

---

## Mise en évidence d'une symbiose : les mycorhizes chez le plantain (lycée)

---

### OBJECTIF

Cette séance de TP s'intègre dans la partie Thème 1-A-2 Diversification génétique et diversification des êtres vivants. Dans cette partie il est demandé de mettre en évidence qu'une diversification des êtres vivants est aussi possible sans modification des génomes : par associations (dont symbioses) par exemple.

---

### MATÉRIEL UTILISÉ

- plantain mycorhizé
  - microscope
  - lame /lamelle
  - 3 pipettes.
  - pinces fines.
  - paire de ciseaux.
  - 2 tubes à essai / porte tube.
  - pince en bois.
  - bain-marie.
  - tamis.
  - bécher pour récupérer les déchets.
  - ballon pour récupérer les déchets.
  - solution de potasse (V = 30mL)
  - solution de bleu coton (V = 30 mL)
  - solution d'eau acidifiée (V = 60 mL)
  - eau distillée (compte-gouttes et pissette).
- 

### PROTOCOLE

#### Coloration et observation des mycorhizes.

- Laver précautionneusement les racines et prendre les plus jeunes, couper l'extrémité sur une longueur de 1-2 cm.
  - Les mettre dans un tube à essai avec la potasse à 10 %, et chauffer au bain-marie à 90°C durant 20 min. Cette opération détruit le contenu des cellules végétales et décolore les tanins des racines ligneuses. La solution devient alors brun-rouge quand l'opération est terminée.
  - Filtrer dans un tamis le contenu du tube à essai. Jeter la potasse et rincer les racines avec l'eau acidifiée.
  - Placer les racines rincées dans un nouveau tube à essai. Ajouter du bleu coton. Ce colorant met en évidence la présence de callose, un composant de la paroi des champignons.
  - Mettre le tube au bain marie 10 minutes.
  - Filtrer à nouveau dans un tamis et rincer à l'eau distillée.
  - Monter la racine entre lame et lamelle.
-

RÉSULTATS



1. Observation microscopique de cellules de plantain mycorhizé réalisée au microscope optique (X100)

Remarques :

Il est nécessaire de récolter le plantain dans un lieu non traité aux pesticides.

Pour que l'observation soit de qualité quelques conditions ont été indispensables :

Les racines doivent être très fines.

La décoloration dans la potasse doit au minimum durer 15 minutes, 20-25 minutes étant idéales.

CONCLUSION

Cette séance a été l'occasion de traiter un TP au format ECE en couplant la mise en évidence de la symbiose et l'étude de son effet sur la croissance de la plante. L'étude de la croissance ayant eu lieu pendant la décoloration qui est longue. Voir ci-après.

TP - les mycorhizes

Fiche sujet - candidat (10)

Mise en situation et recherche à mener	
<p>Les mycorhizes sont des organismes symbiotiques. La symbiose est une association d'organismes appartenant à des espèces différentes, durable et à bénéfice réciproque.</p> <p>Un agriculteur qui cultive des plants de basilic souhaite se convertir à l'agriculture biologique. Afin de limiter la baisse de rendement de ses cultures, un collègue lui suggère l'utilisation de mycorhizes.</p> <p>Afin de convaincre l'agriculteur vous montrerez que les mycorhizes sont constituées de l'association d'un champignon avec les racines d'une plante et que cette association favorise la croissance des plantes.</p>	
Ressources	
<p><b>Matériel envisageable :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• vivant : plants de basilic, champignons mycorhiziens, bords vivants appartenant à différentes espèces.</li> <li>• de laboratoire (verrerie, instruments, colorants ...)</li> <li>• de mesure (mètre, thermomètre, Azimuthe ...)</li> <li>• d'observation (microscope, loupe binoculaire ...)</li> <li>• informatique et acquisition numérique</li> </ul>	<p>Plant de basilic</p>
Etape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème	
<p>Proposer une stratégie de résolution réaliste permettant de montrer que :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- les mycorhizes sont constituées de l'association d'un champignon avec les racines d'une plante en observant la plante à différentes échelles</li> <li>- que cette association favorise la croissance des plantes en réalisant des mesures sur celle-ci.</li> </ul> <p>Appeler l'examinateur pour présenter oralement votre proposition et obtenir la suite du sujet.</p>	

<b>Etape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables</b>
<p>Mettre en œuvre le protocole d'observation microscopique (in ordine) fourni afin d'en identifier les deux composants de l'association végétale.</p> <p>Ouvrir et utiliser le fichier EXCEL montrant la croissance des plants de basilic avec et sans mycorhizes.</p> <p style="text-align: center;">Appeler l'examinateur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide.</p>
<b>Etape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer</b>
<p>Sous la forme de votre choix présenter et traiter les données brutes pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème.</p> <p style="text-align: center;">Répondre sur la fiche-réponse candidat, appeler l'examinateur pour vérification de votre production.</p>
<b>Etape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème</b>
<p>Exploiter les résultats pour montrer que du moins que mycorhizes sont constitués de l'association d'un champignon avec les racines d'une plante et que cette association favorise la croissance des plantes.</p> <p style="text-align: center;">Répondre sur la fiche-réponse candidat.</p>

<b>Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel</b>	
<p><b>Matériel biologique :</b> Plant de plantes mycorhizé.</p> <p><b>Matériel de laboratoire :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Microscopie</li> <li>- lame lamelle</li> <li>- 3 pipettes</li> <li>- pince fine</li> <li>- jaquette de travail</li> <li>- tube à essai / porte tube</li> <li>- pince en bois</li> <li>- bain marie</li> <li>- lantia</li> <li>- bécher pour récupérer les déchets</li> <li>- ballon pour récupérer les déchets</li> <li>- solution de potasse (V = 20ml)</li> <li>- solution de bleu de méthylène (V = 30 ml)</li> <li>- solution d'eau acidifiée (V = 80 ml)</li> <li>- eau distillée (permis-garde et jettée)</li> </ul> <p><b>Documents :</b> planche présentant des observations microscopiques d'individus appartenant à des espèces différentes.</p> <p>Fichier EXCEL montrant la croissance d'un basilic avec et sans mycorhizes.</p>	<p><b>Coloration et observation des mycorhizes.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Laver précausement les racines et prendre les plus jeunes, les couper à une longueur de 1-2 cm.</li> <li>• Les mettre dans un tube à essai avec le potasse 10 %, et chauffer au bain-marie 90°C durant 20 min. Cette opération déstabilise le contenu des cellules végétales et déstabilise les terribes des racines ligneuses. La solution devient alors brun-rouge quand l'opération est terminée.</li> <li>• Filtrer dans un filtre le contenu du tube à essai. Jeter la potasse et rincer les racines avec l'eau acidifiée.</li> <li>• Placer les racines rincées dans un nouveau tube à essai. Ajouter du bleu de méthylène. Ce colorant met en évidence la présence de cellules, un composant de la paroi des champignons.</li> <li>• Mettre le tube au bain marie 10 minutes.</li> <li>• Filtrer à nouveau dans un filtre et rincer à l'eau distillée.</li> <li>• Mixer la norme entre lantia et pince.</li> </ul> <p style="text-align: center;">Appeler l'examinateur à la fin de la manipulation pour vérification.</p> <p><b>Mise en évidence d'une amélioration de la croissance des plantes par les mycorhizes</b></p> <p>Ouvrir puis exploiter le fichier Excel afin de mettre en évidence une amélioration de la croissance des plantes en présence de mycorhizes.</p>
	
<p><b>Sécurité :</b> La potasse est un produit corrosif.</p>	

Référence bibliographique :

**Helme-Guizon A., Selosse M.-A. – Coloration des mycorhizes – Biologie-Géologie (Bulletin de l'APBG) 4 : 135-140, 2010.**

Marion Salah  
Professeure de SVT au lycée Lamarck, Albert