasme granuleux (phase fluide ou gélatineuse), l'uroïde et le capuchon hyalin (cytoplasme).
3. Repérez également les organites suivants : le noyau, la vacuole contractile, les vacuoles digestives, les cristaux de triuret, les lysosomes entourant les vésicules digestives.

La vacuole contractile

Comme tout organisme vivant dans l'eau, l'amibe doit constamment lutter contre l'entrée massive d'eau dans son cytoplasme due à la pression osmotique (le milieu extérieur est hypotonique comparé au cytosol).

Les amibes (ainsi que de nombreux autres unicellulaires aquatiques, tels que les paramécies) évacuent le surplus d'eau grâce à une vacuole contractile. Cette organelle possède un cycle au cours duquel elle se remplit de liquide provenant du cytosol et le relâche dans le milieu extérieur. Le nombre et la position des vacuoles contractiles varient selon les espèces et genre. *Amoeba proteus* possède une seule vacuole contractile dont le cycle est représenté ci-dessous :

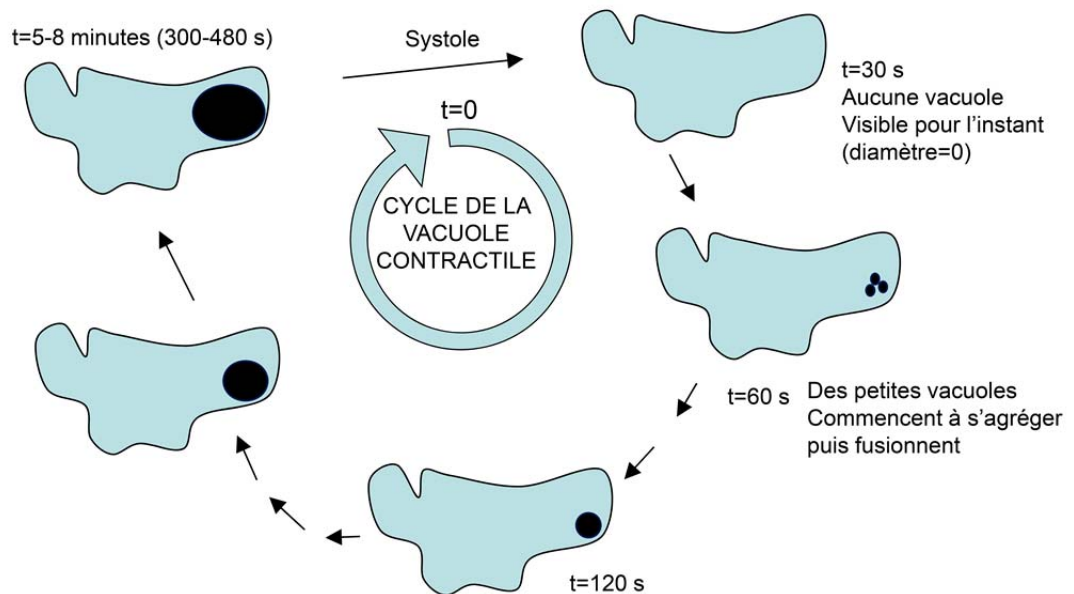


Fig.2: Cycle de la vacuole contractile chez *Amoeba proteus*. Le cycle est séparé en deux phases distinctes : la phase de remplissage de la vacuole (diastole) et la phase de vidage (systole).

Votre tâche consistera à suivre la VC d'une amibe au microscope et de prendre une photo numérique toutes les 30 secondes. Une fois que vous avez pris des photos pour deux cycles complets, utilisez les images numériques pour mesurer le diamètre (en μm) de la vacuole et entrez vos résultats sur les ordinateurs prévus à cet effet.

Le temps zéro correspond au moment où l'amibe vide sa vacuole contractile vers le milieu extérieur (=systole). Commencez à mesurer le temps dès que la vacuole du cycle précédent disparaît et prenez une photo toutes les 30 secondes. Il est possible que vous ne puissiez pas voir de vacuole avant 2 minutes après le début du cycle, dans ce cas, notez 0 comme diamètre.

Note : Une vacuole typique existe pendant environ 4 à 6 minutes mais parfois reste plus longtemps. Arrêtez vos mesures après 480 secondes (8 minutes). Le cycle de la vacuole contractile pourrait être en pause à cause de la phagocytose par exemple.

L'endocytose

(endocytose en vrac ou pinocytose)

C'est chez l'amibe que l'on a décrit pour la première fois l'endocytose. On l'a ensuite observée dans une grande variété de cellules, mais l'amibe demeure un organisme de choix pour son étude. L'endocytose en vrac (ou non spécifique) peut être provoquée par de nombreuses substances : protéines, acides aminés, sels (en particulier des cations), teintures basiques, etc... Nous utiliserons du bleu d'alcan à 0,05% à pH 4,4 contenant 1 % de séralbumine bovine pour induire l'endocytose.

Transférez quelques amibes avec le minimum d'eau possible dans un verre de montre. Ensuite, ajoutez une goutte de solution inductrice. Au bout de 30 secondes, préparez une lame aqueuse en utilisant les lames dans lesquelles vous avez observé le mouvement amiboïde. N'ajoutez pas trop de liquide et assurez-vous que la lamelle couvre toute la préparation.

Une fois en contact avec l'agent inducteur, l'amibe va stopper ses mouvements et adopter une forme généralement plus « ronde ». Le flux d'endoplasme va également s'arrêter et celui-ci va se concentrer dans la partie centrale de la cellule. De l'ectoplasme va s'accumuler à la périphérie et de petites protubérances vont apparaître (comme des *mini* pseudopodes). Ce sont dans ces structures que vous aurez le plus de chance d'apercevoir des canaux d'endocytose.

Observez la formation des canaux et l'accumulation du bleu alcian dans les vésicules d'endocytose. Augmentez le contraste du microscope (=fermez un peu plus le diaphragme d'ouverture situé sur le condensateur) pour bien distinguer ces structures

Phagocytose

Il est possible que vous observiez le phénomène de phagocytose selon l'appétit de votre amibe durant la séance de laboratoire. Observez les différentes étapes de ce phénomène, ainsi que la progression de l'objet phagocyté dans la vésicule digestive. Prévenez votre démonstrateur/trice si vous observez la phagocytose comme cela il pourra montrer votre amibe au reste de la classe.

Référence 1 : Molecular cell biology (4th edition). Lodish *et al.* - W.H Freeman & co.

**Lisez les instructions pour le rapport du laboratoire 3 sur le site web des
laboratoire**

Laboratoire n°4 – La mitose

Introduction

Division cellulaire

La cellule est la structure de base fonctionnelle définissant la vie. Toutes les cellules doivent se reproduire à un moment ou l'autre de leur vie afin d'assurer la continuité de la vie et permettre aux organismes de se reproduire. Le processus qui permet à une cellule de se produire deux copies est appelé division cellulaire. Les procaryotes et les eucaryotes unicellulaires utilisent la division cellulaire pour produire de nouveaux individus. Chez les organismes multicellulaires, la division cellulaire permet le développement d'un embryon (à partir d'une cellule en un organisme complet), la croissance, et le remplacement des cellules en réponse à l'usure et le vieillissement.

Chez les eucaryotes, il existe deux types de divisions :

- 1- La division qui donnera naissance à deux cellules identiques à la cellule mère (division conservative). La mitose fait partie de ce type de division et désigne le processus où le matériel génétique est séparé de façon égale en deux.
- 2- La division cellulaire réductrice qui va produire des gamètes (méiose). Les cellules produites possèdent un matériel génétique différent de la cellule mère et génère ainsi de la diversité génétique. La méiose est couverte dans le prochain laboratoire.

Le cycle cellulaire

Au cours de sa vie, une cellule traverse une série d'événements formant ce que l'on appelle le **cycle cellulaire** (figure 1). Ce cycle peut durer de quelques heures chez des cellules en phase de division active (méristème des plantes ou embryons animaux), à plusieurs années comme dans les cellules osseuses d'un adulte. Le cycle cellulaire comporte des périodes successives de croissance et de division et peut se résumer par l'équation suivante :

$$\text{Cycle cellulaire} = \text{Division} + \text{Interphase}$$

mitose + cytotdiérèse $G_1 (\pm G_0) + S + G_2$

D'après cette équation, la division cellulaire comprend la division du noyau (**mitose** ou **méiose**) et du cytoplasme (**cytotdiérèse**). La **fission binaire** est une combinaison de réplication d'ADN et de division du cytoplasme. L'interphase commence lorsqu'une cellule résultant d'une division antérieure entre en période de croissance. La figure 1 montre que l'**interphase ($G_1 \pm G_0$, S et G_2)** constitue la plus grande partie du cycle cellulaire. C'est au cours de l'interphase que se déroulent la plupart des processus cellulaires. L'interphase se subdivise elle-même en stades : La phase **G_1** (G pour *gap* ou

intervalle en anglais) est une période de croissance et de synthèse active de tous les groupes de macromolécules (dont les ARN et les protéines), et aussi de reproduction des organites du cytoplasme comme les mitochondries et les ribosomes. La durée de ce stade est très variable (de 0,5 h à plusieurs mois ou même des années) et dépend du type et de l'état physiologique de la cellule ainsi que de l'espèce. La phase **S** (pour synthèse) vient ensuite, avec la réplication précise de l'ADN et la synthèse des protéines liées à l'ADN (comme les histones dans cellules eucaryotes) et les centrioles (dans les cellules animales). À la fin de la phase S, chaque chromosome se compose de deux **chromatides** dupliqués, et qui sont jointes entre elles par des complexes protéiques appelés cohésines. Les connections entre les chromatides sont plus nombreuses dans la région du centromère, qui donne sa « taille de guêpe » au chromosome dupliqué. Une fois commencé le stade S, les autres stades suivent habituellement sans délai. Le stade G_2 (*gap 2*) comprend la synthèse de protéines et la production de structures nécessaires à la mitose, par exemple les fibres du fuseau mitotique.

Certaines cellules arrêtent totalement de se diviser une fois leur croissance et leur différenciation terminée. La plupart des cellules des végétaux et des animaux restent au stade G_1 . D'autres sortent du cycle et entrent dans un stade appelé G_0 . Ce peut être un retrait permanent du cycle ou une étape temporaire avant un retour au stade G_1 .

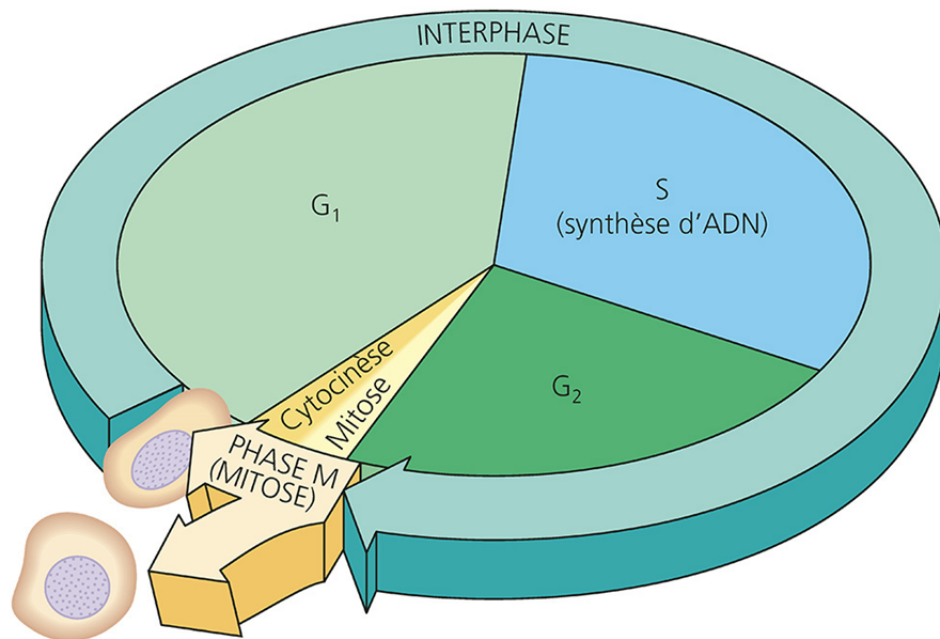


Figure 1: Représentation schématique du cycle cellulaire (d'après Campbell Biologie 4^{ème} édition Française –Pearson Education 2012).

La mitose

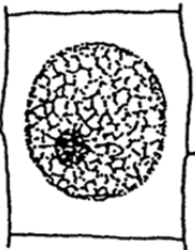
La **mitose** est la partie de la division cellulaire qui comprend le processus de division du noyau, où les chromosomes sont distribués de façon égale entre les deux noyaux résultants. Après la mitose et la cytotdiérèse, les deux cellules filles sont identiques entre elles et identiques à la cellule mère. Ces processus peuvent donner lieu à trois principaux types de cellules : 1) des cellules qui continuent de se diviser (p. ex. cellules

de l'épithélium de l'intestin ou cellules germinales de la peau), 2) des cellules qui quittent le cycle cellulaire (G_0) et ne se divisent plus pendant toute la vie de l'organisme (p. ex. cellules nerveuses), 3) des cellules qui entrent dans un état de repos (G_0 , G_1 ou G_2) mais qui, en réponse à un certain stimulus, réintègrent le cycle cellulaire et se divisent (p. ex. les cellules du foie après une ablation partielle du foie ou les lymphocytes du sang après stimulation par un antigène).

La mitose comporte une succession d'événements qui s'accompagnent souvent de rapides changements physiologiques et morphologiques. Pour des raisons de commodité, on la divise habituellement en cinq phases principales : la prophase, la prométaphase, la métaphase, l'anaphase et la télophase. En réalité, elle se déroule plutôt comme une suite de changements sans coupure nette. C'est pourquoi l'on emploie souvent des termes tels que « début » et « fin » d'une phase pour mieux situer un événement de la mitose.

La division du cytoplasme, appelée **cytodiérèse**, est en général étroitement associée à la division du noyau. Elle commence à la fin de l'anaphase et se poursuit pendant la télophase. Elle se fait par un **sillon de division** qui se forme au milieu des cellules animales ou par une **plaque cellulaire** qui se forme à l'équateur des cellules végétales.

Détail des phases du cycle cellulaire chez les végétaux



Interphase: C'est la phase qui se situe entre deux divisions mitotiques. En plus d'être une phase de croissance de la cellule, c'est au cours de cette phase que se déroulent la synthèse des macromolécules et l'assemblage des organites de même que la réplication de l'ADN. Notez le noyau bien délimité, contenant les nucléoles foncés et des masses de chromatine. Pourquoi la plupart des cellules que vous voyez sont-elles dans cette phase?

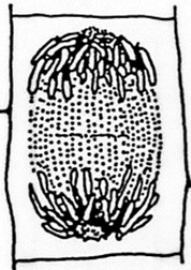


Prophase : Vers la fin du stade G_2 , les **chromosomes** raccourcissent et s'épaississent. On voit maintenant que chacun est formé de deux **chromatides sœurs** reliés dans la région des **centromères**. Chaque chromatide d'un chromosome contient la même information et est formée d'ADN dupliqué au cours de l'interphase (Phase S). Pendant la prophase les **microtubules** du cytosquelette se dissocient en sous-unités de tubuline qui se rassembleront afin de former le fuseau mitotique. Les **nucléoles** disparaissent graduellement. Le **centrosome** (y compris les **centrioles**) se réplique juste avant la phase S de l'interphase. Pendant la prophase (chez les cellules animales) les deux centrosomes se séparent et voyagent vers les deux extrémités (pôles) de la cellule. Les centrosomes sont aussi l'origine de la formation des microtubules du fuseau mitotique. Ces microtubules croissent en forme d'étoile (l'**aster**) chez les cellules animales à partir du matériel péricentriolaire du centrosome.

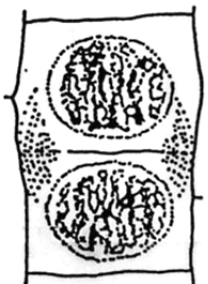
Prométaphase: La désintégration de l'enveloppe nucléaire marque le début de la prométaphase. Les centrosomes se retrouvent éventuellement aux pôles opposés de la cellule. Sur le centromère de chaque chromatide un complexe de protéines (un kinétochore) se forme. Il y a deux kinétochores par chromosome, un par chromatide. Le kinétochore de l'une des deux chromatides sœurs se fixe aux microtubules du fuseau mitotique d'un pôle, alors que le kinétochore de l'autre chromatide se fixe aux microtubules du pôle opposé. Comme les chromosomes sont tirés simultanément vers les pôles opposés, ils finissent tous alignés sur un plan imaginaire (la plaque équatoriale) situé à mi-chemin entre les deux pôles de la cellule.



Métaphase: Les microtubules du fuseau mitotique sont complètement formés et s'étendent d'un pôle à l'autre. Tous les centromères des chromosomes se trouvent au niveau de la plaque équatoriale et commencent à se séparer. Les complexes de cohésines sont alors clivés par une enzyme appelée *séparase*, qui libère les chromatides l'une de l'autre.



Anaphase : Les centromères se séparent et les chromatides sœur (qui sont maintenant des chromosomes) se déplacent vers les pôles opposés de la cellule. Le mouvement des chromatides vers les pôles est causé par le raccourcissement des microtubules qui intervient par dépolymérisation au niveau des kinétochores.



Télophase : Les chromosomes sont parvenus aux pôles. Ils se décondensent, s'allongent et s'amincissent. L'enveloppe nucléaire réapparaît, les nucléoles se reforment, et le fuseau disparaît. La **cytotélorèse** se déroule habituellement au cours de cette phase. Dans les cellules végétales, une structure appelée **phragmoplaste** guide la formation d'une **plaque cellulaire** (site de la paroi nouvelle) qui divise la cellule en deux. Dans les cellules animales, un sillon se creuse et divise la cellule en deux par étranglement.

Observation microscopique de la mitose

La mitose est le processus de division cellulaire de presque toutes les cellules animales et végétales. Elle est généralement plus facile à observer dans les tissus végétaux, où les chromosomes sont plus facilement visibles que dans les cellules animales. De plus, les plantes ont des zones de croissance bien définies où les cellules en cours de mitose sont abondantes. Ces zones de croissance sont situées principalement à la pointe des racines et des tiges (**méristème apical**). Nous allons étudier la croissance et la division des cellules à la pointe de racines et, à des fins de comparaison, dans un embryon de poisson (**blastula** de corégone).

Bien que l'on fasse souvent des coupes, la manière la plus simple de faire des préparations pour étudier les chromosomes consiste à écraser du tissu sous une lamelle couvre-objet après l'avoir fixé et teint (un tissu rigide est également ramolli par un traitement à l'acide). Ce genre de préparation donne une couche unique de cellules intactes et aplaties, où les chromosomes sont bien répandus et faciles à étudier. Il existe de nombreux colorants pour les chromosomes, comme la teinture de feulgen, qui est très spécifique et donne une forte coloration.

Chaque équipe d'étudiant devra faire une préparation à la teinture de Feulgen d'une pointe de racine de fève (*Vicia faba*). Les cellules des pointes de racine se divisent activement, et l'on peut voir la mitose en cours dans une grande proportion d'entre elles.

A- La mitose chez les plantes

1-Teinture de Feulgen

La teinture de Feulgen (d'après le nom de l'un de ses créateurs) colore de manière sélective en magenta les structures contenant de l'ADN. Il s'agit en fait d'une solution incolore, la **fuchsine leucobasique**. Du point de vue chimique, cette substance est une « base de Schiff » qui réagit spécifiquement avec des groupements aldéhydes pour former un produit coloré.

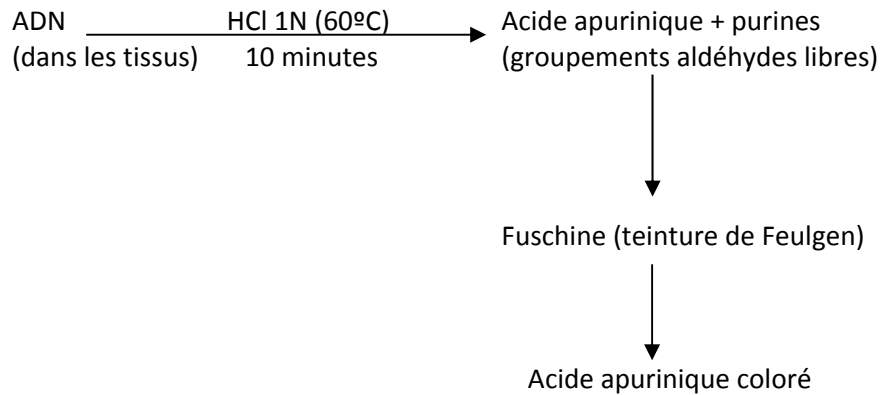
Dans son état naturel, l'ADN ne comporte pas de groupements aldéhydes libres et ne peut donc pas réagir avec la teinture de Feulgen. En revanche, l'ADN contient des molécules de **désoxyribose** (un sucre) qui sont liées chimiquement aux **bases** de l'ADN (**purines et pyrimidines**) par des groupements aldéhydes. Pour obtenir de l'ADN avec des groupements aldéhydes libres susceptibles de réagir avec la teinture de Feulgen, il faut hydrolyser l'ADN avec du HCl 1N chaud (60°C). Ceci a pour effet d'enlever la base et de libérer les groupements aldéhydes du désoxyribose. Le produit de cette hydrolyse s'appelle l'acide apurinique, c'est-à-dire de l'ADN sans purine, et réagit de manière spécifique avec la teinture de Feulgen.

On peut effectuer l'hydrolyse de l'ADN sur des tissus complets ou sur des sections. De plus, l'hydrolyse a pour effet d'éliminer tout l'ARN du tissu et ainsi prévient l'apparition de bruit de fond (coloration non-spécifique). Elle ramollit également le tissu, ce qui permet de l'écraser plus facilement entre deux lames. La durée de l'hydrolyse (habituellement 10 mn) est un facteur important. En effet, une hydrolyse trop brève ne

libère pas tous les groupements aldéhydes, et une hydrolyse trop longue entraîne la destruction de l'acide apurinique. Dans les deux cas, la coloration s'en trouve réduite.

Après l'hydrolyse, on place directement le tissu contenant de l'acide apurinique dans la teinture de Feulgen, où se produit la réaction avec les groupements aldéhydes. La formation de la couleur est essentiellement complétée au bout d'une à deux heures.

Voici en résumé la séquence des réactions importantes intervenant lors de la coloration à la teinture de Feulgen :



Attention: La teinture de Feulgen est incolore mais elle peut colorer les vêtements et la peau d'un rouge magenta vif. Portez votre sarrau.

2- Préparation de pointes de racines écrasées

1. Vous devez porter vos lunettes de protection durant toutes les étapes de la coloration. Utilisez les pipettes en plastique pour transférer les liquides. Écrivez votre nom sur le microtube contenant les pointes de racines de fève dans le fixateur de Carnoy-Lebrun (fourni).
2. Ôtez le fixatif en utilisant une pipette en plastique et rincez une fois les pointes de racine dans de l'alcool à 95 %. Jetez ensuite l'alcool. Vous devez jeter les liquides **dans les Becher prévu à cet effet sur les bancs**. Lorsque vous jetez un liquide, faites attention de ne pas perdre les pointes de racine en même temps !
3. Ajoutez du HCl 1N chaud. Mettez la fiole dans l'incubateur à 60 °C pendant 10 minutes. Cette durée est importante.
4. Jetez rapidement le HCl et ajoutez de l'eau distillée froide pour arrêter l'hydrolyse.
5. Ôtez l'eau et ajoutez de la teinture de Feulgen (juste assez pour recouvrir les échantillons). Laissez les racines dans la teinture pendant environ une demi-heure, ou jusqu'à ce que les pointes soient d'un rouge profond. Si elles ne sont pas assez colorées, laissez-les plus longtemps (jusqu'à 1 h). Notez que la couleur est présente dans la pointe, où les cellules sont petites et se divisent activement. La **zone d'élongation cellulaire** est beaucoup moins colorée.
6. Jetez la teinture dans la cuvette de déchets chimiques

7. Rincez à l'eau (attention, l'eau de rinçage a un fort pouvoir colorant). Conservez les racines teintées dans de l'eau (ne les laissez pas sécher)
8. Déposez une goutte d'acide acétique à 50 % sur une lame porte-objet et placez-y une pointe de racine. À l'aide d'une lame de rasoir, coupez la partie fortement colorée (2 mm) de la pointe et jetez le reste. Conservez les autres pointes dans la fiole au cas où la première préparation ne réussirait pas.
9. Mettez une lamelle couvre-objet et écrasez le tissu pressant fermement avec la gomme à effacer située à l'extrémité d'un crayon à mine. Faites attention à ne pas faire glisser la lamelle latéralement. Écrasez le tissu jusqu'à ce qu'il forme un cercle d'environ 1 cm de diamètre. Vérifiez la qualité de votre préparation au microscope.
10. Montrez votre préparation au démonstrateur.
11. À partir de votre préparation, prenez des photos numériques de toutes les phases de la mitose.

3- Comment se fait la croissance ?

La croissance peut résulter de l'augmentation du nombre de cellules par division cellulaire ou d'un accroissement de la taille de chaque cellule. Comment se fait la croissance des racines ?

Jusqu'à présent, nous savons que de nombreuses cellules sont en division dans la pointe de racine.

Observez une lame préparée d'une coupe longitudinale d'une racine et imaginez ce qui se passe. Notez que la **pointe de la racine** possède des cellules carrées dont de nombreuses sont en mitose.

Autour de l'extrémité de la pointe de la racine, il y a une masse de cellules mortes irrégulières aux parois plus épaisses. Elles constituent une **coiffe** qui protège le **méristème apical** (=de la pointe) à mesure qu'il s'enfonce dans le sol. A mesure que la racine progresse en profondeur, les cellules mortes forment un revêtement autour de l'extrémité de la racine et facilite son passage dans le sol. On croit aussi que la coiffe joue un rôle dans la détection de la gravité et qu'elle oriente la croissance de la racine.

La **région du méristème apical** s'étend juste au-dessus de la coiffe. Cette zone de division cellulaire est le site de la croissance apicale de la racine. A la base du méristème apical, le **centre quiescent** est une zone relativement inactive où les cellules sont bloquées au stade G₁ de l'interphase.

La **zone d'élongation cellulaire** est située au-dessus de la zone de division cellulaire, sans toutefois qu'il y ait de séparation nette entre les deux. L'allongement de la racine est principalement dû à l'élongation des cellules dans cette région.

La zone d'élongation cellulaire est suivie d'une **zone de maturation** où la plupart des cellules des tissus primaires mûrissent. Les poils absorbants sont produits dans cette région. Près du centre de la racine, vous arriverez peut-être à voir des cellules très étroites, aux parois épaisses, qui se différencient en faisceaux vasculaires. Les **cellules du xylème** de ces faisceaux transportent l'eau et les sels minéraux du sol vers le reste de la plante. Les **cellules du phloème** transportent les hydrates de carbone des parties

photosynthétiques de la plante vers les racines. Les racines ne possèdent pas de **chloroplastes** et ne peuvent donc produire leur propre nourriture.

1. Étiquetez le schéma des principales régions d'une racine (figure 2).
2. Étudiez la lame préparée de la coupe longitudinale d'une pointe de racine d'oignon et trouvez toutes les régions décrites plus haut.
3. Répondez aux questions 4 à 6.

B. La mitose dans les cellules animales

La mitose dans les cellules animales se déroule essentiellement de la même façon que dans les cellules végétales sauf que, puisque les cellules animales sont dépourvues de paroi, il ne se forme pas de plaque cellulaire au cours de la télophase. A la fin de la division du noyau, il y a étranglement du cytoplasme au milieu pour former les deux cellules filles. On note la présence d'un **aster**, un réseau de fibrilles en forme de demi-cercle, à chaque extrémité du fuseau. Il n'y a pas d'aster dans les cellules végétales.

Certaines cellules animales, par exemple les cellules nerveuses, les cellules des muscles et les globules rouges, ne se divisent pas. Elles perdent leur capacité à se diviser au cours de leur différenciation et de leur développement. Par contre, les cellules d'un embryon se divisent rapidement, et l'on peut en observer de nombreuses en mitose.

Étudiez les lames préparées d'embryons de corégone au stade **blastula**. Installez-les avec précaution sur le microscope, en mettant avec soin au foyer d'abord sous un faible grossissement. Passez à l'objectif de moyenne puissance et mettez à nouveau au point. Passez ensuite à l'objectif de grande puissance (40X) et mettez au point uniquement à l'aide de la commande du mouvement lent. C'est là un véritable test de votre habileté à utiliser le microscope. Si vous mettez au foyer sans prendre de précaution, vous risquez de briser la lame.

C- Durée du cycle cellulaire

Objectif: Déterminer le temps relatif que les cellules passent dans chacune des phases du cycle cellulaire.

Procédure: Avec votre partenaire, comptez combien de cellules dans chaque phase vous pouvez observer dans 3 champs de vision du microscope (ou au moins 150 cellules au total), et ceci pour chacun des trois espèces : pointes de racines écrasées de fève (*Vicia faba*, votre préparation), une lame préparée de coupe longitudinale de racine d'oignon (*Allium cepa*) et coupe transversale d'embryon de corégone (*Coregonus clupeaformis*) au stade blastula. La durée relative de chaque cycle est proportionnelle au nombre de cellules que vous pouvez observer dans chaque phase (ex. si 10% des cellules sont dans la phase X, la phase X représente 10% du temps du cycle cellulaire). Inscrivez vos résultats dans le tableau ci-dessous et transférez-les dans le fichier Excel dans le(s) ordinateur(s) désigné(s). Calculez vos % en divisant le total de cellules observées dans chaque phase par le nombre total de cellules.

Champ de vision #	Fève				Racine d'oignon				Blastula de corégone			
	1	2	3	Total	1	2	3	Total	1	2	3	Total
Interphase												
Prophase												
Métaphase												
Anaphase												
Télophase												
	Grand total=				Grand total=				Grand total=			

Questions

1. Dans quelle phase avez-vous vu le plus de cellules ? _____

Le moins de cellules ? _____

2. Quelle phase, pouvez-vous en déduire, dure le plus longtemps ? _____

Le moins longtemps ? _____

Comment pouvez-vous expliquer cela ? _____

3. Comparez vos résultats avec ceux des autres étudiants du groupe. Jusqu'à quel point sont-ils semblables ou différents ? Pourquoi ?

4. Dans quelle partie de la pointe d'une racine vous attendez-vous à trouver les cellules les plus jeunes ? _____

5. Quelles sont les différences entre des cellules jeunes et vieilles du point de vue :

a) de la forme : _____

b) de la taille : _____

6. Les cellules semblent-elles toutes avoir un noyau ? _____

Si non, pourquoi ? _____

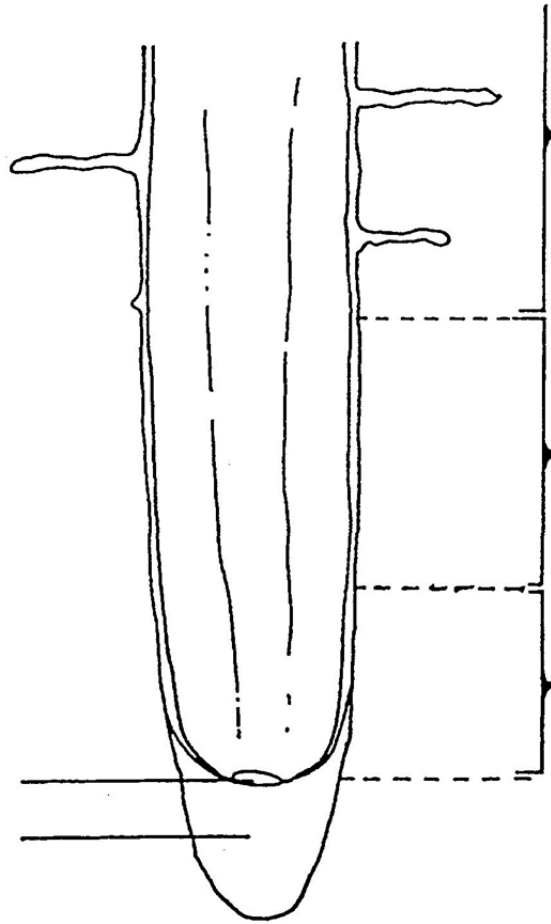


Figure 2 : Coupe longitudinale de la pointe d'une racine d'oignon)

Lisez les instructions au sujet du rapport de laboratoire sur le site web.

Laboratoire n°5 – La méiose

Introduction

La méiose (du grec *meiosis*, « décroissance ») est un processus de division nucléaire qui résulte en une réduction chromatique. Dans le cas de la mitose, la duplication de l'ADN qui a lieu pendant l'interphase est suivie d'une division nucléaire simple. En revanche dans le cas de la méiose, la duplication de l'ADN est suivie de 2 divisions. Au final, la méiose donne 4 cellules filles qui ne sont pas identiques entre elles, ni à la cellule mère. Chaque cellule fille ne contient que n chromosomes, c'est-à-dire la moitié du nombre de chromosomes de la cellule mère. Le nombre de $2n$ chromosomes est rétabli au cours de la fécondation chez les animaux diploïdes. Par conséquent, la méiose assure : 1) la stabilité du nombre de chromosomes d'une génération à l'autre, 2) la possession de deux jeux complets d'instructions génétiques par les individus issus de la reproduction sexuée, 3) la diversité génétique des descendants.

Comme il l'a été mentionné dans le laboratoire n° 4, la méiose ne se produit que chez les organismes à reproduction sexuée. Le cycle biologique des plantes est caractérisé par une alternance de générations diploïdes et haploïdes. Les **sporophytes** (individus de la génération diploïde — $2n$) forment des **spores** haploïdes par méiose. Ces spores se divisent par mitose pour former des individus haploïdes multicellulaires appelés **gamétophytes**. Ceux-ci finissent par former des **gamètes** qui s'unissent pour donner des **zygotes** diploïdes. Les zygotes se divisent par mitose, se développent et se différencient pour donner un organisme multicellulaire diploïde, le sporophyte. Ce type de méiose porte le nom de **méiose sporique**.

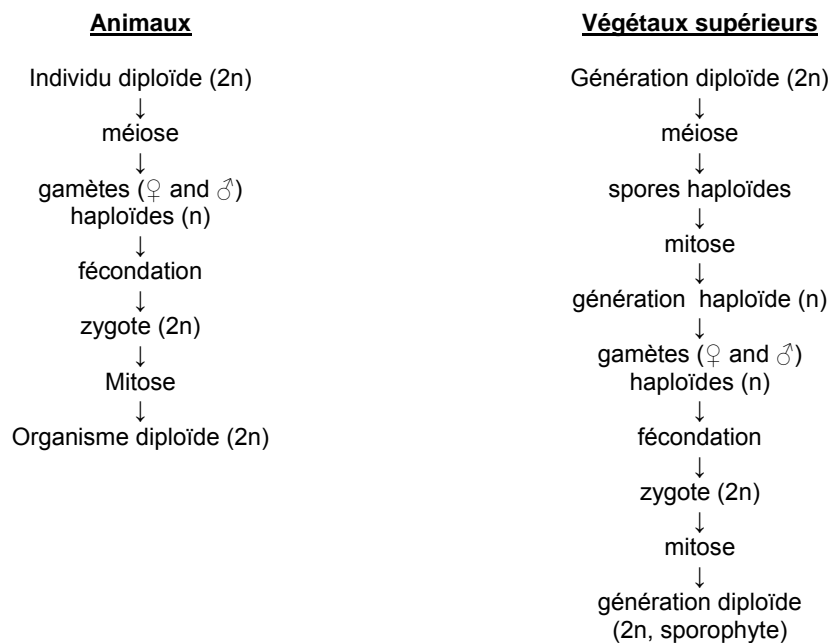


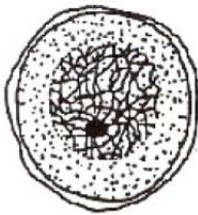
Figure 5.1 La méiose dans le cycle biologique des plantes et des animaux

Chez la plupart des animaux, il y a également alternance de **pléidie**. L'individu diploïde produit par méiose des gamètes haploïdes (**gamétogenèse**). Les gamètes mâle et femelle s'unissent pour former un zygote diploïde, qui se divise ensuite par mitose pour donner un organisme multicellulaire diploïde. Ce type de méiose porte le nom de **méiose gamétique**.

La figure 5.1 situe le rôle de la méiose dans le cycle biologique des plantes et des animaux.

Phases de la première division méiotique (méiose I)

Interphase préméiotique : Cette phase précède la première division méiotique et se compose de stades semblables à ceux de l'interphase mitotique (G_1 , S et G_2). Le stade S préméiotique peut durer jusqu'à 20 fois plus longtemps que le stade S prémitotique. Il y a réplication des chromosomes (ADN et protéines) durant ce stade. Il en résulte deux chromatides sœurs identiques reliés au centromère. Dans les cellules animales, les paires de centrioles se dupliquent également.



Prophase I : Les chromosomes homologues s'apparient et se recombinent, et il y a également synthèse de grandes quantités d'ARN et de protéines. C'est l'une des plus longues phases de la méiose : elle peut durer des semaines et même des années, selon les espèces. La prophase I peut être divisée en 5 étapes :

1) **Leptotène :** Les chromosomes raccourcissent et s'épaississent pour former des filaments simples (on ne peut distinguer les **chromatides sœurs**). Les extrémités des chromosomes (**télomères**) sont attachées à l'enveloppe nucléaire.

2) **Zygotène :** Les chromosomes **homologues**, l'un venant de la mère (=type maternel) et l'autre du père (=type paternel), s'apparient dans le sens de la longueur au cours d'un processus appelé **synapsis (ou appariement)**. Les chromatides entre les chromosomes homologues s'entrelacent pour former le **complexe synaptonémal**. Ce stade peut durer de plusieurs heures à trois jours.

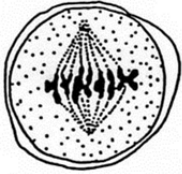
3) **Pachytène :** Les chromatides adjacentes se séparent et se recombinent par un processus appelé **enjambement**. Les paires de chromosomes homologues portent le nom de **tétrades** (quatre chromatides). Ce stade peut durer de quelques jours à quelques semaines. Cet échange de matériel génétique entre les chromosomes homologues est un facteur important dans la création de diversité génétique.



4) **Diplotène :** Les chromosomes homologues se séparent davantage, de sorte que l'on distingue les 4 chromatides de chaque paire. Les **chiasmata** (régions des enjambements) deviennent visibles. Le complexe synaptonémal disparaît, et les chromosomes se détachent de l'enveloppe

nucléaire. Chez certaines espèces, il y a transcription intensive d'ARN au cours de ce stade, dont la durée peut être très variable (jusqu'à 12 ans).

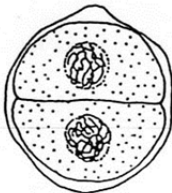
5) **Diacinèse** : Les chromosomes finissent de raccourcir et connaissent des modifications finales qui les rendent aptes à se diviser. La transcription d'ARN cesse, et les nucléoles disparaissent.



Métaphase I : Au début de la métaphase I, l'enveloppe nucléaire se décompose. Les paires de chromosomes homologues s'alignent à l'équateur du fuseau (**plaque équatoriale** ou **métaphasique**). Les chromosomes d'origine maternelle et paternelle se répartissent d'une manière aléatoire de part et d'autre de l'équateur. Les deux chromatides sœurs de l'un des chromosomes homologues fixent leurs **kinétochores** par des microtubules à un même pôle du fuseau, alors que les chromatides sœurs de l'autre chromosome homologue font de même à l'autre pôle.



Anaphase I : Les centromères des paires de chromosomes ne se divisent pas comme dans la mitose, mais chaque chromosome s'éloigne de son homologue vers un pôle. C'est là une différence fondamentale entre la méiose et la mitose qui contribue beaucoup à créer de la diversité génétique.



Télophase I : Les chromosomes s'étirent, le fuseau se décompose et l'enveloppe nucléaire se reforme. La durée de cette phase et le degré d'occurrence de ces événements varient considérablement d'une espèce à l'autre. La cytotélerèse se poursuit pour donner deux cellules filles. Chacune de ces cellules a la moitié du nombre de chromosomes, mais ces chromosomes possèdent deux chromatides.

Intercinèse Au cours de cette phase semblable à une interphase entre la première et la seconde division méiotique, il n'y a pas de réplication d'ADN. S'il y a des centrioles et des asters, ils se séparent. Par contre, les centrioles ne se dupliquent pas, de sorte que, à la prophase II, il y a un seul centriole à chaque pôle du fuseau dans chacune des cellules filles.

Stades de la seconde division méiotique (méiose II)

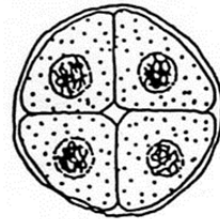
La seconde division méiotique ressemble beaucoup à une division mitotique.

Prophase II : L'enveloppe nucléaire se décompose, et les chromosomes raccourcissent et s'épaississent à nouveau au cours de cette phase. Le fuseau se forme et des kinétochores s'y attachent par des microtubules comme dans la mitose. Les chromosomes commencent à se déplacer vers l'équateur.

Métaphase II : Les chromosomes, formés chacun de deux chromatides, s'alignent sur la plaque métaphasique (à l'équateur de la cellule).



Anaphase II : Comme dans l'anaphase mitotique, les chromatides sœurs se séparent et se déplacent vers les pôles opposés du fuseau. La cytotéière commence à la fin de cette phase.



Télophase II: Les chromosomes s'étirent, une enveloppe nucléaire se forme autour de chaque cellule fille, les nucléoles se reforment et la cytotéière se termine. À la fin de la cytotéière, il y a 4 cellules haploïdes. Ces quatre cellules sexuelles ont un contenu génétique différent: elles peuvent contenir des chromosomes uniquement de type maternel, uniquement de type paternel ou un mélange des deux.

La méiose chez les plantes

Chez les Angiospermes (plantes à fleurs), la méiose joue un rôle important dans la formation des spores mâles et femelles (respectivement nommés **microspores** et **macrospores**).

La formation des gamètes mâles chez les espèces du genre *Lilium* se déroule dans une structure appelée **anthère**.

Les microspores se forment par méiose à l'intérieur des quatre **microsporangies** ou **sacs polliniques** de l'anthère. Au début de la différenciation de l'anthère, on peut voir quatre groupes de cellules fécondes (**cellules sporogènes**) s'entourant progressivement de plusieurs couches de cellules stériles. La couche interne constitue le **tapetum**, un ensemble de cellules nourricières des microspores en développement, alors que les couches externes forment la paroi du microsporangie. Les cellules sporogènes se développent et deviennent des **microsporocytes** (cellules mères des microspores). Ces cellules diploïdes se divisent par **méiose** pour produire quatre **microspores** unicellulaires haploïdes. Ensuite, les microspores se divisent par **mitose** pour former une **cellule tubulaire** et une **cellule germinale** (le **microgamétophyte**). Ces deux cellules (avec la paroi les entourant) forment un grain de pollen.

Chez environ 60 % des Angiospermes (dont *Lilium*), le microgamétophyte est libéré de l'anthère sous cette forme bicellulaire. Chez les autres plantes à fleurs, le noyau germinal se divise par mitose pour former deux cellules spermatiques avant la division de l'anthère. La cellule tubulaire se divisera plus tard par mitose pour former le tube pollinique.

Examinez des lames préparées montrant la microsporogénèse chez le lys (*Lilium*). Trouvez un aussi grand nombre que possible de phases méiotiques et dessinez-les et/ou prenez des photos numériques. L'appariement est-il visible dans la prophase I ? Pouvez-vous voir plusieurs enjambements ? Comment pouvez-vous distinguer les phases de la méiose II de celles de la méiose I ?

La méiose chez les animaux

Lors la formation des gamètes mâles (**spermatogenèse**), chaque série de deux divisions méiotiques produit quatre cellules spermatiques viables. Lors de la formation des gamètes femelles (**ovogenèse**), tout le cytoplasme et les réserves nutritives doivent être conservés dans l'œuf pour permettre le développement de l'embryon. L'un des produits de la première division méiotique est expulsé sous la forme d'un noyau simple et sans cytoplasme, le **globule polaire**. L'autre cellule, plus grosse deviendra l'**œuf**. La même chose se produit dans la seconde division méiotique. Il en résulte donc un gros œuf et deux petits globules polaires qui ne survivront pas.

Observation de la méiose chez *Ascaris*.

L'une des premières études morphologique détaillée de la méiose est celle que van Beneden (1883) a menée sur la formation des œufs chez le ver rond parasite *Ascaris*. Le nombre diploïde de chromosomes est de quatre chez cette espèce ($2n=4$), ce qui rend le processus relativement facile à suivre.

Chez *Ascaris*, comme chez tous les animaux, les spermatozoïdes complètent leur méiose dans le testicule du mâle. Les spermatozoïdes matures sortent alors du testicule et se dirigent vers la vésicule séminale. Chez la femelle, les œufs sont en prophase I lorsqu'ils sont éjectés de l'ovaire. Ils descendent dans l'oviducte sans passer à la métaphase I.

Après l'accouplement, les spermatozoïdes rejoignent les œufs dans l'oviducte, et un spermatozoïde pénètre dans chaque œuf. Il se dirige vers le centre de l'œuf, où il perd sa membrane et libère une masse sombre de chromatine. A l'issue de la prophase I, les chromosomes sont dupliqués et les chromosomes homologues sont appariés pour former **2 bivalents** (ou tétrades). L'entrée du spermatozoïde stimule l'œuf, qui entre en métaphase I.

En métaphase I, l'enveloppe nucléaire se décompose et un petit fuseau se forme à la périphérie de l'œuf, perpendiculairement à la membrane. Les bivalents s'alignent au niveau de la plaque équatoriale, et les chromosomes qui les composent (chromosomes homologues) se séparent : une copie des reste au sein de l'œuf tandis que l'autre copie est attirée vers l'extérieur de l'œuf, et sera expulsée par pincement de la membrane pour former le **premier globule polaire**. L'œuf et le globule polaire sont tous deux haploïdes.

Un second fuseau méiotique se forme immédiatement après pour préparer la seconde division. Cette fois, ce sont les chromatides sœurs qui sont séparées. Une copie sera expulsée dans le second globule polaire, et l'autre moitié restera dans l'œuf.

L'œuf haploïde et le noyau du spermatozoïde restent en interphase pendant un certain temps, au cours duquel ils portent le nom de **pronucléus** mâle et femelle. Après fusion des pronucléus, les divisions mitotiques de l'embryon commencent. Chaque embryon est entouré d'une coquille chitineuse sécrétée par l'utérus pour l'empêcher de sécher. Les embryons sont ensuite libérés par la femelle.

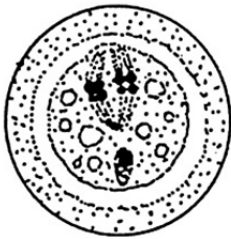
Une série de lames histologiques et/ou une présentation *Powerpoint* présentant un ensemble de photographies d'œufs d'*Ascaris* en méiose sera fournie. Chaque lame ou image montre une section de l'oviducte, dont les parois sont dans les parties supérieure

et inférieure de l'écran. Entre ces parois, on peut voir un grand nombre d'œufs en méiose. Comme il s'agit d'une section, tous les œufs ne sont pas nécessairement coupés en leur centre. Des exemples de plusieurs phases de la méiose ont été choisis. Observez ces sections

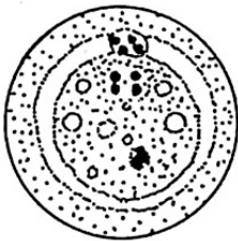


1. **Sperme** : Les structures bleues en forme de gland visibles entre les ovogonies sont les **spermatozoïdes**. Notez qu'ils n'ont pas de flagelle. Le point noir situé à l'extrémité arrondie du spermatozoïde est le noyau haploïde. Le cytoplasme des ovogonies comporte des vacuoles et leur noyau en prophase I est à peine visible. Les ovogonies n'ont pas encore de coquille, et plusieurs ont perdu de l'eau par osmose pendant la période de conservation et ont un aspect plissé. Elles seraient sphériques chez un individu vivant.

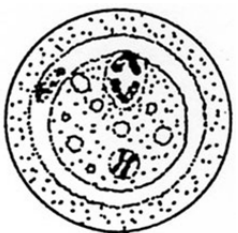
2. **Entrée du spermatozoïde** — Lorsque le spermatozoïde entre dans l'œuf, le noyau de l'ovocyte de premier ordre reprend le processus de méiose. Le spermatozoïde perd son contour et devient une masse amorphe et noire de chromatine à l'intérieur de l'ovocyte.



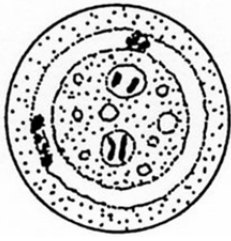
3. **Métaphase I et Anaphase I** - Dans la métaphase I, il y a deux tétrades, les chromosomes homologues appariés sont alignés à l'équateur du fuseau, au bord de l'ovocyte. Il est parfois difficile de distinguer les deux chromosomes homologues formant une paire. Au cours de la métaphase I, l'ovocyte sécrète sa coquille protectrice. Au cours de l'anaphase I, les chromosomes homologues se séparent et se déplacent vers les pôles opposés du fuseau.



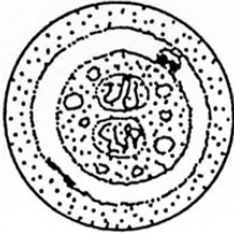
4. **Télophase I** : Le premier **globule polaire** est expulsé de l'ovocyte et transporte avec lui deux chromosomes doubles (quatre chromatides). Ce **N'EST PAS** une tétrade qui est expulsé ici. Si c'était le cas, quelles en seraient les conséquences ?



5. **Métaphase II et anaphase II** — Notez la forme sphérique des ovocytes de deuxième ordre entourés d'une coquille épaisse. Les ovocytes flottent dans un espace rempli de liquide et appelée **espace périvitellin**. Le noyau du spermatozoïde est au centre de l'ovocyte. Le premier globule polaire expulsé est visible dans l'espace compris entre l'ovocyte de deuxième ordre et la coquille. Les deux chromosomes restants (chacun étant formé de deux chromatides) s'alignent à l'équateur au cours de la métaphase II. Au cours de l'anaphase II, les centromères se divisent et les chromatides se séparent.



6. **Télophase II** : Le second globule polaire contenant deux chromatides est expulsé. L'ovule mature haploïde possède maintenant deux chromosomes simples, un de chaque type.



7. **Interphase** : Les pronucléus haploïdes mâle et femelle restent en interphase pendant un certain temps, puis s'unissent : c'est la **fécondation**. Le **zygote** résultant de la fécondation est diploïde et possède deux paires de chromosomes homologues ($2n=4$).



8. **Divisions** : Le **zygote** se divise par mitose. L'embryon est formé de deux cellules, puis quatre, huit, etc... Les cellules ne se divisent pas nécessairement en même temps. Chez *Ascaris*, au stade des huit cellules, celles-ci n'ont pas toutes la même taille.

Gamétogénèse chez les mammifères

Dans cet exercice, vous allez examiner le processus de formation des gamètes dans les gonades d'un Mammifère.

Spermatogénèse

Comme la spermatogénèse est un processus continu, on peut en observer toutes les phases dans une coupe d'un tubule. Vous remarquerez que ce processus se déroule de manière ordonnée de l'extérieur vers la lumière (canal) du tubule (figure 5.3).

Prenez une lame d'une section d'un testicule de Mammifère. Parcourez la lame sous un faible grossissement pour voir plusieurs coupes des tubules séminifères. Passez à la puissance moyenne et choisissez un tubule qui n'est pas trop coloré et comportant une zone claire bien définie (la **lumière**) en son centre. Passez ensuite à l'objectif de grande puissance et étudiez les cellules suivantes :

1. **Spermatogonies (2n)**. Ce sont les grosses cellules externes fortement teintées et possédant un noyau bien défini. Elles se divisent par mitose pour produire davantage de spermatogonies. Environ la moitié des spermatogonies produites se divisent par méiose en vue de devenir des spermatozoïdes, alors que les autres continuent de se diviser par mitose pour maintenir la population de spermatogonies.

2. **Spermatocytes de premier ordre (2n)**. Situés juste en dessous des spermatogonies et moins colorés que celles-ci, les spermatocytes primaires sont de grosses cellules qui subissent la première division méiotique.

3. **Spermatocytes de deuxième ordre (n)**. Ces cellules un peu plus petites sont situées un peu plus vers la lumière du tubule. Elles sont le produit de la première division méiotique. Les spermatocytes de deuxième ordre sont difficiles à observer parce qu'ils subissent rapidement la seconde division méiotique pour produire des spermatides.

4. **Spermatides (n)**. Ces toutes petites cellules circulaires vont se différencier pour devenir des spermatozoïdes fonctionnels.

5. **Spermatozoïdes (n)**. À maturité, ceux-ci sont facilement reconnaissables à leur flagelle long et mince bordant la lumière.

6. **Cellules nourricières (ou cellules de Sertoli)**. Les grosses cellules nourricières sont également présentes dans les parois des **tubules séminifères**. Elles nourrissent les spermatides et règlent leur différenciation en spermatozoïdes matures.

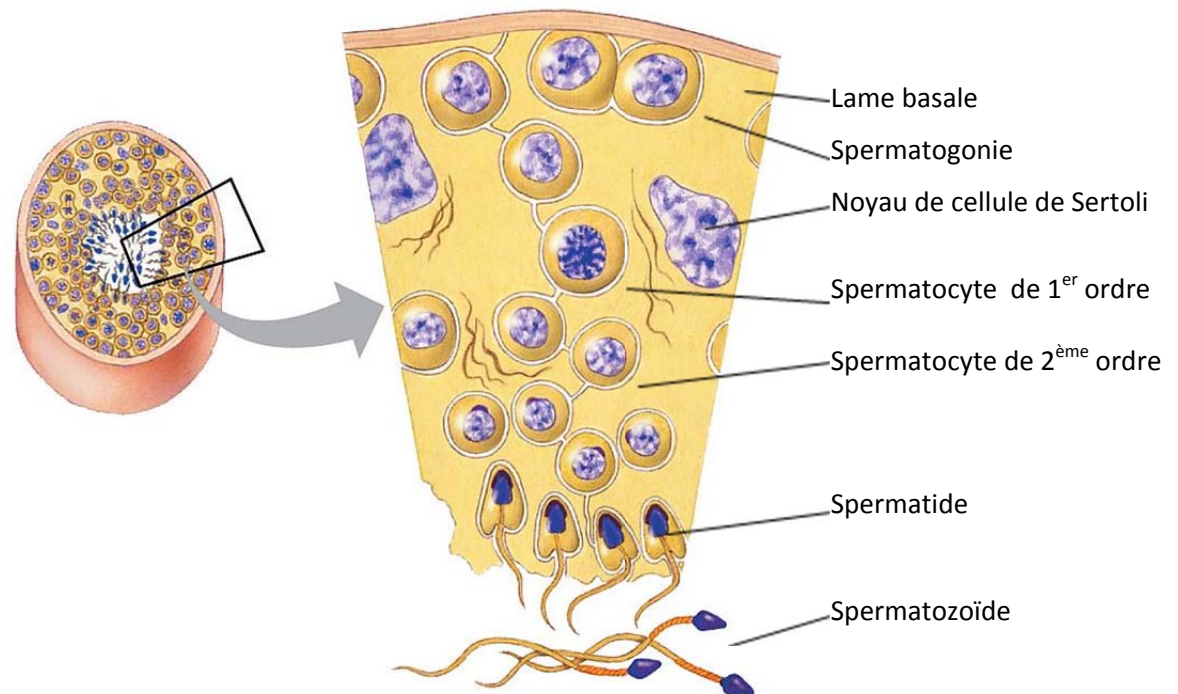


Figure 5.2 : Diagramme d'une vue générale (gauche) et coupe transversale (droite) d'un testicule de Mammifère montrant la spermatogenèse en cours dans les tubules séminifères. Modifié d'après Biology – Campbell 4^{ème} édition (2011).

Ovogenèse

À la différence des ovaires tubulaires étudiés précédemment chez *Ascaris*, les ovaires des Mammifères sont des structures pleines où les cellules formant les œufs se développent dans de petites cavités doublées de cellules et appelées **follicules** (figure 5.4).

À sa naissance, une femelle de Mammifère possède déjà dans ses ovaires toutes les **ovogonies** dont elle aura besoin pendant toutes les années de sa période de reproduction. Chaque **ovogonie** est entourée d'une couche de **cellules folliculeuses** avec lesquelles elle constitue un follicule primaire. Au début de la première division méiotique, l'ovogonie s'agrandit pour devenir un **ovocyte de premier ordre**. Les cellules folliculeuses qui l'entourent prolifèrent et, avec l'ovocyte de premier ordre, forment un

follicule en croissance. La cytotérièse de l'ovocyte de premier ordre à la fin de la première division méiotique produit un gros **ovocyte de deuxième ordre** et un premier petit **globule polaire**. La seconde division méiotique de l'ovocyte de deuxième ordre commence, progresse jusqu'à la métaphase II, puis s'arrête. Le follicule en croissance contenant un ovocyte de deuxième ordre attend la stimulation d'hormones femelles pour se développer davantage. En réponse à la stimulation hormonale, le follicule va se développer et former un **follicule mature** (ou **follicule de De Graaf**). À ce stade, l'ovocyte de deuxième ordre (toujours arrêté à la métaphase II), est qualifié d'**ovocyte mature**. Au bout d'une courte période, il y a rupture du follicule mature à la surface de l'ovaire et libération de l'ovocyte mature (processus d'**ovulation**). La méiose ne reprendra chez l'ovocyte mature qu'après la pénétration par un **spermatozoïde**.

Prenez une lame d'une section d'ovaire d'un Mammifère et observez les structures ci-dessous avec le grossissement approprié :

1. **Follicules primaires.** Ce sont les nombreuses petites structures rondes situées à la périphérie de l'ovaire. Chaque follicule primaire contient une ovogonie ($2n$) remplissant la plus grande partie de l'espace délimité par une couche de cellules folliculeuses.
2. **Follicules en croissance.** Ce sont des follicules plus gros comportant quelques couches de cellules folliculeuses. Chaque follicule en croissance contient un ovocyte de premier ordre ($2n$), ou un ovocyte de deuxième ordre (n) nouvellement formé, dans sa petite cavité remplie de liquide.
3. **Follicules de De Graaf.** Ces très gros follicules sont constitués en grande partie par une grande cavité remplie d'un liquide clair. Avec un peu de chance, votre lame comportera un ovocyte mature (en réalité, un ovocyte de deuxième ordre (n)) arrêté à la métaphase II et niché dans un amas de cellules folliculeuses au centre du follicule.



Figure 5.3 : Coupe d'un ovaire de Mammifère montrant le développement des follicules.

Tableau 1 : Caractéristiques de la mitose et de la méiose

<i>Mitose</i>	<i>Méiose</i>
1. Séparation des chromatides sœurs durant l'anaphase.	1. La première phase consiste en une division réductrice qui sépare les chromosomes homologues durant l'anaphase I. La séparation des chromatides en parts égales par division homotypique intervient au cours de l'anaphase II.
2. Une division par cycle.	2. Deux divisions par cycle.
3. Pas d'appariement des chromosomes. Pas de formation de chiasmas. Aucun échange génétique entre chromosomes homologues.	3. Appariement des chromosomes. Formation de chiasmas. Échange génétique entre chromosomes homologues.
4. Deux cellules filles produites par cycle.	4. Quatre cellules filles (gamètes ou spores) produites par cycle.
5. Contenu génétique des cellules filles identique aux cellules originales.	5. Contenu génétique des cellules filles différent de celui des cellules originales (chromosomes de type paternel, maternel, ou une combinaison des deux).
6. Nombre chromosomique des cellules filles identique à celui de la cellule mère.	6. Nombre chromosomique des cellules filles égal à la moitié de celui de la cellule mère.
7. Cellules filles généralement aptes à subir d'autres divisions mitotiques	7. Cellules filles incapable subir d'autres divisions méiotiques, mais éventuellement aptes à subir une division mitotique.
8. Processus normal dans la plupart des cellules somatiques.	8. Processus réservé aux cellules germinales spécialisées.

Lisez les instructions pour le rapport du laboratoire 5 (dessin biologique) sur Le site web des laboratoires

ANNEXES

Représentation graphique de l'information quantitative

Utilisez un graphique lorsque vous voulez:

- voir les tendances globales et les rapports entre les données
- comparer deux facteurs (ou plus) d'une façon générale ou quantitative
- présenter une grande quantité d'information quantitative d'une façon compréhensible et analyser des données

Principes généraux de la construction d'un graphique

A- Type de graphique

Voici quelques exemples de différents types de graphiques:

Graphiques à barres (horizontales ou verticales)

Ces graphiques sont composés de barres de largeur égale et de longueur variable. Les données quantitatives sont placées **sur un axe seulement** (l'axe des X pour les graphiques à barres horizontales ou l'axe des Y pour les graphiques à barres verticales). Les barres représentent une série de données discrètes (par exemple des lieux, des catégories, des périodes de temps) et elles sont séparées par des espaces. Il ne faut pas confondre les graphiques à barres avec **les histogrammes**. Ces derniers ont une échelle quantitative sur leurs deux axes.

Histogrammes

Comme les graphiques à barres, les histogrammes sont composés de barres de largeur égale et de longueur variable. On les utilise notamment pour **analyser et étudier des distributions**. Pour construire un histogramme, il faut diviser l'étendue des données en un certain nombre d'intervalles et noter le nombre d'observations qui se retrouvent dans chaque intervalle. On peut alors calculer le pourcentage des observations pour chaque intervalle. Un histogramme contient donc des intervalles sur l'axe x et des valeurs en pourcentage sur l'axe y.

Graphiques à barre ou histogrammes sur deux panneaux (arrangement vertical)

Les règles générales des histogrammes ou graphiques à barres s'appliquent, plus :

- L'axe des Y s'étend sur les panneaux.
- L'échelle de l'axe Y est la même sur les deux panneaux (même si l'étendue des valeurs présentées peut être différente).
- L'étiquette de l'axe des X est inscrite sous l'axe du panneau inférieur.
- Les divisions sont présentes sur les 2 axes X.
- Une seule clé des symboles est utilisée pour les deux panneaux.

Graphiques à secteurs (circulaire)

Un graphique à secteurs montre la proportion de chaque composante constituant l'ensemble des données. La lecture des graphiques à secteur est imprécise puisqu'il faut estimer l'angle formant un secteur donné pour connaître la valeur qu'il représente. Pour cette raison ce type de graphique généralement, est à éviter.

Graphiques à lignes brisées

On emploie ce graphique lorsque beaucoup de données ($n > 30$) sont disponibles dans des intervalles uniformes, et pour illustrer les tendances ou les changements d'une variable dans le temps. On relie les points sur le graphique avec des lignes pour montrer les variations dans le temps.

Diagrammes de dispersion (nuage de points)

On utilise les diagrammes de dispersion afin de présenter les relations entre deux séries de données. Dans ces graphiques les variables quantitatives sont présentes le long des deux axes. La variable indépendante est toujours présentée sur l'axe des abscisses, tandis que la variable dépendante (celle dont la valeur dépend de la variable indépendante) est placée en ordonnée. Les diagrammes de dispersion permettent d'évaluer quantitativement le rapport entre les deux variables.

B- Présentation

I- Mise en page

Composez votre document en considérant la taille, la position et l'orientation du graphique. Typiquement un graphique occupe les 2/3 supérieurs de la page alors que le 1/3 inférieur est réservé à la légende d'une page en orientation « portrait ».

II- Le rapport données / encre

Le rapport données / encre insiste sur l'importance des données par rapport aux autres éléments du graphique, et donc le côté « minimaliste » du graphique. Ce rapport doit être le plus **haut** possible en réduisant la quantité d'encre qui n'est pas reliée aux données (grilles, encadrements et texte superflus).

III- Données

1. Symboles

- Utilisez des symboles clairement visibles pour représenter les données. Par exemple, les cercles, les carrés ou les triangles vides ou remplis sont adéquats. Les symboles de données doivent être discernables de la courbe qui les relie ou des barres d'erreur (si présentes). Néanmoins, les symboles ne doivent pas être trop gros et aller à l'encontre du rapport données/encre.
- Les étiquettes (« labels ») des axes doivent être précises et brèves.
- Lorsque plusieurs points de données se superposent, vous devez indiquer le nombre de points superposés, soit en utilisant des symboles, soit en indiquant le nombre de points superposés à proximité du point lui-même (en format « exposant », par exemple).
- Si vous tracez plus d'une série de données si vous utilisez plusieurs types de symboles

sur votre graphique (couleurs, différentes formes), vous devez ajouter une clé des symboles. Placez celle-ci à l'intérieur de la zone de traçage (voir ci-dessous) dans un espace dépourvu de données. Si ce n'est pas possible, placez la clé des symboles directement au-dessus ou à droite de votre graphique.

2. Rectangle des données / zone de traçage

La zone de traçage est un rectangle *imaginaire* qui contient tous les symboles de données (points et barres d'erreur). Plus la zone de traçage est grande, plus les données seront faciles à lire (voir aussi mise en page). La zone de traçage ne doit pas être représentée. Elle ne sert que de guide pour produire votre graphique.

3. Échelle des axes

- Pour chacun des axes, choisissez une échelle appropriée afin que les données occupent la majeure partie de votre graphique (voir aussi mise en page).
- Choisissez un intervalle des valeurs qui englobe toute l'étendue des données (y compris les barres d'erreur, si présentes).
- Ajoutez trois à cinq **divisions** sur les axes quantitatifs. Les deux extrémités des axes doivent porter une marque de division. Ces divisions doivent être espacées régulièrement et représenter toute l'étendue des données.
- Le nombre de division n'est pas limité sur les axes non-quantitatifs (placez une division par catégorie).
- Les marques de division doivent pointer à l'extérieur des axes (hors de la zone de traçage) afin de ne pas masquer les données.
- Toutes les marques de division doivent comporter une étiquette indiquant la valeur sur l'axe ou le nom de la catégorie qu'ils représentent.
- Si les données s'étendent sur une très grande gamme de valeurs, vous pouvez convertir un ou les deux axes en une échelle logarithmique. L'effet majeur d'une conversion logarithmique est une compression de la partie supérieure de l'échelle par rapport à la partie inférieure.

4. Identification des axes (étiquettes) :

- L'identification des axes doit être adaptée aux variables présentées. Vous devez indiquer les unités entre parenthèse après le texte de l'étiquette.
- N'utilisez que des abréviations SI (système international, voir annexe) pour les unités.
- Si vous utilisez les logarithmes, assurez-vous que l'identification des axes correspond aux unités utilisées pour identifier les divisions des axes.

5. Barres d'erreurs

- Si vous tracez des moyennes, il faut indiquer les barres d'erreurs. Ces barres peuvent être l'écart type, l'erreur type ou l'intervalle de confiance (95%).
- Les barres d'erreurs doivent être moins visibles que les symboles des données.
- Dans le cas d'un graphique à barres, présentez seulement les barres d'erreurs au-dessus des barres de donnée.

6. Légende

Tout graphique doit comporter une légende. Placez-la directement en dessous du graphique.

6.1. Que dois-je mettre dans ma légende?

- Une légende commence toujours avec un numéro de graphique (p. ex. Figure 1. ou Graphique 1.)
- La première phrase de la légende doit être un titre complet et précis. L'information portée sur les 2 axes doit être présente. De même, le nom complet de l'organisme étudié doit y figurer (voir nomenclature binominale).
- Le texte de la légende doit être suffisamment détaillé pour expliquer comment les données ont été rassemblées et analysées.
- Si plusieurs observations ont été regroupées, ou si une moyenne est représentée, la taille de l'échantillon doit être indiquée (par ex. n=30).
- Si vous avez utilisé différents symboles sur votre graphique, vous devez les expliquer. Vous pouvez les expliquer : soit directement dans la légende (si vous avez 2 symboles uniquement), soit dans une clé des symboles placée dans un espace vide de l'intérieur de la zone de traçage (voir Symboles).
- Assurez-vous que la légende soit complète et informative.
- Ne décrivez pas les tendances de vos données. Le graphe est juste au-dessus et il parle par lui-même.

6.2. Nomenclature binominale des organismes

En plus du nom courant qui est lui est attribué, chacun des organismes possède également un nom unique basé sur les relations phylogénétiques qu'il partage avec tous les autres organismes. La façon la plus précise de nommer un organisme est d'utiliser la nomenclature dite **binominale** qui a été introduite au 18^{ème} siècle par le biologiste suédois Linné. Cette nomenclature indique le **genre** et l'**espèce**, qui sont les caractéristiques les plus spécifiques dans la hiérarchie des désignations d'un organisme. Les règles typographiques de cette nomenclature imposent que le **genre** soit écrit avec **une majuscule** et l'**espèce en minuscule** alors que les **deux noms sont inscrits en italique** (ou soulignés lorsqu'écrits à la main). Par exemple, le chien (nom courant) est désigné par *Canis domesticus* ou Canis domesticus.

6.3. Explication des données présentées sur le graphique :

- Si vous présentez les moyennes il faut le dire.
- Si vous avez transformé les données, il faut indiquer le type de transformation utilisé.
- Expliquez clairement les barres d'erreurs. Vous pouvez utiliser une des phrases suivantes :
Moyenne ± écart type
Moyenne ± erreur type de la moyenne
Moyenne ± l'intervalle de confiance à 95%.

C- Exemple de graphique :

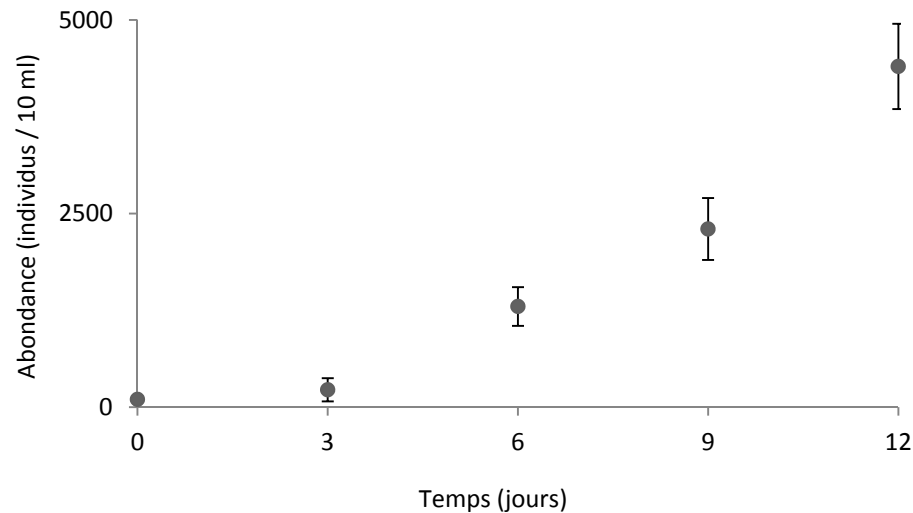


Figure 1: Croissance d'une population de *Paramecium aurelia* à 20°C dans une solution stérile de peptone protéolysée (1% masse/vol.) au cours du temps. Les moyennes (\pm erreur type) de 20 mesures sont présentées.

D- À propos des variables

La variable indépendante varie sans être influencée par la variable dépendante. Elle est en générale fixée par l'observateur, et est toujours portée sur l'axe X d'une graphique (ex. : catégories, temps, etc...).

La variable dépendante représente le facteur qui varie en fonction de la variable indépendante, et doit être portée sur l'axe des Y (ex. abondance dans le graphique de la figure 1 présenté ci-dessus).

E- Critères d'évaluation

Les critères suivants seront pris en compte pour l'évaluation de votre graphique (liste non exhaustive) :

Présentation : Type de graphique, rapport données / encre, mise en page, clarté et propreté

Données : Symboles, barres d'erreur, échelle, unités et étiquette des axes

Légende : Description, nomenclature, taille de l'échantillon

Vous devez tracer tous vos graphiques **à la main** sur du **papier millimétré**.

Vérifiez que chacun des éléments de votre graphique suit les règles énoncées dans cette annexe.

Références:

Cleveland, W.S. (1994). The elements of graphing data - 2^{nde} édition Hobart Press, Summit, Nj

Davis, P. (1974). Science in geography 3, data description and presentation - Oxford University Press, London, R-U.

Reynolds, L. and Simmonds, D. (1981). Presentation of data in science - Martinus Nijhoff Publishers, Boston, Ma.

Unités et préfixes SI (*systeme international*)

Unités SI de base :

Longueur: mètre (m)

Masse: kilogramme (kg)

Temps: seconde (s)

Courant électrique: ampère (A)

Température thermodynamique: kelvin (K)

Quantité de substance: mole (mol)

Intensité lumineuse: candela (cd)

Préfixes SI :

Préfixe SI	Symbole	Valeur décimale	10^x
pico-	p	0.000000000001	10^{-12}
nano-	n	0.000000001	10^{-9}
micro-	μ	0.000001	10^{-6}
milli-	m	0.001	10^{-3}
centi-	c	0.01	10^{-2}
deci-	d	0.1	10^{-1}
(no prefix)		1	10^0
deca-	da	10	10^1
hecto-	h	100	10^2
kilo-	k	1,000	10^3
mega-	M	1,000,000	10^6
giga-	G	1,000,000,000	10^9
tera-	T	1,000,000,000,000	10^{12}

Adapté à partir de Let's get ready for biology – Pearson Benjamin Cummings ©2005-2007

La convention de la langue française veut que l'on utilise la virgule pour séparer les décimales et un espace pour séparer les groupes de 3 chiffres. Néanmoins l'usage du point pour indiquer les décimales est toléré si celui-ci est constant dans tout le document.

Unités non-SI parfois utilisées :

Le litre (l) comme nom particulier du dm^3 , pour la mesure du volume.

L'Angstrom (\AA) comme nom particulier de 10^{-10}m (100pm). Ne devrait pas être utilisé.

Minute (min : 60s), heure (h : 3600s), jour (d : 86400s) pour la quantité de temps. Ces unités utilisées pour des raisons de culture humaines et sont acceptables.

Degré Celsius ($^{\circ}\text{C}$) pour la température thermodynamique (température $^{\circ}\text{C}$ = température (K) -273.15)

Références:

Préfixes: http://www.bipm.org/fr/si/si_brochure/chapter3/prefixes.html

Unités de base: http://www.bipm.org/fr/si/base_units/

Préparation d'un tableau

Utilisez un tableau lorsque vous voulez:

- Présenter des valeurs numériques précises
- Présenter une petite série de données
- Faire plusieurs comparaisons
- Énumérer les caractéristiques de plusieurs listes d'éléments

Principes généraux de la construction d'un tableau

1. Un tableau doit communiquer le plus d'information possible, de façon cohérente et en utilisant le moins d'espace possible.
2. Un tableau doit se suffire à lui-même et être compréhensible sans avoir à consulter le texte de l'article ou de votre rapport.
3. Avant de construire un tableau, il faut se poser la question suivante, "Quels renseignements le lecteur possède-t-il, et que recherche-t-il dans un tableau?"
4. Les titres des lignes et des colonnes doivent claires et diriger le lecteur vers les données du tableau (le *cœur* du tableau).
5. La présentation du tableau doit privilégier la simplicité et la clarté.
6. Présentez les renseignements dans une séquence reflétant le sens de lecture, c'est-à-dire, de gauche à droite et de haut en bas.
7. Présentez les éléments à comparer verticalement et les critères de comparaison horizontalement.
8. Présentez des données complètes. Par exemple, le lecteur ne devrait pas avoir à additionner deux valeurs pour obtenir une troisième qui ne figure pas dans le tableau.
9. Un tableau possède trois composantes: 1) une légende, 2) les titres des lignes et des colonnes et 3) le cœur qui contient les données.
10. Utilisez des lignes horizontales pour séparer les composantes d'un tableau. N'utilisez jamais de lignes verticales.
11. Les éléments voisins sont perçus comme ayant un rapport plus proche que ceux qui sont éloignés l'un de l'autre. Ainsi, il faut considérer avec précaution l'ordre dans lequel les données sont placées dans le tableau. Les rangées de données peuvent être regroupées, et les groupes séparés par des espaces.

Composantes d'un tableau :

I- Légende:

1. Est située au-dessus du cœur du tableau
2. Commence avec le numéro du tableau, suivit d'un titre spécifique et significatif.
3. Identifiez et/ou expliquez les abréviations et les symboles non-standards.

II- Titres des lignes et des colonnes:

1. Mettez une majuscule sur le premier mot, les noms propres et les symboles.
2. Utilisez des espaces et/ou des lignes horizontales afin de séparer les titres. N'utilisez

jamais de lignes verticales.

3. Les titres doivent être brefs et indiquer clairement les données qui sont présentées.

4. Les titres par eux-mêmes doivent permettre de comprendre les données.

5. On peut utiliser des abréviations mais il faut les définir soit dans la légende, soit en utilisant des notes de bas de page.

III- Cœur du tableau:

1. Utilisez des espaces pour de séparer ou regrouper les rangées de données (évitez les lignes horizontales dans le cœur du tableau).

2. N'utilisez jamais de lignes verticales.

3. Présentez seulement les chiffres significatifs.

IV- Notes de « bas de page »:

1. En fait, ce sont des notes de « bas de tableau », car elles figurent directement sous le tableau et non pas en bas de la page.

2. Indiquez-y la signification des éléments annotés d'un symbole au format exposant (exemple^{a, 1, *}). Ces symboles peuvent désigner des abréviations, des données atypiques dans le cœur du tableau ou n'importe quel élément nécessitant une explication. Ils peuvent être placés dans la légende, dans les titres ou dans le cœur du tableau.

3. Dans les notes de bas de page, inscrivez la lettre, suivit d'une brève explication. Ne fournissez que les renseignements nécessaires à la compréhension de l'élément. Rangez les notes de bas de page en suivant l'ordre alphabétique ou numérique croissant.

Exemple:

Tableau 1. Longueur moyenne à la fourche^a de perchaudes (*Perca flavescens*) capturées dans le lac Charlotte entre 1987 et 1990. Le nombre d'échantillons est indiqué entre parenthèses après la moyenne et l'âge des individus exprimé en années.

Age	Longueur (mm)	
	Moyenne (N)	Étendue
0	31 (35)	25-40
1	42 (123)	27-72
2	65 (197)	52-76
3	75 (74)	64-86
4	94 (31)	83-104
5	113 (10)	101-123
6	205 (13)	180-216
7 ^b	264 (24)	234-278
8	275 (19)	257-297

^a *Fork length*: longueur mesurée du museau à l'extrémité du rayon central de la nageoire caudale.

^b À partir de cet âge les perchaudes s'alimentent seulement de petits poissons.

Dessin de spécimens en biologie

Un(e) étudiant(e) en biologie est fréquemment amené(e) à dessiner une préparation observée au microscope ou le résultat d'une dissection. Il y a trois raisons à cela. La première, et la plus importante, est que cela aide beaucoup à apprendre. Il est très facile de regarder un spécimen et de penser que l'on a vu tout ce qu'il y avait à voir. Mais ce n'est qu'après avoir examiné chaque courbe, chaque limite et chaque liaison entre des structures, comme on doit le faire pour réaliser un dessin, que l'on saisit vraiment le sujet. Deuxièmement, cela complète vos notes pour étudier et faire des comparaisons. Enfin, le(la) démonstrateur(trice) peut ainsi vérifier si vous comprenez bien le sujet et vous aider au besoin.

Le dessin scientifique ressemble davantage au dessin technique qu'au dessin artistique, et c'est une compétence qu'il faut acquérir.

Examinez attentivement votre spécimen avant de commencer à le dessiner, puis fréquemment pendant que vous faites le dessin. Dessinez à partir du spécimen, et uniquement ce que vous voyez. Ne faites pas une copie à partir d'un livre ou du travail d'un autre étudiant. La copie (le plagiat) va à l'encontre de l'objectif d'observation personnelle de ce cours de laboratoire. Les feuilles d'instructions et les ouvrages de référence peuvent servir de guide de ce que vous devez chercher, mais c'est votre spécimen qui constitue votre principale source d'information. Un autre dessin peut être inexact, mais votre spécimen est toujours bon! À mesure que vous représentez et annotez chaque élément, assurez-vous de bien savoir de quoi il s'agit, quelles sont ses fonctions, comment il est relié aux éléments voisins au point de vue anatomique et fonctionnel.

Vous devez vous procurer:

1. du papier blanc de bonne qualité (=épais) permettant d'effacer facilement.
2. un crayon à mine, de dureté **HB ou plus, bien aiguisé.**
3. une bonne gomme à effacer.

Instructions et critères d'évaluation

Mise en Page :

Position: Votre dessin doit se situer au centre. Ne dessinez que d'un seul côté de la feuille.

Taille: Il devrait occuper environ la moitié de la page (même taille que le dessin sur le « template »)

Cadre : Aucun cadre ne devrait être tracé autour de votre dessin.

Dessin

Lignes: les lignes doivent être **continues**, propres, claires et précises et faites avec un crayon à mine. Vous pouvez utiliser des lignes pointillées pour montrer les structures cachées au fond de l'organisme.

Remplissage: **aucun hachurage ni remplissage** des surfaces ne doit être représenté sur le dessin.

Détails et Contenu: Dessinez seulement un côté des structures paires (sauf si les détails d'une paire sont différents). N'utilisez pas de hachures, d'ombrage, de couleur ou d'encre dans vos dessins.

Proportions: Vous devez respecter les proportions entre les structures du spécimen dans votre dessin.

Étiquetage/ annotations:

Format des annotations : Vous pouvez annoter en suivant une séquence (A, B, C...), **ou mieux**, utiliser la ou les deux premières lettres de la structure à identifier : ov (ovary), te (testis).

Évitez d'écrire le nom de la structure au complet.

Taille des annotations : Typiquement la taille est 9-10pts sur un traitement de texte. A la main, cela représente environ 3mm de haut (caractères d'imprimerie). Les annotations doivent être clairement lisibles. Choisissez un style de caractères qui se détache clairement du fond du dessin.

Position des annotations et pointeurs : Autant que possible, disposez toutes les annotations sur le dessin, non sur le coté : Essayez de mettre les annotations directement sur les structures à désigner **si cela ne cache pas la structure**. Si nécessaire, s'il n'y a pas assez de place ou si la structure à désigner est très petite, utilisez un pointeur. Le pointeur devrait être une ligne. Le pointeur ne doit pas cacher une partie de votre dessin.

Exactitude: Les structures étiquetées doivent refléter les structures de l'organisme qui sont nettement visibles. On ne devrait pas dessiner les petites structures non étiquetées. Vous pouvez utiliser des accolades pour identifier les différentes régions d'un spécimen. Utilisez la liste des structures fournie dans les documents de laboratoire.

Échelle: Une barre d'échelle doit se trouver sur votre dessin. Placez-la dans le coin droit inférieur de votre dessin en indiquant la longueur représentée (par ex. 10µm).

Chaque dessin doit contenir une barre d'échelle.

Légende

Position: La légende doit commencer avec un numéro de figure et se situer en dessous du dessin.

Contenu: La légende doit être brève, descriptive et complète (incluant le nom scientifique de l'organisme ainsi que son sexe, âge et type de coupe s'il y a lieu). Décrivez la vue d'ensemble (dorsale, ventrale, etc.), la coupe (transversale, longitudinale, etc.) et le type de préparation (lame montée ou préparée, avec colorant, etc.). La première phrase est en fait le titre. **N'écrivez pas "Un dessin de"!**

La liste des abréviations utilisées doit être présentée à la fin de la légende et rangée en ordre alphabétique.

Exemple: Fig. 1 (a) Coupe transversale d'une tige d'une baie de sureau (*Sambuca canadensis*) à la fin de la première année de croissance. Notez les rayons du xylème qui passent à travers le cambium vasculaire et le xylème secondaire.