

# Physiologie Végétale



SCIENCES DE LA  
VIE



## Shop



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



## Etudier



Visiter [Biologie Maroc](http://www.biologie-maroc.com) pour étudier et passer des QUIZ et QCM en ligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.



## Emploi



- CV • Lettres de motivation • Demandes...
- Offres d'emploi
- Offres de stage & PFE



# Travaux Pratiques Physiologie Végétale (S4)

**Filière : SVI**

**Séance 1 : Lois et conséquences des équilibres hydriques au niveau cellulaire**

Pr. Mohammed L'bachir EL KBIACH  
Département de Biologie, Faculté des Sciences, Tétouan

- Faculté des Sciences Tétouan
- Université Abdelmalek Essaâdi

2019 -2020

# T.P. 1

## Lois et conséquences des équilibres hydriques au niveau cellulaire

La manipulation a pour but la description du comportement mécanique de la cellule végétale face à la disponibilité en eau du milieu. La rigueur de la méthode permettra même de calculer facilement, sans les mesurer réellement, les pressions osmotiques et les turgescences correspondantes, à partir de quoi l'on pourra interpréter, préciser et quantifier physiologiquement les importantes distinctions agro-écologiques relatives à la résistance, à la sécheresse et à la salinité.

La considération de la seule pression osmotique du suc vacuolaire ne peut pas donner une idée exacte de l'aptitude de la cellule à absorber de l'eau. Il faut tenir compte de la pression fournie par la paroi squelettique sur le contenu vivant de la cellule. Soit une cellule à l'état de **plasmolyse limite commencent**, le cytoplasme commence à se décoller de la membrane et à ce moment la pression élastique de cette membrane est nulle.

Si la cellule est alors plongée dans de l'eau pure, cette eau va pénétrer dans la cellule, le contenu vacuolaire augmente de volume et applique le cytoplasme contre la membrane qui s'étire.

Dès que la cellule entre dans un état de turgescence, la pression osmotique ( $\pi$ ) du suc vacuolaire tend à faire pénétrer de l'eau dans la cellule. Par contre la pression membranaire "**Pm**" tend à empêcher l'augmentation de volume de la vacuole donc l'entrée de l'eau. La résultante de ces 2 pressions, à effets opposés, est la pression exacte qui règne et qui va régler l'entrée de l'eau dans la cellule. On appelle "Succion" cette résultante : **Succion (S) =  $\pi - Pm$**

## PROTOCOLE EXPERIMENTAL

### A- Détermination pondérale de la quantité d'eau échangée par passage d'une succion à une autre en situation d'hémiperméabilité.

#### 1- Préparation des solutions de différentes succions

Disposer une première série A de 14 pots de 250 ml et les numéroter : 0,00 - 0,10 - 0,20 - 0,30 - 0,40 - 0,45 - 0,50 - 0,55 - 0,60 - 0,65 - 0,70 - 0,75 - 0,80 - 0,90 M (**tableau 1**).

Disposer, une deuxième série B de 7 verres de montre et les numéroter : 0,00 - 0,50 - 0,55 - 0,60 - 0,65 - 0,70 - 0,90 M. Préparer 100 ml de solution de saccharose pour chaque concentration ci-dessus, suivant le **tableau 1** que l'on répartira à raison de 5 ml dans les verres de montre de la série C, 30 ml dans les pots de la série B et le reste dans les pots de la série A (**noter par un thermomètre la température de la solution**).

#### 2- Préparation, pesée initiale, immersion des morceaux

Pour découper les morceaux, commencez par couper en deux le tubercule en passant par son axe. Puis découper chaque moitié en tranches.

Préparer au moins 100 morceaux des tubercules de Betterave rouge. Au fur et à mesure qu'ils sont découpés, il est très important de les enfermer aussitôt dans une boîte, pour éviter leur dessèchement. Dans une autre boîte on conservera de la même façon les restes de tubercule, utiles pour la suite.

Prélever au hasard **5 morceaux**, les rincer rapidement dans l'eau distillée, les tamponner doucement entre 4 épaisseurs de papier Joseph, les empiler et les peser ensemble, rapidement au centigramme près, noter leur poids P en face de la concentration 0,00 M sur le **tableau 2**, et les plonger aussitôt dans la solution correspondante. Répéter l'opération pour les 14 concentrations. Noter l'heure au début car l'expérience durera **2 heures**.

**Tableau 1** : Préparation des solutions de saccharose pour la détermination pondérale des quantités d'eau échangées (série A), et l'étude des variations des figures cellulaires (série B).

Concentration en saccharose (M)	0,00	0,10	0,20	0,30	0,40	0,45	0,50	0,55	0,60	0,65	0,70	0,75	0,80	0,90
Volume de saccharose (ml)	0	10	20	30	40	45	50	55	60	65	70	75	80	90
Volume d'eau distillée (ml)	100	90	80	70	60	55	50	45	40	35	30	25	20	10
<b>Série A (ml)</b>	95	100	100	100	100	100	95	95	95	95	95	100	100	95
<b>Série B (ml)</b>	5						5	5	5	5	5			5

Série A = Détermination pondérale des quantités d'eau échangées (5 morceaux de Betterave par pot).

Série B = Etude des variations des figures cellulaires par microscopie (5 coupes fines par verre de montre).

### 3- Détermination de Ei : teneur en eau initiale

Répartir 15 morceaux en 3 lots de 5 morceaux, et peser chaque lot pour déterminer le poids frais initial (Pfi), les placer dans des papiers d'aluminium à 120°C à l'étuve, pour déterminer leur poids sec initial (PSi), après un délai minimum de **2 h 30 minutes**.

La quantité d'eau initiale Ei (morceaux de Betterave) = Pfi - PSi

### 4- Emersion, pesée finale des morceaux

A l'équilibre, soit au moins après 2 heures, sortir successivement les morceaux de chaque bain (de chaque concentration, série A de 14 pots), tamponner entre deux papiers Joseph, les empiler et les peser comme précédemment et noter leur poids final P' sur le **tableau 2** ci-dessous.

**Tableau 2** : Détermination Pondérale des quantités d'eau échangées (série A).

Concentration saccharose (M)	Pression osmotique ( $\pi$ en atm.)	Poids frais initial (P)	Poids frais final (P')	$\Delta P = \frac{P_f - P_i}{P_i} \cdot 100$	<b>E(%)=Ei (%) + <math>\Delta P</math></b>
0,00					
0,10					
0,20					
0,30					
0,40					
0,45					
0,50					
0,55					
0,60					
0,65					
0,70					
0,75					
0,80					
0,90					

$E_i$  (%) = quantité d'eau (en gramme) **initialement** contenue dans les morceaux de Betterave de poids frais initial **100 grammes**.

$E$  (%) = quantité d'eau (en gramme) contenue, à chaque concentration de saccharose, pour des morceaux de Betterave de poids frais initial **100 grammes**.

**B- Observation des diverses figures cellulaires en fonction de la succion et détermination microscopique de la succion provoquant la plasmolyse limite**

1- Confection de coupes convenables

Dans les parties colorées (rose à rouge) des restes de tubercules (parenchyme pur), découper des languettes obliques que l'on placera entre deux demi-cylindre de moelle de sureau non évidés, de façon à confectionner des coupes minces. L'épaisseur des coupes doit contenir une seule couche de cellules intactes.

Avant d'effectuer les coupes qui seront réellement utilisées, il est donc absolument indispensable de s'entraîner à produire des coupes convenables que l'on vérifie au microscope.

2- Répartition des coupes minces

Exécuter alors 7 coupes sur une même languette et les répartir dans les 7 verres de montres contenant les solutions 0,00 - 0,50 - 0,55 - 0,60 - 0,65 - 0,70 - 0,90 M. Répéter l'opération avec une 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> languette : il y aura alors 5 coupes minces par verre, dont on espère que l'une au moins sera bien fine et satisfaisante : les observations devront se faire après un délai minimum **d'une heure** après l'immersion des dernières. On compare d'abord les 2 concentrations extrêmes : 0,00 M et 0,90 M pour bien distinguer la turgescence de la plasmolyse, puis les autres dans un ordre quelconque. Pour ce faire, monter un fragment entre lame et lamelle, **dans une goutte de la solution où se trouvait ce fragment**. Rechercher la solution qui provoque un début de plasmolyse (DP) = Plasmolyse limite.

Saccharose (M)	0,00	0,50	0,55	0,60	0,65	0,70	0,90
Pour chaque concentration, noter l'aspect de la cellule : (P, DP ou T).	T		DP	DP			P

P = plasmolyse

DP = début de plasmolyse

T = turgescence

Le suc vacuolaire présente une pression osmotique ( $\pi$ ) qui est comprise entre celles de cette solution et de la solution de concentration inférieure.

- Sachant que  $\pi$  (en atmosphère) =  $RCT(^{\circ}K) = RC(273+T^{\circ}C)$

- Sachant que  $\pi = C \times 22,4$  atmosphère à  $0^{\circ}C$ .

-  $C$  = concentration de la solution en Mole/L.

- Calculer la valeur de la  $\pi$  du suc vacuolaire des cellules au plasmolyse limite.



# Travaux Pratiques Physiologie Végétale (S4)

**Filière : SVI**

**Séance 2 : Etude des pigments végétaux**

Pr. Mohammed L'bachir EL KBIACH  
Département de Biologie, Faculté des Sciences, Tétouan

- Faculté des Sciences Tétouan
- Université Abdelmalek Essaâdi

2019 -2020

## T.P. 2

### Etude des pigments végétaux

#### I- Introduction

On appelle Pigment toute substance responsable de la coloration naturelle d'un tissu végétal.

Parmi les principaux pigments tirés des végétaux, on distingue :

##### 1) Les caroténoïdes

Pigments non azotés, considérés comme des polymères de l'isoprène.

Généralement on trouve 8 unités d'isoprène pour une molécule de caroténoïde. Ce sont des pigments très répandus chez les végétaux.

Pigments facilement solubles dans le benzène, le chloroforme, l'acétone et le sulfure de carbone.

On peut les classer en 2 groupes selon que leurs molécules comportent ou non de l'oxygène :

- les carotènes (non oxygénés)
- les xanthophylles (oxygénés)

##### 1.1) Les carotènes

Sont des hydrocarbures de formule générale  $C_{40}H_{56}$ , facilement solubles dans l'éther de pétrole mais presque insolubles dans le méthanol et l'éthanol.

Il en existe un grand nombre qui diffère entre eux par isomérisation.

- carotènes (de couleur orange)
- lycopènes (de couleur rouge-orangée)

Les plus répandus chez les végétaux sont les carotènes que l'on peut voir dans tous les organes. Le lycopène existe surtout dans les fruits.

### 1.2) Les xanthophylles

Sont des dérivés hydroxylés des caroténoïdes :  $(C_{40}H_{56}O)_n$ . Ce sont des pigments d'autant plus solubles dans l'éthanol et le méthanol et d'autant moins dans l'éther de pétrole que leur formule comporte davantage d'atomes d'oxygène.

Il existe un très grand nombre de xanthophylles ; citons parmi elles :

- Zéaxanthine (3,3' hydroxy- $\beta$ -carotène)
- Lutéine (3,3' hydroxy- $\alpha$ -carotène)
- Violaxanthine (5,6,5',6' diepoxyzéaxanthine)
- Néoxanthine.

Ces pigments peuvent être combinés avec des acides gras (esters de xanthophylles).

### 2) Les porphyrines

Ce sont des dérivés de substitution de la porphine dont la structure chimique particulière est faite de 4 noyaux pyrrol unis entre eux par 4 radicaux méthéniques.

Il existe un très grand nombre de porphyrines dont les plus importantes chez les végétaux supérieurs sont les chlorophylles (chlorophylles a, b, c et d).

Ces pigments sont responsables de la nutrition carbonée. Grâce à l'énergie photonique reçue, ces pigments sont donc chargés de transformer l'énergie lumineuse incidente en énergie chimique nécessaire à l'incorporation et à la réduction du  $CO_2$  pour créer enfin de compte de nouvelles molécules organiques telles que les glucides.

#### 2.1) Les chlorophylles a et b

Ce sont des porphyrines magnésiennes possédant deux groupements carboxyliques dont l'un est estérifié par le méthanol et l'autre par le phytol.

Ce sont des pigments solubles dans l'éthanol, l'éther, le benzène, le sulfure de carbone, l'acétone et le chloroforme.

Elles sont peu solubles dans l'éther de pétrole (la chlorophylle a plus que la chlorophylle b).

Ces pigments présentant d'autre part en solution, une fluorescence rouge (réémission de lumière).

En conclusion, les molécules de chlorophylle comportent un noyau porphyrine constitué par 4 pyrroles (noyau tétrapyrrolique) unies entre eux et combiné à un atome de magnésium.

Ce noyau tétrapyrrolique porte deux groupements carboxyliques estérifiés l'un par le méthanol, l'autre par le phytol (alcool à longue chaîne  $C_{20}H_{39}OH$ ) et un isocycle cétonique. C'est le diester d'un acide appelé chlorophylline.

Les chlorophylles absorbent essentiellement la lumière rouge et la lumière bleue. Les caroténoïdes absorbent les radiations bleues. Ces pigments sont solubles dans les solvants et les lipides ; ce sont des pigments liposolubles.

### 3- Bref rappel des lois de l'absorption spectrale

Soit  $I_0$  l'intensité d'un faisceau lumineux tombant sur cuve contenant une solution d'un corps absorbant et  $I$  l'intensité de ce même faisceau après la traversée de la cuve, la loi de BEER-LAMBERT permet d'écrire :

$$I = I_0 \times 10^{-\Sigma C L}$$

\* $\Sigma$  = coefficient d'extinction spécifique qui dépend du corps en solution (en L/g.cm).  $\Sigma$  est la probabilité d'extinction d'un photon frappant une molécule de la substance considérée.  $\Sigma$  varie avec la longueur d'onde du photon.

\* $C$  = concentration de la solution en g/litre

\* $L$  = trajet du faisceau optique à travers la cuve en centimètre.

La densité optique (DO) est alors définie comme suit :

$$DO = \log \frac{I_0}{I} = \Sigma.C.L$$

Le coefficient se détermine en prenant:

C = 1 g/litre

L = 1 cm            donc     $\log \frac{I_0}{I} = \Sigma$

On pourra donc déterminer la concentration d'un corps en solution par mesure de la densité optique de cette dernière :

$C \text{ (g/l)} = \frac{DO}{\Sigma \cdot L} = \frac{DO}{\Sigma} \quad \begin{array}{l} \Sigma \text{ en L/g.cm} \\ L = 1 \text{ cm} \end{array}$
---

Si plusieurs constituants coexistent dans une solution, les valeurs des densités optiques de chaque constituant sont additives: additives: Exemple : si l'on considère une solution des deux chlorophylles a et b, dans une cuve de 1 cm d'épaisseur, on peut écrire pour une longueur d'onde donnée :

$$D.O = \Sigma_a \cdot C_a + \Sigma_b \cdot C_b$$

On fait deux mesures de densités optiques à 2 longueurs d'onde différentes correspondant aux pics d'absorption des chlorophylles a et b prises séparément, ce qui permet d'écrire les 2 équations suivantes :

$DO_{645} = (\Sigma_a \cdot C_a) + (\Sigma_b \cdot C_b)$ $DO_{663} = (\Sigma_a \cdot C_a) + (\Sigma_b \cdot C_b)$
---

Les coefficients d'extinction spécifique en litre/g ce sont :

<p><b>à 663 nm</b> : chlorophylle a : 82,04                   Chlorophylle b : 9,27</p> <p><b>à 645 nm</b> : chlorophylle a : 16,75                   Chlorophylle b : 45,6</p>
---

Lorsqu'on emploie comme solvant des chlorophylles de l'acétone à 80 % les formules établies à partir des 2 équations précédentes, par MAC KINNEY et complétées par BRUNSMAN permet de connaître les quantités de chlorophylles contenues dans une solution en faisant des mesures de densités optiques à différentes longueurs d'onde :

$C_a = 12,7 \cdot DO_{663} - 2,69 \cdot DO_{645}$ $C_b = 22,9 \cdot DO_{645} - 2,68 \cdot DO_{663}$ $C_{a+b} = 27,8 \cdot DO_{652}$
---

Coefficients ont été déterminés pour des concentrations exprimées en mg/l.

#### 4- Protocole expérimental

##### Séparation chimique :

Pour le spectre d'absorption et teneur des chlorophylles, on utilise les feuilles de persil (*Petroselinum hortense* Hoffm.).

On utilise les feuilles de persil qui sont broyées dans un mixeur à couteaux de type Moulinex avec de l'acétone 80 %, on additionne une pincée de carbonate de magnésium qui neutralise l'acidité des tissus et 2 g de sulfate de sodium anhydre pour fixer l'eau du matériel végétal. Le filtrat est recueilli dans un Erlen après filtration sur toile Bluter 75 µm.

25 ml de filtrat est versé pour chaque paillasse dans une fiole jaugée.

Le protocole expérimental est le suivant :

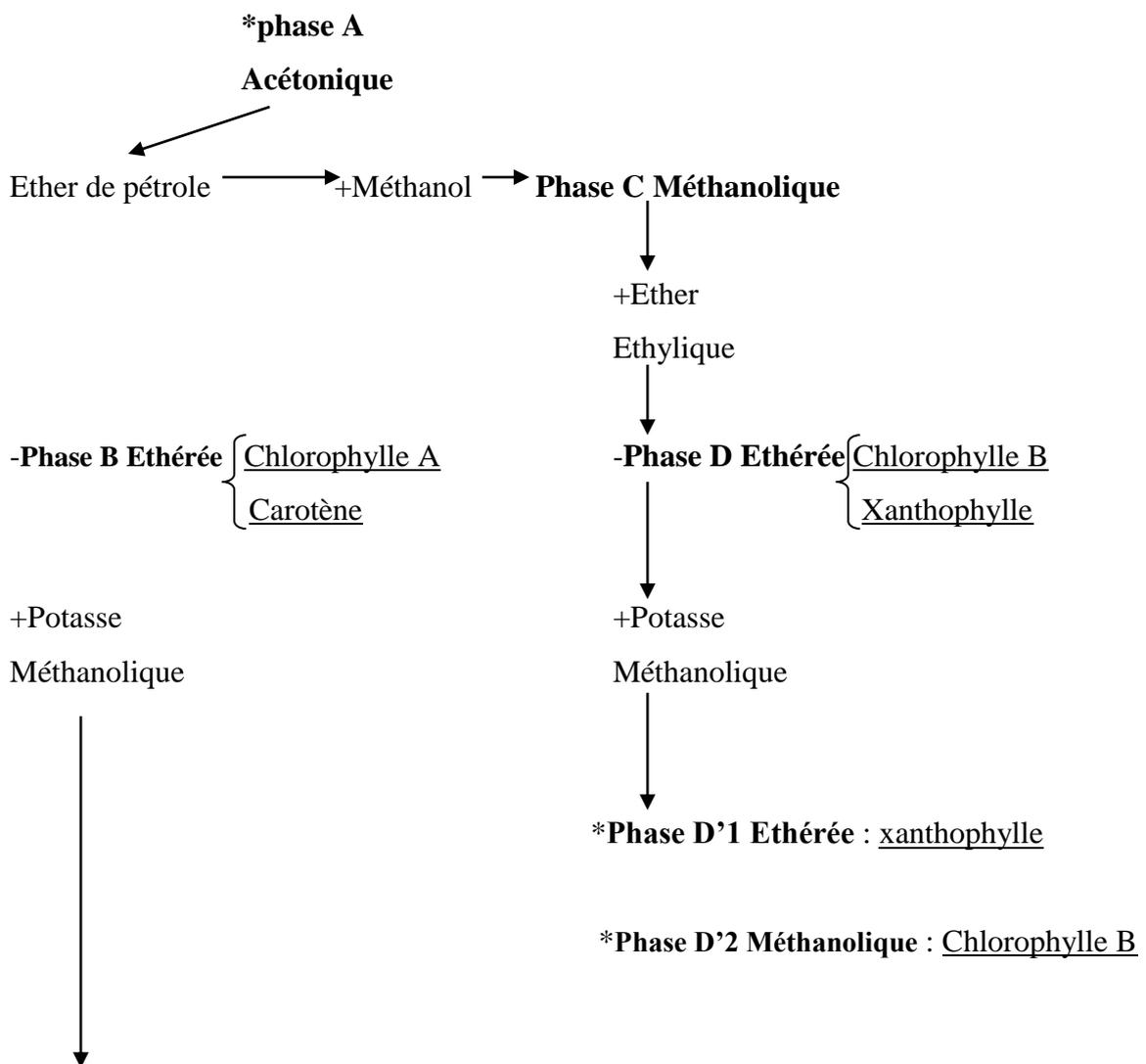
- Extrait brut + 20 ml d'éther de pétrole+ agitation+ 35 ml de l'eau+agitation et laisser reposer.
- On obtient 2 phases : Epiphase (phase supérieure) verte foncée contient des pigments en solution dans l'Ether de pétrole et Hypophase (phase inférieure) plus claire (eau + acétone)
- Eliminer la phase inférieure puis ajouter 25 ml d'eau. Agiter et laisser reposer. Il se forme 2 phases comme précédemment. Eliminer de nouveau la phase inférieure et recommencer deux fois ce lavage. S'il reste une interphase nettement visible, il convient de l'éliminer totalement avant l'opération suivante
- Extrait Ethéré + 20 ml de méthanol à 92% + agitation et laisser reposer
- On obtient 2 phases : la phase supérieure Ethérée (B) et la phase inférieure méthanolique (C) qu'on va garder dans le pot (C)
- La solution B sera lavée 2 fois par 15 ml de méthanol à 92 %
- Les phases inférieures sont systématiquement éliminées. La solution (B) se trouve alors purifiée et elle sera conservée dans le pot B.
- Introduire la solution © dans l'ampoule à décanter et y ajouter 20 ml d'éther éthylique + agitation tout en introduisant par fraction de 5 ml, de l'eau distillée, jusqu'à l'obtention de deux phases nettement séparables (20 ml d'eau)
- Eliminer la phase hydroalcoolique inférieure. La phase supérieure est maintenue dans le pot D.
- Donc on a 2 pots B et D. On prend 2 tubes à essai :

- Tube B : contenant 2 à 5 ml de la solution B + 3 ml d'une solution méthanolique de potasse (méthanol avec 20% de potasse KOH). Fermer le tub avec le doigt + forte agitation.
- On va faire la même chose pour le tube D : contenant 2 à 5 ml de la solution D + 3 ml d'une solution méthanolique de potasse (méthanol avec 20% de potasse KOH). Fermer le tub avec le doigt + forte agitation.

On obtient pour la solution B : 2 phases phase supérieure qui contient la chlorophylle a (vert foncé) et la phase inférieure qui contient la chlorophylle b (vert clair)

Pour la solution D on obtient 2 phases : phase supérieure qui contient  $\alpha$  et  $\beta$ -carotène (jaune foncé) et la phase inférieure qui contient Xanthophylle (jaune clair).

**En résumé :**



- \*-Phase B'1 Ethérée                      Carotène
- \*-Phase B'2 Méthanolique            Chlorophylle A

**Obtention des différentes phases après séparation par non-miscibilité des solvants**

Note : Les phases précédées d'une étoile (\*) devront être chromatographiées. Le contenu de chacune des phases devra être déterminé comparativement à celui de la solution A.

En déduire la solubilité des pigments dans les solvants utilisés.

Ces nouvelles solutions de pigments séparés sont étudiées au spectrophotomètre et on mesure les absorptions tous les 10 minutes entre 380 nm et 700 nm.

Il est alors aisé de tracer les courbes globales d'absorption de ces pigments. On préparera comme témoin une cuve contenant de l'acétone 80 %.

5- Identité des pigments par chromatographie ascendante sur papier

La chromatographie est faite dans un tube vertical entouré de papier noir pour éviter l'altération des pigments à la lumière. Il faut verser d'avance le solvant dans le tube afin de saturer son atmosphère. Le solvant se compose de :

- $$\left\{ \begin{array}{l} -85 \text{ ml d'éther de pétrole (85 \%)} \\ -10 \text{ ml d'acétone (10 \%)} \\ -5 \text{ ml de benzène (5 \%)} \end{array} \right.$$

Le tube est fermé par un bouchon muni d'un crochet permettant de suspendre la bandelette de papier whatman n°1 servant de chromatogramme. Celui-ci mesure 2 cm de large et 26 cm de long (voir la figure ci-dessous) :

### **Préparation, mise en place et lecture du chromatogramme**

On écrase sur la ligne de départ quelques rondelles de limbe des feuilles de persil. La séparation sera arrêtée lorsque le solvant atteindra le trait situé à 18 cm de la base de départ, ce qui dure 45 à 60 minutes selon la température ambiante.

Le critère qui permet d'analyser les résultats et de comparer des mélanges complexes de différentes origines s'appelle le RF et il se définit :

$$RF = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

Le RF varie de 0 à 1 (substance migrant à la même vitesse que le solvant).

Les tâches colorées correspondant aux divers pigments séparés pourraient être comparées aux quelques valeurs moyennes de RF suivante :

β-carotène :	0,98 (jaune-orangée)
Lutéine :	0,80 (jaune)
Néoxanthine :	0,60
Chlorophylle a :	0,40 (vert foncé)
Chlorophylle b :	0,30 (vert-jaune)

#### 6- Dégradation des chlorophylles :

On va voir la dégradation de la chlorophylle a. On a choisi la chlorophylle a car le changement de la coloration sera bien clair que pour la chlorophylle b.

Donc on prend 2 tubes à essai contenant chacun 1 ml de la chlorophylle a.

- Dans le tube 1 on ajoute 1 ml de HCL 1N + agitation
- Dans le tube 2 on ajoute 1 ml NaOH 1N + agitation

HCL se prépare dans l'eau.

On observe alors le changement de teinte.

\*En présence d'HCL : HCL va se retrouver dans la phase inférieure du tube ( $\text{pH} < 7$ ) et avec coloration marron jaunâtre.

Donc la chlorophylle a perdu sa coloration car HCL décroche le magnésium et il reste les phéophytines (chl a perdu le  $\text{Mg}^{++}$ ) ou on dit aussi la libération de l'atome de Mg.

Ces phéophytines antioxydants sont commercialisés.

\*En présence de NaOH : NaOH va se retrouver en bas du tube et avec coloration verte foncée.

Donc nous n'avons pas de changement de coloration mais on a une dégradation et une libération du phytol. Il reste une chlorophylline.

L'atome de Mg participe à la coloration de la chlorophylle. Le phytol ne participe pas à la coloration de la chlorophylle.



# **Travaux Pratiques Physiologie Végétale (S4)**

**Filière : SVI**

**Séance 3 : Dosage des nitrates dans un extrait végétal**

**Pr. Mohammed L'bachir EL KBIACH  
Département de Biologie, Faculté des Sciences, Tétouan**

- Faculté des Sciences Tétouan
- Université Abdelmalek Essaâdi

2019 -2020

## **T.P 3**

### **DOSAGE DES NITRATES DANS UN EXTRAIT VEGETAL**

#### **I- PRINCIPE**

En milieu acide, les nitrates forment un complexe d'acide nitrosalicylique par la nitration de l'acide salicylique. Ce complexe a une absorption maximale à 410 nm dans des solutions basiques (pH 12). L'absorbance du chromophore est proportionnelle à la teneur en nitrates dans la solution. La méthode est rapide sans montrer beaucoup d'interférences et peut être utilisée pour les extraits végétaux.

#### **II- REACTIFS ET MATERIELS**

Tubes à essai, pipettes de 0,1 ; 1 et 5 ml ; colorimètre ou spectrophotomètre ; solution d'acide salicylique (AS) à 5 % dans l'acide sulfurique concentré 36 N (AS-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 5 %) ; solution de soude (NaOH) à 2 N ; solution de nitrate d'ammonium (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) à 8 mM (à conserver à 4 °C).

Le but de la séance est le dosage des nitrates dans un extrait végétal (on va utiliser comme matériel végétal le blé sauvage).

Le nitrate doit être réduit en nitrite en présence de l'enzyme nitrate réductase. Ce nitrite est par la suite réduit en azote ammoniacal par l'enzyme nitrite réductase.

Il existe 3 possibilités pour cette réduction :

- Soit au niveau des racines (100%)
- Soit au niveau des feuilles (100%)
- Soit 50% au niveau des racines et 50% au niveau des feuilles : c'est le cas typique du blé (monocotylédones).

#### **III- PROTOCOLES**

##### **1- EXTRACTION DES NITRATES**

-Peser et broyer (1 à 2 g) de matériel végétal (feuilles et racines de Blé sauvage) dans un mortier en présence de sable et de 20 ml d'éthanol à 50 % ;

-Placer l'homogénat au bain-marie à 80 °C ;

- Centrifuger à 3000 rpm (rotations par minutes) pendant 5 minutes ;
- Noter le volume exact du surnageant.

## 2- PREPARATION DE LA GAMME ETALON

A partir d'une solution mère  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  8 mM, préparer des solutions à 6 mM, 4 mM, 2 mM et 1 mM ;

-Pipeter 0,1 ml des solutions mères dans les tubes à essais (ne pas oublier 0,1 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  dans le tube 0) ;

-Ajouter 0,4 ml de AS- $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 5 %, mélanger et laisser à température ambiante pendant 20 minutes environ ;

-Ensuite ajouter doucement 9,5 ml de soude 2 N ;

**-Lire les DO à 410 nm.**

La courbe d'étalonnage est réalisée avec une gamme de 0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 et 0,8  $\mu\text{moles}$  par milieu réactionnel.

## 3- DOSAGE DES NITRATES

Préparer pour chaque échantillon (extrait foliaire) 3 tubes de la manière suivante :

Tubes	1	2	3
EXTRAIT (ml)	0,1	0,1	0,1
AS- $\text{H}_2\text{SO}_4$ (ml)	0	0,4	0,4
$\text{H}_2\text{O}$ (ml)	0,4	0	0
<b>Attendre 20 minutes</b>			
NaOH (ml)	9,5	9,5	9,5

**Lire les DO à 410 nm (tube 1 = témoin).**

Puis on projette la valeur de la DO obtenue sur la courbe d'étalonnage.

a/ Déterminer la quantité de nitrates en mg par gramme de matières fraîche du matériel végétal.

b/ En déduire la quantité d'azote en mg par gramme de matières fraîches du matériel végétal.

NB :

Le nitrate d'ammonium est un composé chimique de formule  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , principalement utilisé comme engrais azoté. Dans e cas, il est plus connu sous le nom d'ammonitrate (33,5 % d'azote N total).

-Masse molaire : 80,052 g/mol

-Densité : 1,72 g/cm<sup>3</sup>

-Point de fusion : 169,6 °C

-Point d'ébullition : 210 °C

-Solubilité : Eau

# Bon courage



## LIENS UTILES 🙌

### Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

