

TP 1: Le développement de l'embryon d'une Angiosperme dicotylédone au sein de la graine

Objectifs : Étudier, lors de la dissection de graines, les différentes parties constitutives et leur organisation. Analyser les documents montrant les stades de l'embryogenèse et de l'albuminogenèse.

I. Graines et développement embryonnaire

A. Dissection de graines : graines albuminées, exalbuminées et à périsperme

1. Les graines, organes de résistance et de dissémination

Propriétés communes des graines :

Les graines sont des structures résistantes mécaniquement, gorgées de réserves, qui abritent et protègent l'embryon principal. Ce zygote est l'ébauche du futur plant feuillé avec une tigelle et une gemmule (future tige) et une radicule (future racine). L'embryon principal est entouré de réserves, accumulées par développement de l'embryon accessoire qui forme l'albumen ou accumulées dans les cotylédons lorsque l'albumen a été digéré. En outre, l'embryon principal est protégé par les téguments rigides et imperméables de la graine. L'ensemble des cellules de la graine a un métabolisme ralenti, en particulier dû à la déshydratation régnant au sein de la graine, permettant d'attendre que les conditions de germination soient optimales. Les cellules de la graine sont en vie ralentie, en quiescence. En outre, la reprise du métabolisme ne peut avoir lieu qu'une fois les inhibitions de la graine levées. En effet, les graines présentent différents types de dormances (incapacités à germer déterminées par l'embryon lui-même et les téguments). Ainsi, les graines sont des semences très résistantes jouant un rôle dans la dissémination de l'espèce.

On se propose de disséquer et observer trois graines :

- La graine de Haricot *Phaseolus vulgaris* (Eudicotydélones : Fabacées), graine exalbuminée à réserves amylacées situées dans les cotylédons.
- Le grain de Ricin *Ricinus communis* (Eudicotydélones : Euphorbiacée), graine albuminée oléagineuse et protéagineuse.
- Le caryopse (graine + fruit [téguments soudés]) de Maïs *Zea mays* (Monocotylédones : Poacées), graine albuminée à réserves amylacées.

- La **dissection** peut se faire **avec les téguments** (mieux pour montrer toutes les structures en place) **ou après retrait des téguments** (plus facile pour réaliser une coupe longitudinale au bon endroit... mais privant d'une structure).
- **On peut (et idéalement on doit) réaliser une coupe longitudinale et une coupe transversale ; la coupe longitudinale suivra une ligne préférentielle (raphé, limites des cotylédons...) visible extérieurement. Vous pouvez vous aider d'une coloration au lugol pour localiser les réserves amylacées.**
- **Utilisez la loupe binoculaire pour les observations.**

a. Organisation de la graine de Haricot (exalbuminée, réserves amylacées)

L'observation externe d'une graine de haricot (*Phaseolus vulgaris*) permet de voir aisément le hile (ancienne zone de raccordement de l'ovule campylotrope au funicule), le micropyle (orifice laissé libre par les téguments de l'ovule) et la radicule qui forme une saillie dans les téguments de la graine (ligure).

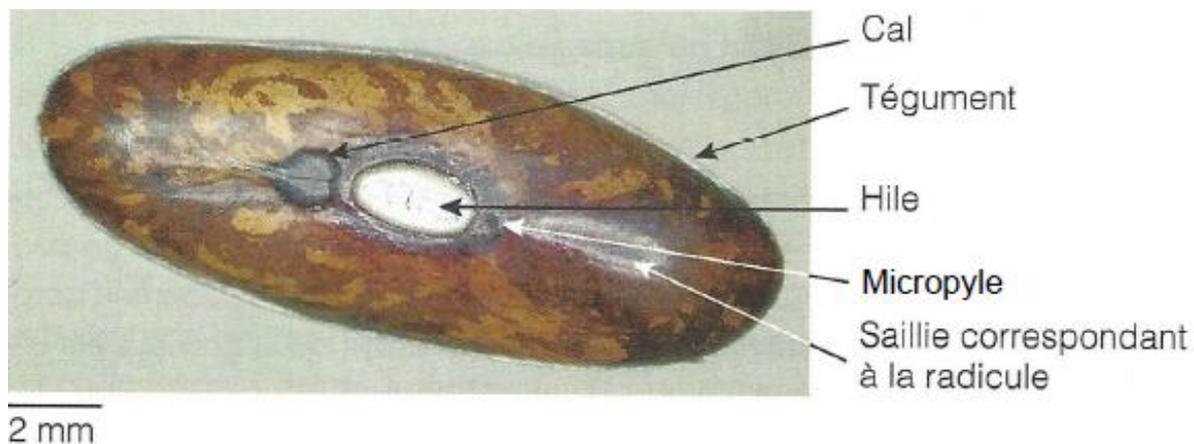
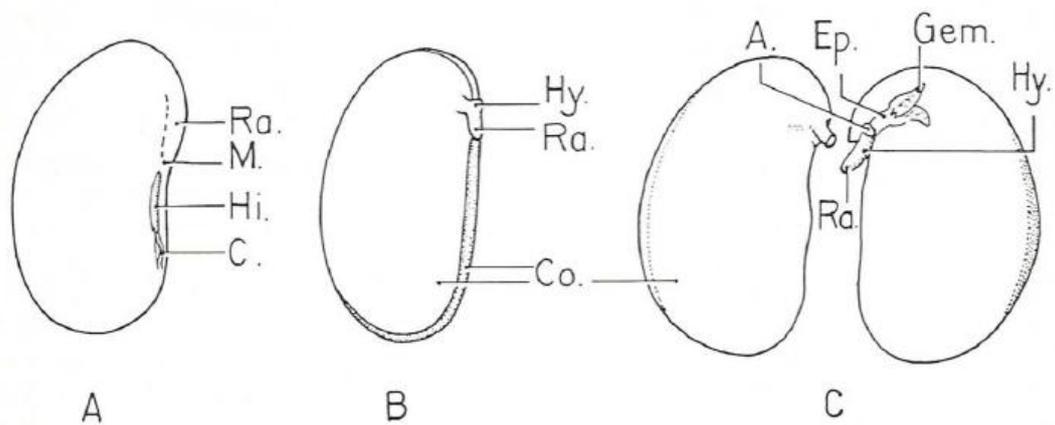


Figure 1: Vue externe d'une graine de haricot 2 mm.

La dissection d'une graine de haricot par ouverture selon le plan de symétrie met en évidence 2 cotylédons bien visibles qui remplissent la graine; limitée par les téguments. Les cotylédons sont hypertrophiés car gorgés de réserves principalement glucidiques sous forme d'amidon. En séparant les deux cotylédons, on observe un embryon bien visible avec radicule, hypocotyle, gemmule et les premières feuilles (figure 1).



Figure 2. Étude de la graine de Haricot.



Graine du Haricot.

A : graine entière ; B : plantule ; C : plantule dont un cotylédon a été séparé (A., attache d'un cotylédon ; C., cal ; Co., cotylédons ; Ep., épicotyle ; Gem., gemmule ; Hi., hile ; Hy., hypocotyle ; M., micropyle ; Ra., radicule).

Figure 3. Graine de Haricot.

Ainsi, on retrouve de façon externe et de façon interne les structures constitutives d'un ovule: ceci prouve que la graine dérive d'un ovule. Dans ce cas précis, il n'y a pas d'albumen, toutes les réserves sont dans les cotylédons, il s'agit d'une graine exalbuminée. Étant donné la présence de deux cotylédons, la graine de haricot est une graine de dicotylédone.

TABLEAU I. Graine de Haricot : éléments de diagnose.

Observations	Interprétations	Conclusions
- Organe largement tubérisé	Cela révèle la présence de réserves (→ organe de résistance , adapté au passage de la mauvaise saison)	donc une graine
Présence d'une plantule (radicule, tigelle, feuilles embryonnaires)	C'est un embryon (→ organe de développement et de dissémination) <i>Vocabulaire associé : tigelle (hypocotyle / épicotyle), radicule, gemmule, cotylédons</i>	
Présence d'une enveloppe protectrice (que l'on peut ici ôter)	Ce sont des téguments (→ organe de résistance , adapté au passage de la mauvaise saison)	
- Présence d'une cicatrice	C'est sans doute la cicatrice du funicule qui alimentait la graine = le hile	
Présence d'un orifice où le tégument s'amincit	C'est probablement le lieu de pénétration du tube pollinique lors de la fécondation = le micropyle	Cela confirme que c'est une graine
Les feuilles embryonnaires visibles sont très réduites et composent la gemmule (bourgeon embryonnaire)	Les « vraies » premières feuilles embryonnaires (= cotylédons) ont donc probablement été modifiées et tubérisées → les réserves sont donc cotylédonaires .	C'est une graine exalbuminée
Présence de deux cotylédons	L' albumen semble avoir été résorbé lors du développement embryonnaire	C'est une graine de 'dicotylédone'
- La coloration au lugol (pensez à gratter un peu) révèle la présence d'amidon - Le montage de prélèvement de cotylédons entre lame et lamelle permet d'observer, en coloration au lugol , des amyloplast		Les réserves sont de nature amylacée

b. Organisation de la graine de Ricin (albuminée, réserves protéolipidiques)



Figure 4. Étude de la graine de Ricin : vue externe.

La dissection d'une graine de ricin par sections longitudinales frontale et sagittale met en évidence deux cotylédons (graine d'une angiosperme dicotylédone) très fins présentant des nervures telle une feuille, on parle de cotylédons feuillés (figure 4). La majeure partie du volume cellulaire est occupée par l'albumen gorgé de réserves majoritairement lipidiques et protéiques qui serviront lors de la germination de la graine, c'est une **graine albuminée**.

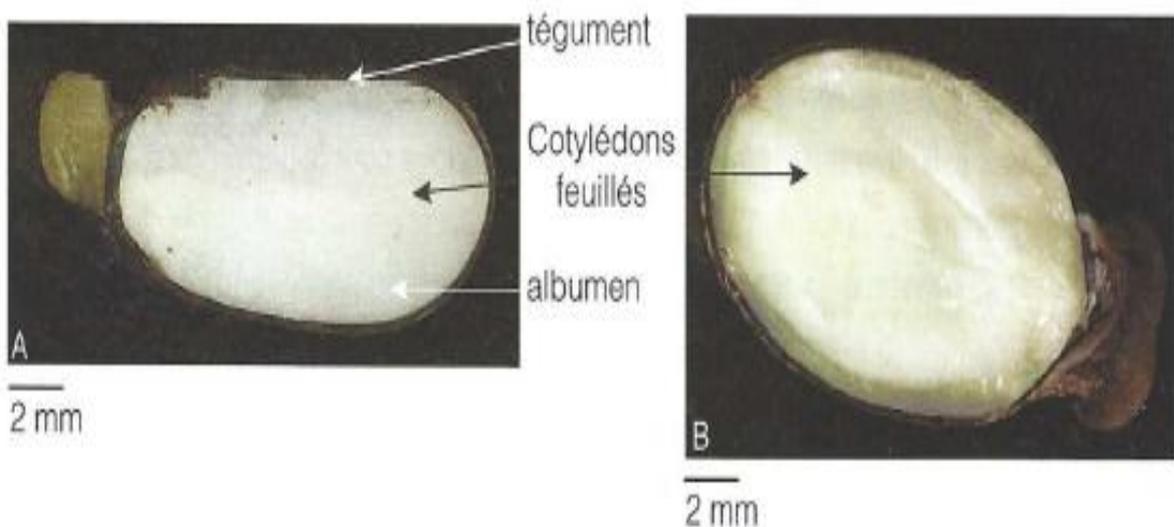
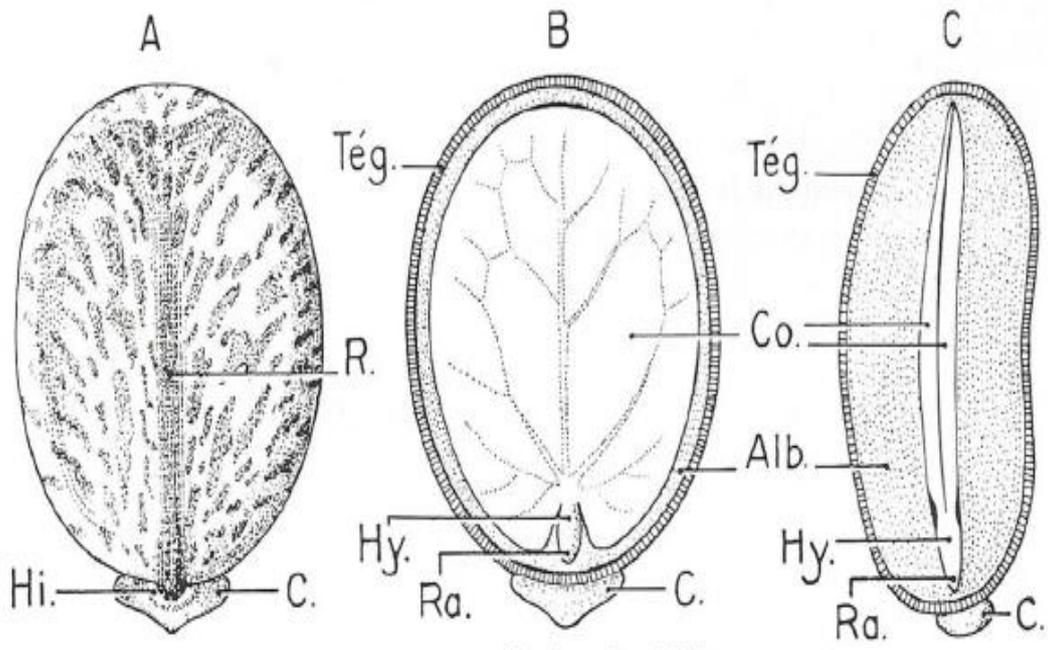


Figure 5. Étude de la graine de Ricin : dissection.



Graine du Ricin.

A : entière ; B et C : coupes longitudinales. (Alb., albumen ; C., caroncule ; Co., cotylédons ; Hi., hile ; Hy., hypocotyle ; R., raphé ; Ra., radicule ; Tég., téguments).

Figure 6. Graine de Ricin.



Figure 7. Graine de Ricin coupée longitudinalement entre les cotylédons.

TABLEAU II. Graine de Ricin : éléments de diagnose.

Observations	Interprétations	Conclusions
- Organe largement tubérisé	Cela révèle la présence de réserves (→ organe de résistance , adapté au passage de la mauvaise saison) <i>NB Déshydratation → Vie ralentie</i>	C'est donc une graine
- Présence d'une plantule (radicule , tigelle peu visible, feuilles embryonnaires bien nettes = cotylédons)	C'est un embryon (→ organe de développement et de dissémination)	
- Présence d'une enveloppe protectrice (que l'on peut ici ôter)	Ce sont des téguments (→ organe de résistance , adapté au passage de la mauvaise saison)	
- Présence d'une cicatrice	C'est sans doute la cicatrice du funicule qui alimentait la graine = le hile	Cela confirme que c'est une graine
- Présence d'une excroissance charnue	C'est un caroncule , excroissance typique de certaines graines qui recouvre le micropyle	
- Présence bien nette de lignes fines et droites sur la graine	C'est probablement la trace externe de la vascularisation de la graine = le raphé	
- Proximité entre hile et micropyle (cf. caroncule !) - Présence visible du raphé [- Aspect droit de l' embryon]		La graine dérive sans doute d'un ovule anatrope
- Les feuilles embryonnaires visibles sont très développées et d'allure nettement foliacée (limbe , nervation)	Les « vraies » premières feuilles embryonnaires (= cotylédons) sont conservées → les réserves ne sont donc pas cotylédonaires .	C'est une graine albuminée
- Le tissu de réserve alentour est donc d'une autre nature	L' albumen semble avoir été conservé et hypertrophié lors du développement embryonnaire	
- Présence de deux cotylédons		C'est une graine de ' dicotylédone '
- Le montage entre lame et lamelle d' albumen révèle des gouttelettes lipidiques non miscible avec l' eau (si montage en rouge Soudan III : formation de gouttes orangées) - Le montage révèle aussi structures cristallisées transparentes présentant un ou plusieurs petits cercles en leur sein (globoïdes) → ce sont sans doute des grains d'aleurone (cf. TP B8)		Les réserves sont donc de nature lipidique et protéique

c. Organisation du caryopse de Maïs (albuminée, réserves amylacées – et protéiques)

Il s'agit d'un fruit (on note une trace du style parfois observable) dont les téguments (péricarpe) sont soudés à ceux de la graine. La zone plus claire (écusson) correspond à la localisation de l'embryon dans le caryopse (figure 8).

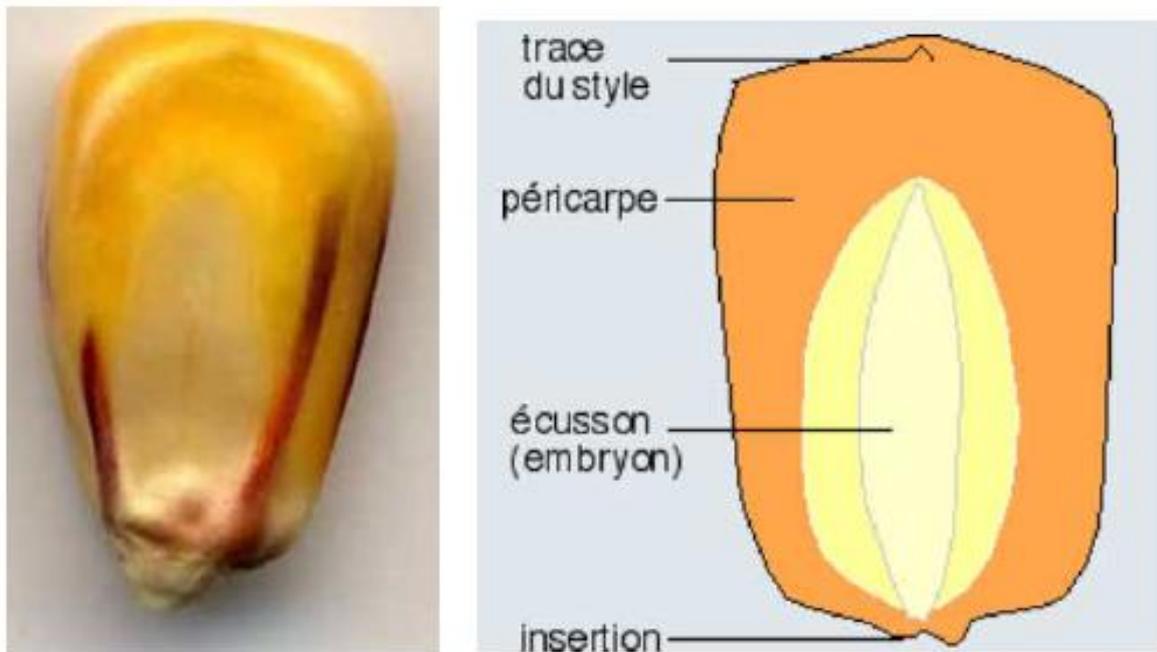


Figure 8. Vue externe du caryopse de Maïs.

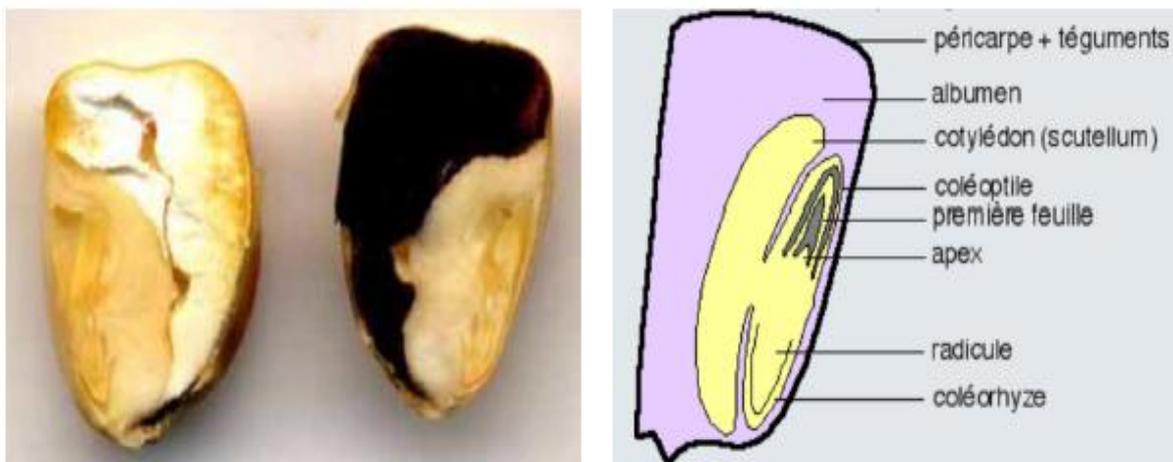


Figure 9. Caryopse de Maïs coupé longitudinalement sagittalement [cliché au centre : coloration au lugol].

Au niveau interne (figures 9-10), on constate un **albumen développé** où sont localisées les **réserves amylacées**. L'embryon comprend un **cotylédon volumineux et transformé chez les Poacées qui ne donnera pas de feuille fonctionnelle et contient des enzymes qui serviront à la digestion de l'albumen lors de la germination (scutellum)** ; à côté, on trouve le **reste de l'embryon** où l'on observe une **tigelle engainante nommée coléoptile** et une **gaine entourant la racicule nommée coléorhize**.

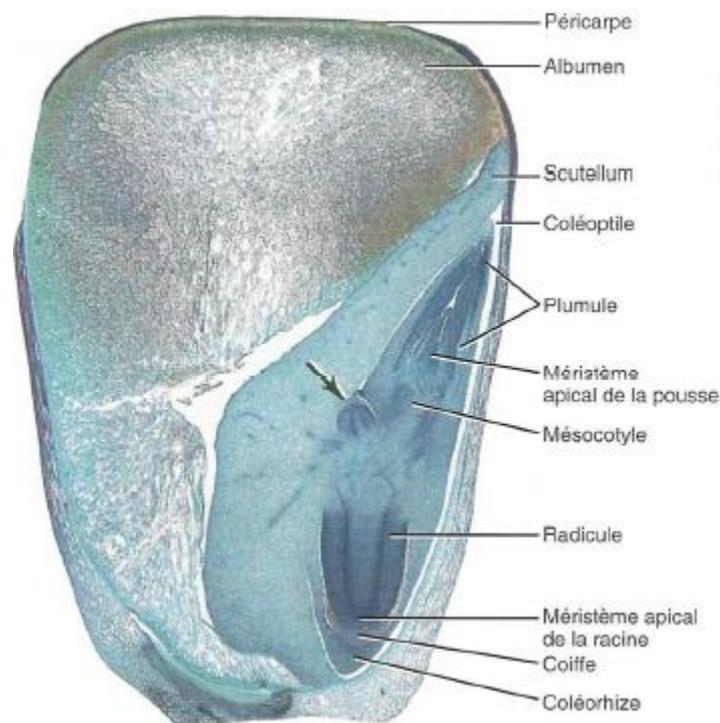


Figure 10. Coupe de caryopse de Maïs au microscope optique.

TABLEAU III. Grain (caryopse) de Maïs : éléments de diagnose.

Observations	Interprétations	Conclusions
- Organe des restes de pièces stériles (glumelles) et une trace cicatricielle du style	Cet organe dérive donc d'un ovaire	C'est donc un fruit
Le tégument (péricarpe) est sec (→ organe de résistance et possiblement de dissémination) et ne montre pas de zone préférentielle de rupture		C'est donc un fruit sec indéhiscent
- Organe largement tubérisé	Cela révèle la présence de réserves (→ organe de résistance , adapté au passage de la mauvaise saison) <i>NB Déshydratation → Vie ralentie</i>	C'est donc une graine
- Présence d'une plantule <i>NB Cotylédon à forme particulière : scutellum = écusson</i>	C'est un embryon (→ organe de développement) <i>Vocabulaire particulier ici : coléoptile, coléorhize</i>	
- Présence d'une enveloppe protectrice soudée au péricarpe	Graine unique dans un fruit sec avec téguments soudés >>>>>>	Cela confirme que c'est un caryopse
- En plus du cotylédon , on trouve un tissu de réserve bien net	Ce tissu de réserve est l' albumen	C'est une graine albuminée
- Présence d'un seul cotylédon		C'est une graine de Monocotylédone
- La coloration au lugol (pensez à gratter un peu) révèle la présence d'amidon - Le montage de prélèvement de cotylédons entre lame et lamelle permet d'observer, en coloration au lugol , des amyloplast s (cf. TP B8) <i>- Les réserves protéiques sont ici difficiles à montrer.</i>		Les réserves sont de nature surtout amylacée [mais aussi protéique : gluten]

B. Étude micrographique de l'embryogenèse et de l'albuminogenèse



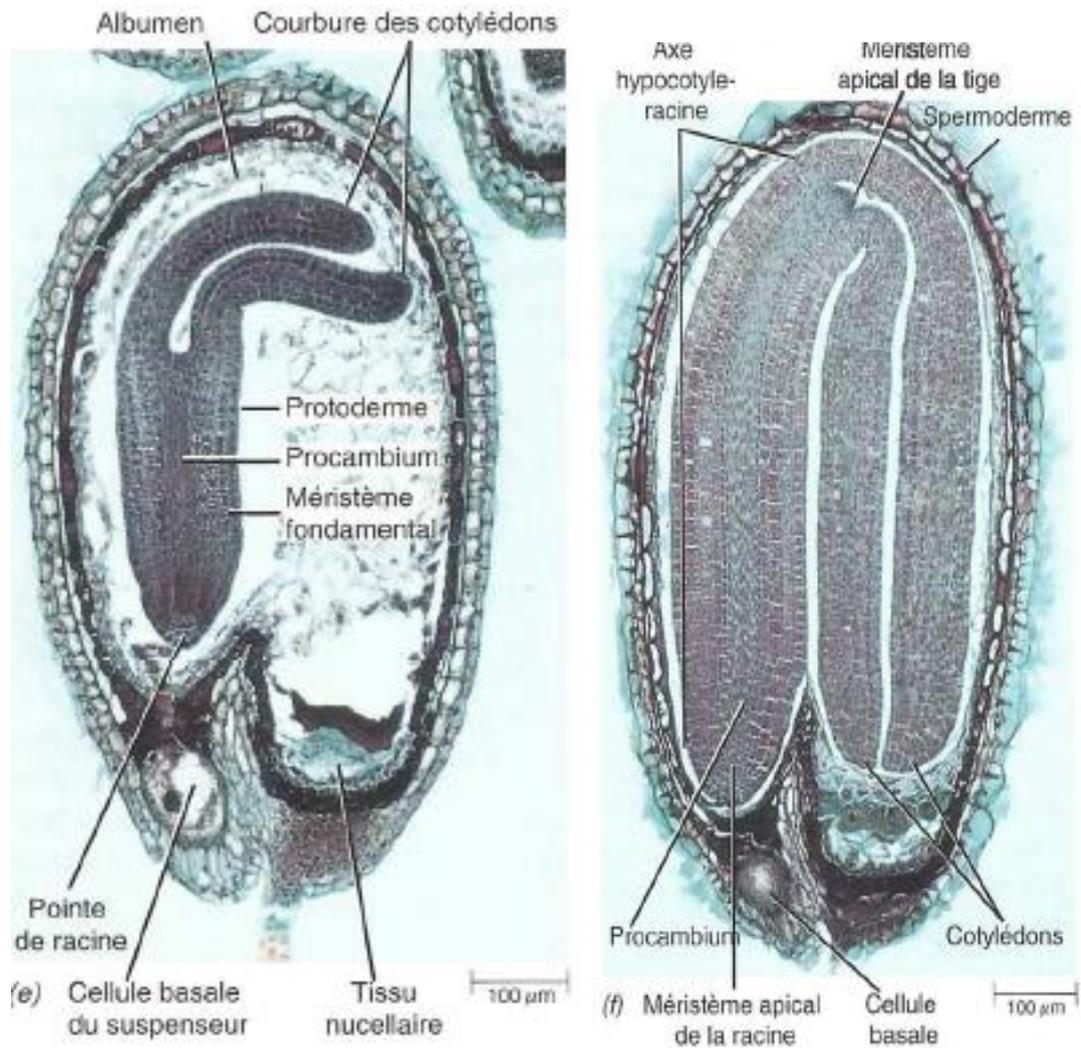


FIGURE 11. Embryogenèse (et albuminogénèse) chez la Capselle (Brassicacée).

Développement de l'embryon de la bourse-à-pasteur (*Capsella bursa-pastoris*), une dicotylée au sens strict.

- (a) Stade bicellulaire, après la division transversale du zygote en une cellule apicale et une basale.
- (b) Proembryon à six cellules. Le suspenseur est maintenant distinct des deux cellules terminales, qui vont donner l'embryon proprement dit. L'albumen alimente l'embryon en développement.

- (c) L'embryon proprement dit est globulaire et possède un protoderme, qui donnera l'épiderme. La grande cellule inférieure est la cellule basale du suspenseur.
- (d) Embryon au stade cordiforme, lorsque les cotylédons, premières feuilles de la plante, commencent à s'allonger.
- (e) Embryon au stade torpille. Chez *Capsella*, l'embryon se recourbe. Le méristème fondamental, précurseur du tissu fondamental, entoure le procambium qui se différenciera en tissus conducteurs, xylème et phloème.
- (f) Embryon mûr. La partie de l'embryon située sous les cotylédons est l'hypocotyle. À la partie inférieure de l'hypocotyle se trouve la racine embryonnaire ou radicule.