

**Descriptif complet pour les Étudiants  
Écosystème Méditerranéen**

2026

V. Garlatti - JL. Cadiou - T. Bertin - C. Baraquet  
Université du Sud Toulon Var

## ***Partie I***

---

### ***Présentation générale***

---

## SYLLABUS

### Rentrez dans l'aventure écosystème méditerranéen !

Dans cette situation d'apprentissage et d'évaluation, vous devez mettre en place des expériences afin de comprendre l'effet d'un paramètre physico-chimique sur un écosystème. Chaque année les paramètres d'étude proposés changent. Vous devez choisir des zones géographiques qui présentent une variation du paramètre dont vous voulez évaluer l'effet. Vous devez choisir des conditions de culture sur une espèce végétale modèle de façon à faire varier ce paramètre. Votre domicile constitue une station de mesure de référence pour les paramètres climatiques et pour la culture des plantes. Vous êtes à la manœuvre pour formuler un questionnement, concevoir vos protocoles de mesure, réaliser vos mesures et les analyser. Rassurez-vous, vous n'êtes pas seuls ! Vous faites partie d'une équipe de quatre à six étudiants pour mener cette aventure !

Thèmes	Étude de l'écosystème	Étude de la croissance d'un végétal modèle
Effet de la proximité de la mer sur les écosystèmes	Comparaison de deux zones proches mer versus dans les terres parmi les couples proposés	Analyse de l'effet de l'eau salée sur la croissance des plantes
Effet de l'homme sur les écosystèmes	Comparaison de deux zones (anthropisée ou non) parmi les couples proposés	Analyse de l'effet d'un polluant (au choix) sur la croissance du géranium
Effet des précipitations sur les écosystèmes	Comparaison de deux zones (Zone connue comme humide versus zone sèche) parmi les couples proposés	Analyse de l'effet de pas assez d'eau / trop d'eau : choisir le type d'eau à appliqué (eau de pluie, eau de rivière etc)
Effet de la l'exposition lumineuse sur les écosystèmes	Comparaison de deux zones (Zone exposée au soleil (sud) zone non exposée au soleil (nord)) parmi les couples proposés	Mesure effet lumière sur croissance (mesure des lux pendant les expériences dans les différents lieux)
Étude la géologie sur les écosystèmes	Comparaison de deux zones (sol acide versus sol calcaire) parmi les couples proposés	Mesure effet sol différent sur la croissance (prélever du sol dans les deux zones étudiées par exemple)
Étude de l'effet de la salinité sur les écosystèmes	Comparaison de deux zones (lac eau douce versus salins) parmi les couples proposés	Mesure effet de l'eau des deux zones étudiées sur la croissance (prélever de l'eau dans les zones chaque semaine ?)

TABLE 1 – Thèmes et choix des zones géographiques

<b>Étude de l'écosystème</b>	<b>Étude de la croissance d'un végétal modèle</b>
S1 : Étude comparative théorique des deux zones (Cartes, données climatiques disponibles)	<u>S1 + S2 : Mesure croissance</u> dans différentes conditions de culture
S1 + S2 : Étude expérimentale des paramètres climatiques : sur zones et dans les stations de mesures.	<u>S2 : Mesure transfert de l'eau</u> : Observation de l'ouverture ou non des stomates ou mesure de la teneur en eau
S2 : Étude de comptage sur le terrain : Une/des espèce(s) caractéristique(s) des zones étudiées	<u>S2 : Mesure du métabolisme</u> : production des sucres (dosage + observation grains amidon) ou photosynthèse (dosage chlorophylle et observation chloroplastes)

TABLE 2 – Expérimentations et mesures à réaliser

### Objectifs d'apprentissage

L'objectif de la SAÉ écosystème méditerranéen est le développement de la compétence Mener une démarche scientifique par l'expérience ou la modélisation. Au niveau L1, l'accent est mis sur la formulation qu'un questionnement précis afin de permettre la conception d'une démarche expérimentale réalisable à partir des protocoles fournis. Le point essentiel est le choix des témoins et la cohérence des hypothèses formulées. Les expériences et mesures réalisées constituent des méthodes et des gestes techniques socles de la Licence (mesure de volume, longueur, hauteur, masse ou température ; comptage ; microscopie, extraction et dosages biochimiques). La réalisation des gestes techniques et le respect des règles d'hygiène, sécurité et environnement est au coeur des mesures. L'analyse des résultats est une étape cruciale. L'objectif de la L1 est d'apprendre à analyser mathématiquement et statistiquement les résultats obtenus en utilisant correctement un tableur ; de faire des choix de calculs et de représentation pertinents avec la question posée ; de décrire les résultats obtenus de façon rigoureuse (fait, voit, interprète). La discussion des résultats n'est pas abordée en L1. Le niveau attendu en L1 pour la compétence Mener une démarche scientifique est décrit dans le document des attendus de compétence ainsi que dans le descriptif de celle-ci.

### Ressources et outils à disposition

Des ressources sont proposées au sein de la SAÉ : cours sur la biodiversité, travaux pratiques d'apprentissage. Des ressources de l'UE12 (semestre 1) et UE 22 (semestre 2) sont associées à ce travail : RAU11, RAB13 au semestre 1 et RAB23, RAU21, RAB24 au semestre 2.

En L1, le Carnet de Bord est votre outil principal pour apprendre à anticiper le travail à réaliser, tracer tout ce que vous faites ainsi que faire des liens entre la SAÉ et les enseignements plus théoriques de la Licence. Il est personnel et doit être rempli au fur et à mesure de la SAÉ. Il est divisé en trois grandes parties :

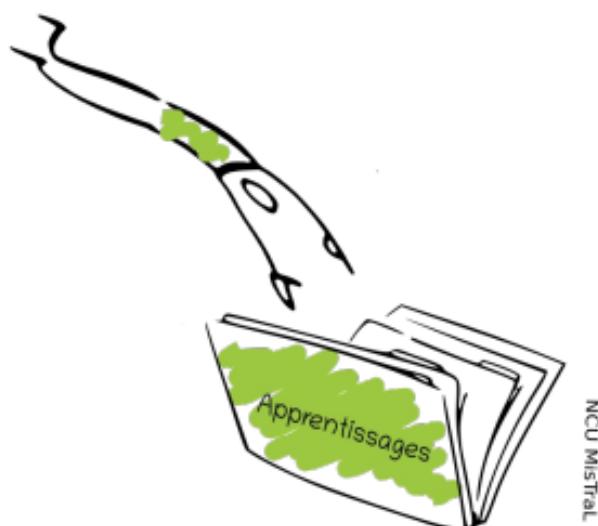
- Présentation du carnet de bord :
- Suivi de la SAÉ : inclut des informations que vous remplissez pour chaque séance de travail et vous devez y inclure aussi les livrables de la SAÉ : le livret protocoles (livrable d'équipe), le livret de résultats (livrable individuel) et un lien vers le tableur de calcul (livrable individuel). Vous rendrez le tableur de calcul en même temps que le carnet de bord en fin de semestre.
- Ressources associées : cette partie est remplie en fin de semestre et vous permet de démontrer les liens que vous faites entre les cours et la SAÉ

**SAE 22 : Écosystèmes Méditerranéens**

# *Carnet de Bord*

JOURNAL PERSONNEL POUR MONTER EN COMPÉTENCE

**Découvre un écosystème et expérimente sur une espèce modèle**



*ANTICIPER - TRACER - LIER*

[Prénom] [Nom] [Numéro de groupe]

## Scénarisation

Les situations d'Apprentissages et d'évaluation suivent un scénario qui permet d'organiser les étapes de travail. A chaque étape, vous êtes amenés à anticiper le travail à réaliser au cours de séances de TD. Ces séances de TD sont aussi le lieu pour apprendre la méthodologie à suivre. S'en suit un temps de travail en équipe ou individuel, en absence des encadrants. Ces temps de travail sont formalisés dans l'emploi du temps sous le terme TAE : Travail Autonome Étudiant. C'est une demi-journée qui doit être consacrée au travail d'équipe sur les SAÉs. Le fruit de ce travail est finalement régulé avec l'enseignant au cours de séances de tutorat.

La SAÉ écosystème méditerranéen est filée sur les deux semestres. Le premier semestre vous demandera un nombre plus limité de mesures et vous permettra de réaliser une première fois tous les attendus. La correction du travail effectué au premier semestre permet de corriger et d'améliorer le travail pour le second semestre. Cela vous laisse une seconde chance pour développer la compétence. Au cours des deux semestres, vous retrouverez les mêmes quatre étapes : (1) Formulation du questionnement/amélioration ; (2) Conception des protocoles ; (3) Réalisation des mesures ; (4) Analyse des résultats. Le calendrier précis est donné dans le tableau (tableau 3)

## Calendrier - semestre 2

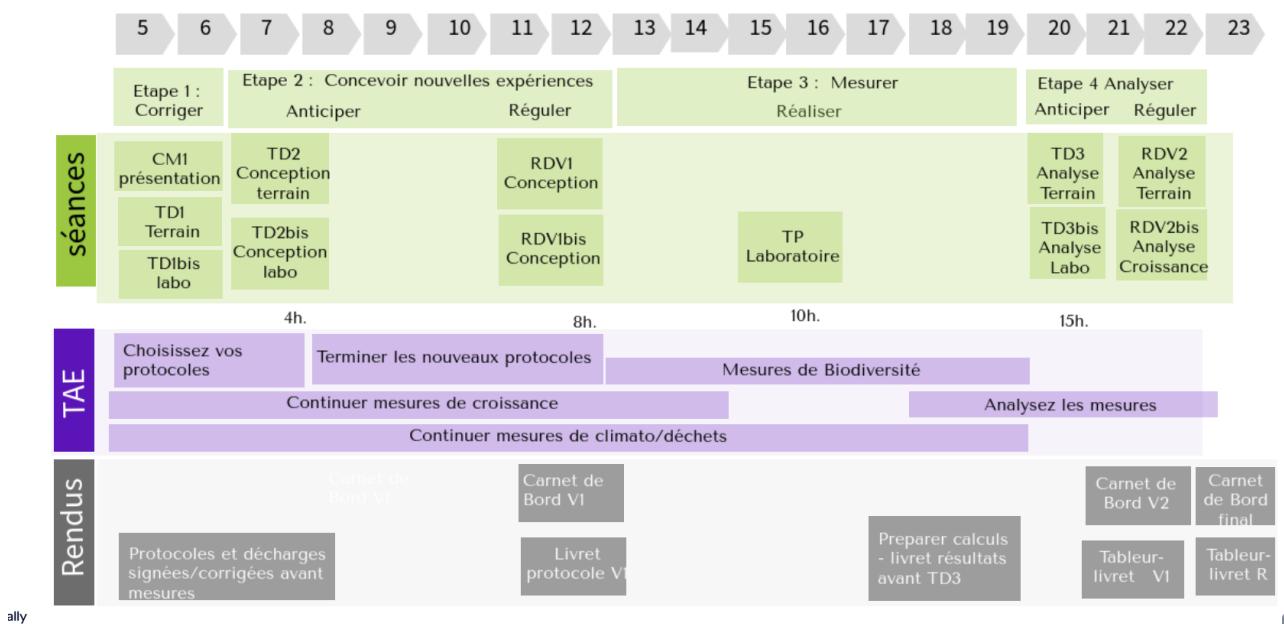


FIGURE 2 – Calendrier du semestre 1

TABLE 3 – Calendrier Semestre 2

Semaine	Type cours	Actions	Production	Durée
5	CM	Présentation	Carnet de bord(P1)	1h30
5	TD 1	Correction projet terrain Correction projet laboratoire	carnet de bord - livret protocole carnet de bord - livret protocole	1h30 1h30
4-8	TP	Biochimie dosage	Fiche TP apprentissage	2×3h
6	TP	Chimie pigments	Fiche TP apprentissage	6h
6	TAE	Conception protocoles	carnet de bord - livret protocole	4h
7	TD 2	Conception protocole Terrain	carnet de bord - livret protocole - décharges	1h30
		Conception protocole laboratoire	carnet de bord - livret protocole - décharges	1h30
8-9	TAE	Conception protocoles	carnet de bord - livret protocole	4h
11-12	RDV 1	Correction des protocoles de terrain	carnet de bord - livret protocole - décharge	15 mn en équipe
		Correction des protocoles de laboratoire	carnet de bord - livret protocole - décharge	15 mn en équipe
10-13	TP	Biologie animale	Fiche TP apprentissage	2×3h
10-13	TP	Biologie végétale	Fiche TP apprentissage	2×3h
7-20	TAE	Réalisation mesures croissance et terrain	Tableur partagé données brutes	4×4h

**Au moins quatre sorties sur le terrain  
avec photos preuves à intégrer à votre carnet de bord**

14-15	TP	Réalisation mesures biochimie et biocell	Tableur partagé données brutes	6h
14 à 18	TAE	Traitements des données	Préparation de la v.1. du tableurs des données et du livret expé-rience	2× 3h
18	TD 3	analyse des résultats terrain analyse des résultats laboratoire	Tableur traitement et livret résul-tats Tableur traitement et livret résul-tats	1,5h 1,5h
18 à 20	TAE	Traitements des données	Préparation de la v.2. du tableurs des données et du livret expé-rience	4h
20	RDV 2	analyse des résultats terrain analyse des résultats laboratoire	Tableur traitement et livret résul-tats Tableur traitement et livret résul-tats	10mn /étu-diant 10mn /étu-diant
22	TAE	Rendu final	Carnet de Bord et livrables com-pléts	5h

## Évaluation

La SAÉ est évaluée à la fois sur la démarche de l'étudiant au cours des séances, sur les livrables (fiche protocole, fiche expérience et tableur) et sur la capacité de l'étudiant à prendre du recul sur ses actions, les corriger et faire des liens entre la SAÉ et les ressources. Le carnet de bord permet d'évaluer ces deux derniers points pour chaque étudiant. Il devra être rendu dans son état d'avancement avant chaque tutorat et dans son état final semaine 3. La grille d'évaluation est en cohérence avec l'évaluation de la compétence au niveau 1.

Chaque étudiant s'engage :

- À respecter le planning imposé pour ses rendu
- À avoir préparé le travail attendu en amont des TD et des RDV
- À être présent aux RDV
- À communiquer avec les enseignants uniquement durant les créneaux dédiés
- À lire attentivement l'ensemble des documents fournis
- À respecter les formats des rendus imposés
- À respecter les protocoles établis en équipe
- À utiliser les logiciels exigés par l'enseignant
- À se rendre en groupe de deux minimum sur le terrain
- À intégrer les corrections demandées par l'enseignant en cours de SAÉ
- À respecter la législation sur le terrain et en laboratoire

Il existe 4 paliers dans l'évaluation finale de la SAÉ :

- Est-ce que l'étudiant a réalisé l'action ?**
- Est-ce que l'étudiant a réalisé une action de qualité c'est-à-dire dans le respect des composantes essentielles de la compétence ?**
- Est-ce que l'étudiant sait justifier ses choix ?**
- Est-ce que l'étudiant est capable de corriger et d'adapter son action ?**

### Évaluation de la réalisation de l'action

Les séances de SAÉs sont obligatoires. Un étudiant qui ne serait pas présent aux séances qui servent à anticiper le travail à réaliser et ensuite réguler les propositions avec l'enseignant ne pourrait être considéré comme ayant fait l'action demandée. Le dépôt dans les temps de tout les rendus exigés entièrement rempli est aussi obligatoire. Sur ce point, la qualité de ces rendus ou la justesse des rendus n'est pas évaluée.

### Évaluation de la qualité de l'action

Les livrables et le travail retranscrit sur le carnet de bord sont évalués à partir des attendus de la compétence au niveau 1. L'évaluation se fait en fin de SAÉ. Pour valider la SAÉ, il est nécessaire de réaliser les actions demandées dans le respect de l'ensemble des composantes essentielles de la SAÉ.

### Évaluation de la justification

La justification du travail réalisé sera évalué sur la capacité de l'étudiant à apporter des preuves du travail qu'il réalise en dehors des séances, sur la capacité à s'appuyer sur les ressources ou autres SAÉ (partie 3) ainsi que sa capacité à expliquer ses choix et ses difficultés à l'écrit sur le carnet de bord et à l'oral en rendez-vous.

### Évaluation de l'adaptabilité

Sur les livrables et dans le carnet de bord, des sous-parties sont réservées à l'analyse du travail réalisé afin de corriger. Cela permettra d'évaluer si l'étudiant est capable de retro-action.

## RÈGLES DE FONCTIONNEMENT

### Comment lire ce document

Ce document contient les objectifs et attendu de l'ensemble des séances encadrées par chaque tuteur dans l'ordre de déroulé des séances pour chaque semestre et par étape :

- Séances de travaux dirigés et de tutorat d'aide à la préparation du projet et à l'analyse des résultats
- Séances de travaux pratiques encadrées.

Pour chaque étape, vous trouverez dans une page de présentation les objectifs de la séance, ce que les étudiants doivent réaliser avant, pendant et après la séance ainsi que les modalités d'évaluation. A la suite de cette page de présentation, vous trouverez les énoncés de TD ou de TP ainsi que les modèles de rendus et les grilles d'évaluation pour chaque travail.

### Le rôle de l'étudiant

Chaque étudiant s'engage à :

#### Respecter l'organisation :

- Prendre rendez-vous en temps et en heure (au moins 72h avant le RDV) avec l'équipe enseignante (via moodle) dans des créneaux imposés
- Utiliser le canal de communication imposé par l'équipe enseignante (discussion intra-équipe sur un canal dédié, questions aux enseignants uniquement sur les créneaux de RDV et de TD prévu)
- Aller sur le terrain uniquement sur les créneaux Notés Travail Autonome Étudiant sur l'emploi du temps.
- Utiliser un matériel/des outils utilisables et utilisés par tous les membres du groupe.
- Respecter les formats imposés pour les différents rendus (pdf, A4, avec illustrations)
- Présenter des photographies ou des captures écrans de bonnes qualités (pas flou, bien centré, sans objets/personnes autours)

#### Respecter les attendus scientifiques

- Rédiger un protocole compréhensible pour un autre étudiant en Sciences de L1 extérieur à l'équipe
- Utiliser le même protocole que les membres de son équipe (pour les expériences en autonomie)
- Respecter le protocole établi en équipe
- (Discuter des limites du protocoles)
- Mettre en commun les résultats obtenus individuellement
- Traiter individuellement et de manière rigoureuse les résultats obtenus
- Traiter informatiquement via GoogleSheet ou Excel ou Libreoffice calc les résultats obtenu
- Discuter de l'origine de la variabilité des résultats obtenu en équipe
- Comparer les résultats avec des résultats de la littérature

#### Respecter les consignes de validation

- Rendre l'ensemble des livrables exigés
- Se présenter à l'ensemble des séances
- Fournir un travail personnel (sauf pour les quelques documents de travail d'équipe).

## **Format des livrables**

La Carnet de Bord doit être rendu en pdf. Les photographies dans un dossier zippé (au format .zip) et le tableau en format .xlsx.

Le nom des fichiers ou dossier doit permettre de vous identifier. Il prendre le format suivant (sans accent ou caractère spécial) :

NOM\_Prenom\_Equipe\_nomdudocument

Par exemple, le carnet de bord de Lila Dupont dans l'équipe L1SV4b1 doit s'appeler :

DUPONT\_Lila\_L1SV4b1\_CarnetDeBord.pdf

## **Règlement d'examen de la SAÉ**

*Extrait du règlement d'examen*

### **5.1 Nature des épreuves**

"L'évaluation des compétences donne lieu à une note de Situation d'Apprentissage et d'Évaluation (SAÉ) qui peut être une combinaison d'épreuves organisées en présentiel et de travaux réalisés par l'étudiant en autonomie."

### **"5.4 Absence aux épreuves et deuxième chance**

#### **Situations d'Apprentissage et d'Évaluation (SAÉ)**

Le travail à effectuer dans le cadre d'une SAÉ doit obligatoirement être réalisé dans le temps imparti avec un strict respect des dates de rendu. Le non-respect des échéances pour la remise d'un travail ou la non participation injustifiée à une étape du travail demandé entraîne l'attribution de la note de 0/20. En cas d'absence prolongée et dûment justifiée de l'étudiant, un délai supplémentaire équivalent à la durée de l'absence peut être accordé à l'étudiant pour la remise du rapport ou du projet. Cette possibilité ne confère aucun droit pour l'étudiant. La demande doit obligatoirement être faite dans un délai de 3 jours ouvrés au plus tard après la date de la première échéance, à l'enseignant responsable de la SAÉ. Dans tous les cas de productions d'écrits qu'il réalise, l'étudiant est tenu d'y adjoindre un engagement de non-plagiat. Le principe de la seconde chance ne s'applique pas aux SAÉs."

*Application des règlements*

**Abscences :** Tout étudiant qui n'aurait pas rendu l'ensemble des documents ou qui aurait été abscence de façon injustifiée aux séances ne pourra pas se voir attribuer une note supérieure ou égale à 8.

**Plagiat** Toute tentative de plagiat (incluant travail rédigé par d'autres, en partie copié ou l'utilisation de ChatGPT) donnera lieu à un conseil de discipline pour non respect du règlement d'examen. Le logiciel Complatio nous permet de détecter l'ensemble de ses fraudes et est déclenché automatiquement sur Moodle.

## ***Partie II***

---

### ***Séances Spécifiques à l'accompagnement de la Situation d'Apprentissage et d'Évaluation***

---

## SEMAINE 5

### ÉTAPE 1 : CORRIGER LE PROJET

#### **Objectif de la première étape**

L'objectif de la première étape est de réorganiser les équipes et de corriger le projet initial

#### **TD1 correction protocoles terrains**

##### *Objectif*

Ce TD constitue la première réunion de l'équipe (4 maximum). L'équipe reprendra son thème du premier semestre ou non et corrigera les protocoles de terrains déjà déterminés. L'équipe peut anticiper la préparation du nouveau protocole de mesure de la biodiversité.

Le questionnement doit être précis pour être réalisable. Pour cela, il faut redéfinir :

- Deux zones d'étude à comparer (à indiquer dans la problématique)
- un paramètre précis
- des objectifs à mesurer

Par exemple, la formulation "Impact de la présence de sel sur les végétaux" est irréalisable. Vous devez préciser quel impact, quelles concentrations en sels ainsi que l'espèce végétale (nom en latin).

##### *Préparation et déroulement*

Étudiants	
Avant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Écouter la correction faite à la séance bilan</li><li><input type="checkbox"/> Consulter le modèle de livret protocole ainsi que le nouveau carnet de bord.</li></ul>
Pendant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Déterminer les thème-zones</li><li><input type="checkbox"/> Corriger et améliorer les protocoles du semestre 1</li><li><input type="checkbox"/> Remplir le carnet de bord et le livret de protocoles</li></ul>
Après la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Finir de remplir le carnet de bord et le livret de protocoles</li></ul>

## TD1bis correction protocoles laboratoire

### *Objectif*

Ce TD constitue la première réunion de l'équipe (4 maximum). L'équipe reprendra son thème de laboratoire du premier semestre ou non et corrigera les protocoles de croissance déjà déterminés. L'équipe doit anticiper la préparation des nouveaux protocoles de mesure de teneur en eau et de métabolisme.

### *Préparation et déroulement*

	Étudiants
Avant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Écouter la correction faite à la séance bilan</li><li><input type="checkbox"/> Consulter le modèle de livret protocole ainsi que le nouveau carnet de bord.</li></ul>
Pendant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Déterminer les thèmes-mesures de croissance</li><li><input type="checkbox"/> choisir les mesures sur le transport d'eau et le métabolisme</li><li><input type="checkbox"/> Remplir le carnet de bord et le livret de protocoles</li></ul>
Après la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Finir de remplir le carnet de bord et le livret de protocoles</li></ul>

## Évaluation de la première étape

Vous serez évalués à chaque séance sur votre présence et la réalisation des exercices d'anticipation demandés avant d'arriver en séance. Vous devez remplir le carnet de bord au fur et à mesure de l'avancée de la SAÉ.

### SEMAINE 7-12 ÉTAPE 2 : CONCEPTION DES PROTOCOLES DÉTAILLÉS

#### Objectif de la deuxième étape

L'objectif de la seconde étape est de préparer les protocoles détaillés et d'en vérifier les risques associés. Une priorité est donnée en L1 à contrôler la présence de témoins suffisants, une répétition des mesures ainsi que la formulation des risques et des mesures de protection préconisées. La répétition des mesures est essentielle afin d'avoir des données statistiquement acceptables. Les données brutes recueillies par chaque étudiant devront être partagées dans un fichier Google Sheet qu'il convient de préparer dans la phase protocole.

Le descriptif des TP d'apprentissage est à la fin du déroulé.

#### TD 2 Protocole terrain Semaine 7

Étudiants	
Avant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Lire impérativement l'énoncé de TD</li><li><input type="checkbox"/> Commencer à remplir le livret de protocole</li><li><input type="checkbox"/> Créer une feuille dans un fichier google sheet partagé pour chaque type de mesure de terrain</li></ul>
Pendant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> En équipe, réfléchir au TD proposé (45mn)</li><li><input type="checkbox"/> En équipe, prévoir les protocoles de croissance végétale (45mn).</li><li><input type="checkbox"/> Consulter l'enseignant si besoin</li></ul>
Après la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Remplir le carnet de Bord de façon à terminer la version 2 de la fiche Protocole</li></ul>

#### TD 2 Protocole labo Semaine 7

#### Objectif des séances

L'objectif de cette séance est de travailler sur les besoins spécifiques en références et témoins expérimentaux pour les TP de biochimie. Le travail sur les fiches sécurité est abordé de façon à favoriser l'autonomie des étudiants dans la compréhension des risques chimiques. Un temps est consacré à la préparation des protocoles de biochimie pour leur projet.

## Préparation et déroulement de la séance de TD

	Étudiants
Avant la séance	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Lire et préparer l'énoncé de TD</li> <li><input type="checkbox"/> Consulter les protocoles disponibles</li> <li><input type="checkbox"/> Compléter la fiche TP apprentissage des TP de biochimie</li> <li><input type="checkbox"/> Créer une feuille dans un fichier google sheet partagé pour chaque type de mesure de terrain</li> <li><input type="checkbox"/> Compléter la fiche décharge pour les expériences de croissance avec le protocole associé</li> </ul>
Pendant la séance	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Rendre la fiche décharge pour les expériences de croissance avec le protocole associé</li> <li><input type="checkbox"/> Travailler l'énoncé de TD en équipe (15mn)</li> <li><input type="checkbox"/> En équipe, prévoir protocoles de biochimie et de biocell (45mn).</li> <li><input type="checkbox"/> Consulter l'enseignant si besoin</li> </ul>
Après la séance	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Remplir le carnet de Bord et le livret de protocoles</li> <li><input type="checkbox"/> corriger la fiche TP apprentissage de biochimie avant le TP associé</li> </ul>

### Tutorats semaine 11-12

Vous aurez deux fois 15mn de tutorats par équipe et par encadrant pour corriger vos Protocoles. Vous devez avoir rempli et déposer votre carnet de bord avec le livret protocoles de l'équipe inséré. Vous verrez l'enseignant de laboratoire pour la partie espèce végétale modèle et l'enseignant terrain pour la partie écosystème. Vous devez impérativement dans les jours qui suivent corriger vos protocoles.

Étudiants	
Avant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Remplir le carnet de bord et le livret de protocole</li><li><input type="checkbox"/> s'inscrire deux jours à l'avance au plus tard sur les créneaux de tutorat et déposer votre carnet de bord et le livret de protocoles</li></ul>
Pendant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Prendre impérativement des notes sur les corrections demandées par l'enseignant ( dans votre carnet de bord)</li><li><input type="checkbox"/> Corriger au fur et à mesure le livret de protocoles.</li></ul>
Après la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Finir le livret de protocole, l'imprimer pour la réalisation des mesures</li><li><input type="checkbox"/> Finir de préparer le fichier google sheet de partage des données brutes</li></ul>

### Évaluation

Les grilles d'évaluations sont indiquées sur moodle.

## TD 2 : Témoins, références et sécurité en biochimie

2022      V. Garlatti

### EXERCICE 1 : DOSAGE ET GAMME ÉTALON

Vous réalisez un dosage des protéines par la méthode de LOWRY sur vos lysats cellulaires non dilués. Les valeurs de densité optique mesurée à 750 nm sont représentées dans la figure 1.

**Question 1 :** A partir de la gamme étalon 1, déterminez les concentrations protéiques de vos différents lysats ?

**Question 2 :** Voyez-vous des données à modifier sur la gamme étalon ?

**Question 3 :** Les données sont-elles exploitables ?

Vous recommencez le dosage en diluant vos échantillons et en faisant des triplicats , mais énervés et pressés, vous avez "oublié" de réaliser une gamme d'étalonnage et vous décidez alors d'utiliser les courbes obtenues par d'autres binômes (figure 2).

**Question 4 :** Discutez les courbes obtenues par les deux binômes (figure 2).

**Question 5 :** Quelles est la concentration en protéines réelle de vos lysats cellulaires (figure 2) ?

**Question 6 :** Que faudrait-il faire pour s'assurer des concentrations que vous venez de calculer ?

### EXERCICE 2 : RISQUES LIÉS AUX PRODUITS CHIMIQUES

A partir des premières pages de la fiche de sécurité du réactif de Folin, remplissez le tableau ??

### EXERCICE 3 : PROTOCOLE DE BIOCHIMIE

En prenant en compte les risques associés aux expérimentations, le besoin de références fiables et la nécessité de répétition, établissez le protocole détaillé en laboratoire de biochimie que vous allez réaliser pour votre projet.

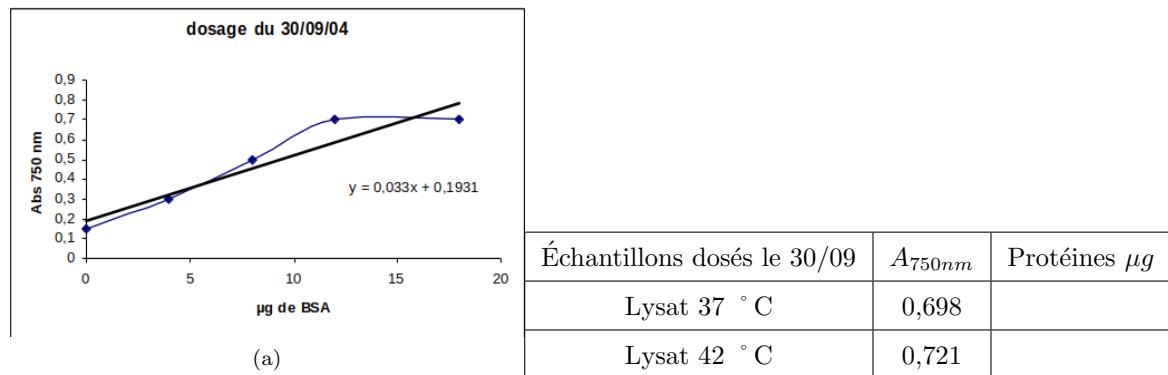
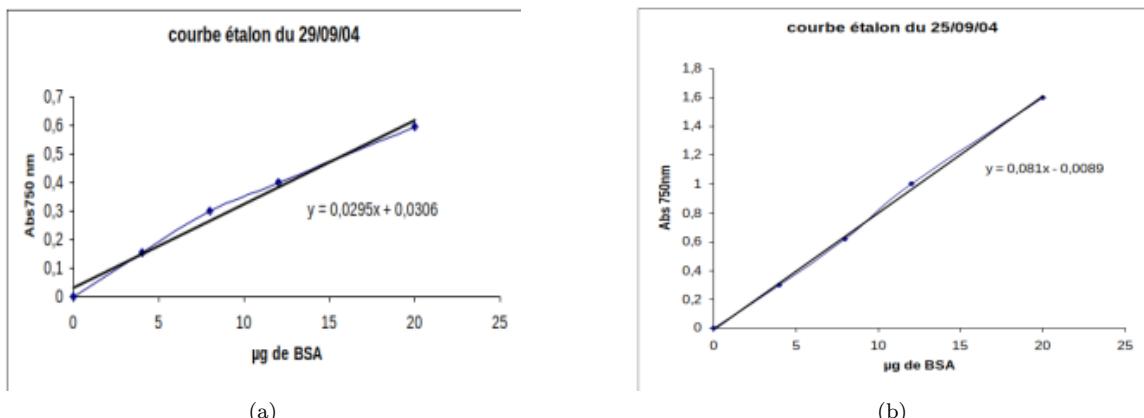


FIGURE 1 – Gamme étalon et dosages des échantillons réalisés le 30/09



Échantillons dosés le 30/09	Moyenne des $A_{750nm}$	Protéines $\mu g$ courbe 29/09	Protéines $\mu g$ courbe 25/09
Lysat 37 ° C	0,1760	2,5	1
Lysat 42 ° C	0,249	3,18	1,53
Lysat 45 ° C	0,364	5,7	2,2

(c)

FIGURE 2 – Gamme étalon et dosages des échantillons

TABLE 1 – Tableau des risques et mesures de protection pour le réactif de folin

Catégories de risques	Pictogramme associé	Mesures de Protections

Enseignant

UNIVERSITÉ DU SUD TOULON VAR  
LICENCE DE SCIENCES DE LA VIE

**TD Protocole 2 (Etudiant)**  
**Ecosystème GO**  
**Terrain**  
Janvier 2023

JL. Cadiou

## I. EXERCICE THÉORIQUE DE COMPTAGE AU QUADRAT (45 MIN)

### 1. Utilité du comptage en écologie

Pour comprendre ce qu'est un quadrat, il vous faut lire le document “Fabrication et utilisation d'un quadrat” disponible sur moodle ([ici](#)).

### 2. Comptage au quadrat sur un exemple

#### 1. *Exercice de comptage*

Mesurez l'abondance relative des différents céréales mis à votre disposition. Les mesures et les calculs devront apparaître dans un tableur numérique automatisés. Les calculs statistiques sont attendus. Un graphique bilan est attendu.

#### 2. *Matériel à disposition*

Le matériel à votre disposition devra être rendu à la fin de la séance.

- Un sac de légumineuse à répartir sur votre table
- Un kit “quadrat” contenant :
  - 8 baguettes en bois de 1 cm
  - 8 baguettes en bois de 5 cm
  - 8 baguettes en bois de 10 cm
  - 8 baguettes en bois de 50 cm
  - Du scotch

## II. LES PROTOCOLES DE SUIVI DE BIODIVERSITÉ DISPONIBLE

Les protocoles de suivi de biodiversité que les étudiant · e · s créerons doivent s'inspirer des protocoles proposer dans le fichier “Comptage sur un quadrat” et “Protocole d'observation (observatoire des saisons)”.

## III. RÉDACTION DE LA FICHE PROTOCOLE VERSION 3

Vous présenterez et vous travaillerez sur la nouvelle version de votre fiche protocole.

## SEMAINES 7 À 20

### ÉTAPE 3 : RÉALISATION DES MESURES EN DEHORS DE L'UNIVERSITÉ

#### Les mesures en dehors de l'université

Vous devez tous réaliser des mesures de la semaine 7 à 20. Vous allez devoir :

- Aller chercher vos plantes une fois la décharge signée par les encadrants
- Appliquer le protocole de mesure de croissance tel que décrit dans le protocole d'équipe.
- Appliquer le protocole de mesure (dès la semaine 4) de paramètres climatiques corrigé dans votre station de mesure
- Aller **au moins** quatre fois sur le terrain pendant la période afin d'appliquer les protocoles de terrain : mesures climatiques, déchets et biodiversité

*Nota Bene* : Les mesures climatiques de votre stations pourraient être mises en relation avec la croissance des vos plantes. Pensez à les organiser dans l'espace de façon cohérente.

#### Les preuves

Les expériences se faisant sur le terrain et à votre domicile, vous devez nous fournir des preuves de votre travail :

- Les mesures effectuées doivent toute être renseignées dans le google sheet commun
- Chaque étudiant devra réaliser des photos de son travail et de ses sorties et les inclurent à son Carnet de Bord comme preuves. Un dossier de photo devra être ajouté au Carnet de Bord dans les rendus ou partagé sur google drive.

*Nota Bene* : Les fichiers contiennent des métadonnées donnant accès à de nombreuses informations. Toute métadonnée montrant une tentative de triche ou d'utilisation de photographies truquées ou réalisées par d'autres donnera lieu à un conseil de discipline.

#### Avoir un esprit critique

Pendant vos mesures, vous allez vous rendre compte des défauts de votre protocole ou vous allez être obligé de réaliser des adaptations. Vous devez tout noter dans votre carnet de bord. Si adaptation il y a, il est important de les faire adopter par toute l'équipe afin de pouvoir utiliser l'ensemble des données récoltées

**SEMAINES 14-15**  
**ÉTAPE 3 : RÉALISATION DES MESURES EN LABORATOIRE**

**Objectif des séances**

Les deux séances de réalisation des expériences du projet sont la finalisation des projets construits par les étudiants.

**Préparation et déroulement de la séance**

	Étudiants
Avant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Préparer une version papier (imprimée) de vos livrets protocoles corrigés</li><li><input type="checkbox"/> Préparer une ligne de temps de vos 6h d'expérience</li><li><input type="checkbox"/> Préparer votre matériel : blouse, marqueur, cheveux attachés, vêtements en coton, chaussures fermées, pas d'ongles longs ou de bagues, bracelets.</li></ul>
Pendant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Réalisez individuellement les expériences prévues</li><li><input type="checkbox"/> Appeler l'enseignant pour montrer votre utilisation du matériel</li><li><input type="checkbox"/> Appeler l'enseignant pour être évalué sur le traitement des déchets et le nettoyage du matériel.</li></ul>
Après la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Réaliser le traitement des données et le livret de résultats individuellement</li></ul>

**Évaluation**

**SEMAINES 15 À 22**  
**ÉTAPE 4 : ANALYSER LES MESURES**

**Objectif**

C'est la dernière ligne droite. A partir de toutes les données récoltées par l'équipe, chaque étudiant va proposer une analyse de ces résultats. L'étudiant doit :

- **Traiter les données**- mathématiquement et statistiquement en utilisant correctement un tableur excell ou open office. Les autres tableurs dont google sheet sont moins efficaces sur les graphiques.
  - Réaliser des moyennes/écart-types pertinents
  - Réaliser deux graphiques : un avec les données climatiques et un avec les données de croissance (Mettez des doubles axes pour faire rentrer toutes vos données)
  - Compléter avec une figure de caractérisation de l'écosystème.
- **Réaliser des figures** avec les données à mettre dans le livret de résultats en respectant les règles vues en SAE13
- **Analyser les résultats** obtenus pour chaque analyse selon la méthode scientifique (document conseil de rédaction) :
  - Rappeler l'objectif de l'expérience et le principe de l'expérience : "qu'est-ce que je fais?"
  - Décrire quantitativement et qualitativement les résultats obtenus sans donner d'opinion ou d'interprétation. "Qu'est-ce que je vois ?"
  - Interpréter vos observations de façon à répondre ou non à votre questionnement et donc à conclure "Qu'est-ce-que j'interprète ?".

**TD3 Analyse des résultats de terrain et TD3bis analyse de résultats de laboratoire semaine 18**

Ces TD sont réalisés dans l'objectif de vous aider à traiter vos mesures et à rédiger une analyse. Vous devez donc arriver en TD avec votre tableur individuel et votre livret de résultats prêts de façon à ce que ce TD soit profitable.

	Étudiants
Avant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Commencer à traiter vos résultats dans un fichier excell ou open office</li><li><input type="checkbox"/> Préparer votre livrets de résultats avec les figures</li><li><input type="checkbox"/> Préparer des questions éventuelles</li></ul>
Pendant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Posez vos questions et montrez vos documents</li></ul>
Après la séance	

**Tutorats 2 et 2bis semaine 20 individuels**

Vous aurez semaine deux fois 10mn de tutorat individuel par encadrant pour corriger vos tableurs et vos livret de résultats. L'avancée du carnet de bord sera notée par l'enseignant. Vous devez avoir rempli et déposer votre carnet de bord avec le livret de résultat individuel et rendre le tableur dans le même espace moodle. Vous verrez l'enseignant de laboratoire pour la partie croissance végétale et l'enseignant terrain pour la partie terrain.

Étudiants	
Avant la séance	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Remplir le carnet de bord jusqu'au livret de résultats</li> <li><input type="checkbox"/> s'inscrire deux jours à l'avance au plus tard sur les créneaux de tutorat</li> </ul>
Pendant la séance	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Prendre impérativement des notes sur les corrections demandées par l'enseignant ( dans votre carnet de bord)</li> <li><input type="checkbox"/> Corriger au fur et à mesure si possible le livret de résultats</li> </ul>
Après la séance	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Finir le livret de résultats</li> <li><input type="checkbox"/> Finir le fichier de traitement des données</li> </ul>

## ***Partie III***

---

### ***Ressources associées***

---

**SEMAINES 4-8**  
**TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE**

**Objectif des séances**

L'objectif des séances de travaux pratique de biochimie est d'apprendre à réaliser de façon précise des expériences de biochimie. Ici l'apprentissage est axé sur les techniques de dosage et de CCM qui sont décrites dans le polycopié de travaux pratiques ci-après. Les étudiants doivent aussi apprendre à respecter les règles d'hygiène et de sécurité ainsi que de respect de l'environnement (traitement des déchets). Des exercices en ligne sont à réaliser à partir de la vidéo "sécurité en TP de biochimie" avant de venir en salle de travaux pratiques. La fiche "TP d'apprentissage" est à pré-remplir avant chaque TP. Ces exercices et fiches ainsi que l'arrivée avec le matériel demandé conditionne l'accès à la salle de biochimie. En absence de ces éléments, l'étudiant sera renvoyé jusqu'à ce qu'il remplisse les conditions.

**Préparation et déroulement des séances**

Etudiants	
Avant la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Réaliser l'activité sur moodle sur les règles d'hygiène, sécurité et environnement en laboratoire de biochimie à chaque séance.</li><li><input type="checkbox"/> Consulter l'énoncé de Travaux Pratiques à chaque séance.</li><li><input type="checkbox"/> Pré-remplir la fiche "TP d'apprentissage" pour les item indiqués</li></ul>
Pendant la séance (travail individuel)	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Venir avec une blouse et un marqueur</li><li><input type="checkbox"/> Présenter la fiche "TP apprentissage" à l'enseignant</li><li><input type="checkbox"/> Réaliser les expériences en respectant les règles HSE</li><li><input type="checkbox"/> Appeler l'enseignant pour l'évaluation de la qualité du pipetage et l'utilisation du spectrophotomètre</li><li><input type="checkbox"/> Appeler enseignant avant de jeter les déchets pour l'évaluation des règles HSE.</li></ul>
Après la séance	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Préparer la fiche Tp apprentissage</li><li><input type="checkbox"/> Ajouter la fiche dans le carnet de bord</li></ul>

**Évaluation**

Les grilles évaluation des TP de biochimie incluant l'évaluation pendant les travaux pratiques et l'évaluation de la fiche sont fournies.

# Fiche TP apprentissage

NOM — PRÉNOM

Travaux pratiques de biochimie

## Analyse des résultats

*[Analysez ici les résultats obtenus après la séance de Tp concernée]*

## Figures réalisées

*[Analysez ici les figures de résultats obtenues après la séance de Tp concernée]*

## Travaux Pratiques de Biochimie

### Organigramme des expériences

[Insérez ici un organigramme complet des différentes étapes des expériences à réaliser *avant la séance de Tp concernée*]

NOM — PRÉNOM

### Travaux pratiques de biochimie

#### Expérimentation

#### Protocole

[Insérez ici les protocoles des expériences complets *avant la séance de TP concernée*]

#### Difficultés rencontrée

[Insérez ici difficultés rencontrées pendant le TP *après la séance de Tp concernée*]

#### Traitement des données

[Insérez ici les calculs réalisés *avant la séance de Tp concernée* pour les calculs prévisibles en amont (concentration des solutions par exemple) et *après la séance de Tp concernée* pour les calculs sur les valeurs obtenues]

#### Risques et EPI

[Insérez ici le tableau de risque et traitement des déchets complets *avant la séance de Tp concernée*]

TABLE 1 – Tableau des risques et mesures de protection pour le réactif de folin

Nom du produit	Numéro cas	Catégories de risques	Pictogramme associé	Mesures de Protections	Poubelle

## **Travaux Pratiques de Biochimie**

**Suite éventuelle du traitement des données**

**SEMAINE 6**  
**TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE**

**Objectif de la séance**

**Préparation et déroulement de la séance**

	Etudiants
Avant la séance	<input type="checkbox"/> Consulter l'énoncé de TP <input type="checkbox"/> Préparer la fiche TP Apprentissage
Pendant la séance (travail individuel)	<input type="checkbox"/> réaliser les expériences <input type="checkbox"/> réaliser le traitement des données
Après la séance	<input type="checkbox"/> Ajouter le CR dans le carnet de bord

**Évaluation**

La grille d'évaluation en séance est indiquée à la suite dans le respect des compétences décrites dans le référentiel.

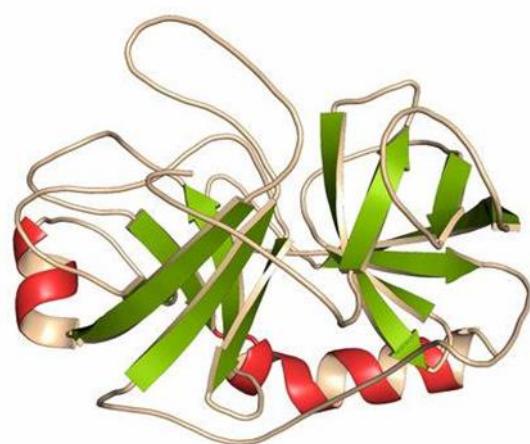
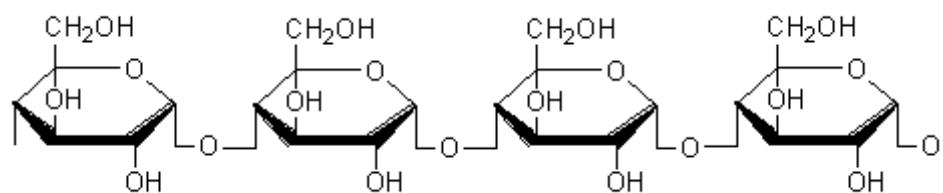
**SEMAINE 10 À 13**  
**TRAVAUX PRATIQUES DE BIOLOGIE ANIMALE ET VÉGÉTALE**

**Université de Toulon**

UFR Sciences et Techniques

Travaux Pratiques de Biochimie  
L1 SV

**Travaux pratiques de Biochimie 6h**



## RECOMMANDATIONS

**Il est recommandé de venir à la séance de TP en ayant pris connaissance du contenu de la séance.**

Pour les séances de Travaux pratiques, vous devez apporter:

**Votre polycopié de TP, votre cahier de laboratoire, une blouse blanche, un feutre - marqueur pour le verre, une calculatrice et des feuilles blanches format A4.**

**Les cheveux doivent être attachés,**

**Les chaussures doivent protégées les pieds (pas de chaussures ouvertes),**

**Rien ne doit être mis dans la bouche (pas de chewing gum...)**

**Les téléphones portables sont éteints.**

En outre, les étudiants présentant une allergie au latex doivent se procurer des gants de vinyle (en supermarché) pour pouvoir manipuler les produits dangereux.

### I - CAHIER DE LABORATOIRE

Ce cahier doit permettre à l'étudiant de garder une trace écrite de ce qu'il fait en TP et d'acquérir la rigueur indispensable à la prise de notes lors d'un travail expérimental. Il permettra également de rédiger le compte rendu de TP correspondant.

Le cahier de laboratoire est un document de travail personnel dont le contenu doit pouvoir être utilisé par toute autre personne. A ce titre il doit être tenu sous une forme bien définie et être rédigé de manière claire et lisible.

#### *Format et rédaction*

Le cahier sera sans spirales et toutes les pages devront être numérotées.

Sur la première page (page 001), l'étudiant indiquera : nom, prénom, année d'étude, année universitaire. Les pages 002 à 005 seront réservées à l'écriture de la table des matières qui sera actualisée au fur et à mesure des séances. Ce cahier est un document de travail, **il doit donc être complété sur place et à chaque séance**, si besoin est.

Le cahier de laboratoire doit être suffisamment complet pour qu'on puisse s'y référer et réaliser à nouveau l'expérience décrite dans les mêmes conditions expérimentales et obtenir les mêmes résultats dans les limites d'erreur établies.

On pourra trouver dans ce cahier et pour chaque séance :

- le titre de l'expérience
- la démarche expérimentale
- les conditions expérimentales
- les observations
- les mesures
- un exemple de calcul et/ou un traitement préliminaire des données
- ainsi que tout commentaire ou appréciation utile au bon déroulement de la manipulation y compris les problèmes rencontrés et les solutions apportées.

Le cahier étant numéroté, aucune page ne pourra être arrachée. Une encre ineffaçable sera utilisée à la rédaction. Ecrire directement dans le cahier sans rien retranscrire, pas de feuilles volantes. Si une erreur est constatée, il faudra la rayer proprement sans la faire disparaître et écrire à côté la correction ainsi que le motif.

### II - CONNAISSANCE DES PRODUITS CHIMIQUES ET DES RISQUES

Actuellement, il existe des centaines de milliers de substances organiques et de produits minéraux. Parmi eux, près de 50 000 présentent, à divers degrés, un danger pour la santé et la sécurité des manipulateurs. Les risques associés aux produits chimiques sont essentiellement de deux ordres : d'une part ces produits peuvent avoir une action néfaste sur l'organisme et c'est alors leur toxicité qui intervient ; d'autre part ces produits sont souvent inflammables.

## **1) CONTAMINATION PAR LES SUBSTANCES DANGEREUSES**

Les substances dangereuses peuvent :

1. contaminer la peau et les yeux par contact
2. contaminer l'air, sous forme de poussière, fumée, gaz, vapeur et aérosol
3. être portées à la bouche par méprise ou par les mains souillées.

## **2) VOIES DE PENETRATION DANS L'ORGANISME**

Les substances dangereuses peuvent entrer dans l'organisme par plusieurs voies à la fois :

la voie respiratoire : les gaz, poussières, vapeurs, fumées pénétrant par inhalation dans les poumons et de là dans le sang

la voie digestive : les solides ou liquides sont avalés dissous et résorbés au niveau du tube digestif plus ou moins totalement

la voie cutanée : les liquides ou les gaz pénètrent dans l'organisme à travers la peau.

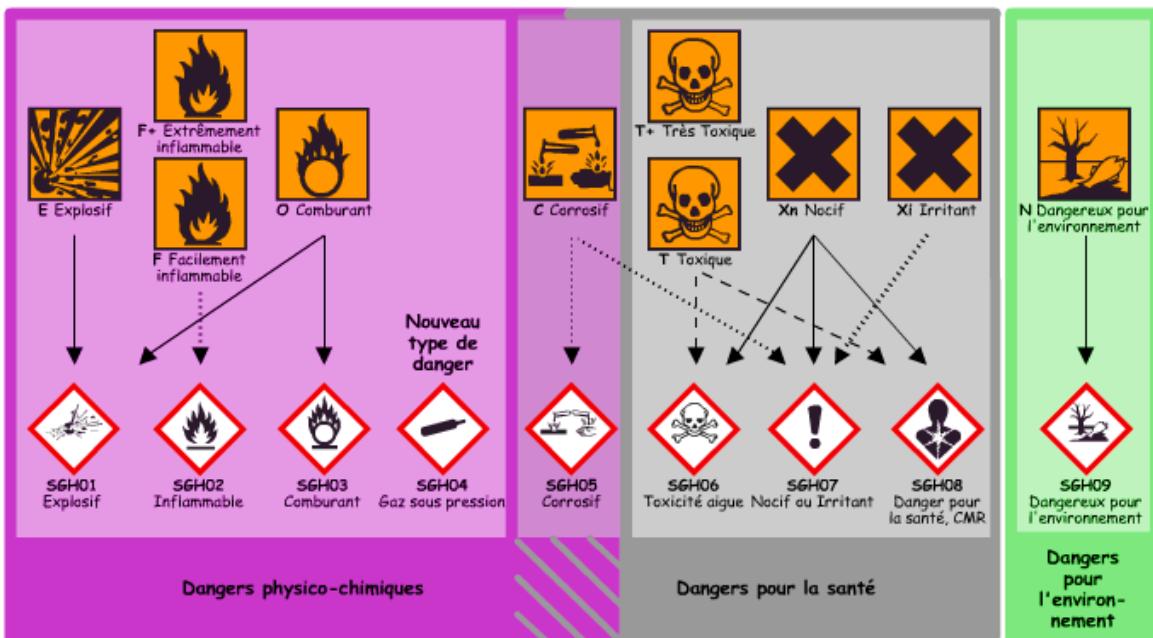
## **3) RISQUES DES SUBSTANCES DANGEREUSES**

Chaque substance dangereuse a ses risques particuliers. On peut classer ces risques en se basant sur la nature des effets. La réglementation classe les diverses substances en :

Substances explosives E Substances comburantes O Substances inflammables F Substances toxiques T	Substances nocives Xn Substances corrosives Co Substances irritantes Xi Substances dangereuses pour l'environnement D
---	--

selon le danger et la nature spécifique des risques. Cette classification a été récemment modifiée et remplacé par le Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH) élaboré au niveau international. L'acronyme « CLP » signifie en anglais, « **Classification, Labelling, Packaging** » c'est-à-dire « **classification, étiquetage, emballage** ». Le règlement CLP est l'instrument réglementaire permettant de faire appliquer les recommandations du SGH au sein de l'Union européenne. Ce texte européen définit les règles en matière de classification, d'étiquetage et d'emballage des produits chimiques pour les secteurs du travail et de la consommation.

## 10 pictogrammes



## 9 pictogrammes SGH (CLP)

© Kaptitude.com

### 4) IDENTIFICATION DES SUBSTANCES DANGEREUSES

Une mesure importante qui permet de travailler en sécurité avec des substances dangereuses est la mise au point d'un système d'identification et d'information efficace qui doit permettre d'identifier rapidement les substances, de noter les risques dus à ces produits et de recommander des mesures préventives. On trouve des listes de substances dangereuses avec leurs noms, symboles de dangers éventuels, catégories de risques : phrases R (risques) et S (sécurité).

### 5) ETIQUETAGE

L'étiquette sur tout emballage ou récipient doit comporter les indications suivantes :

1. le nom de la substance
2. les mentions spécifiques de danger et/ou les symboles qui s'y rapportent
3. les phrases mentionnant les risques particuliers dérivant de ces dangers : Phrases R (risques)
4. les phrases mentionnant les conseils de prudence destinés à pallier tous ces risques : Phrases S (sécurité)
5. le nom et l'adresse du fabricant ou de toute autre personne qui met cette substance à la disposition des utilisateurs.

### 6) CONSIGNES GENERALES DE SECURITE

- Eliminer le risque.
- Circonscrire le risque à la source.
- Prendre des mesures de prévention matérielle.
- Utiliser des moyens de protection.
- Au cours des manipulations de chimie, manipuler toujours au-dessus de la table :

*Les souliers ne résistent pas à l'action des produits chimiques !*

### 1. 7) PRECAUTIONS NECESSAIRES

La manipulation des produits dangereux doit être entourée de toutes les précautions nécessaires :

- Porter des lunettes de protection.

- Indiquer au marqueur indélébile, sur chaque récipient la nature de la substance qu'il contient.
- Ne jamais pipeter à la bouche. Porter des gants lors de la manipulation de produits corrosifs ou hautement toxiques par contact (produits allergisants).
- Travailler si possible sous une **hotte ventilée pour les produits volatils toxiques** par inhalation, ou pour toute réaction susceptible de dégager des gaz toxiques, et loin d'une source de chaleur ou d'électricité statique.
- Ne jamais jeter à l'évier des solvants toxiques ou inflammables.
- Se laver soigneusement les mains après la manipulation des produits toxiques.
- Ne jamais fumer, boire, manger, dans la salle de travaux pratiques.

#### **8) NETTOYAGE**

A la fin de la séance de manipulation, videz dans les « **bidons déchets** » réservés à cet effet tout vos récipients souillés et **nettoyez toute votre verrerie sans oublier les inscriptions aux marqueurs**.

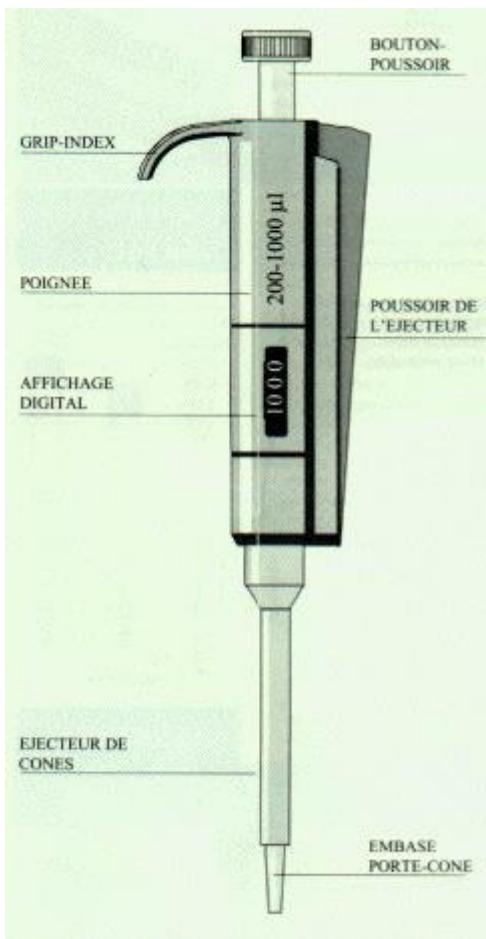
**Nettoyez soigneusement la paillasse** ou la table quand des produits chimiques y sont tombés. Prenez un chiffon ou un papier, éventuellement tenu avec une pince pour protéger les doigts.

**Ranger** comme à l'initial **votre paillasse** et débrancher les appareils électriques.

### **III – UTILISATION DU MATERIEL DE PRECISION**

- Les pipettes en verre graduées s'utilisent entre deux graduations.
- Les fioles jaugées sont homogénéisées par retournement.
- Les balances doivent être nettoyées après utilisation.
- **Les micropipettes sont du matériel de précision très onéreux, veillez à les utiliser de la façon suivante :**

## LA MICROPIPETTE



**1/ Choisir le bon instrument en fonction du volume désiré (*limite de prélèvement !*)**

- de 1 à 20 µL : utiliser une P 20
- de 20 à 200 µL : utiliser une P 200
- de 200 à 1000 µL : utiliser une P 1000
- de 1000 à 5000 µL : utiliser une P 5000

**2/ Regarder le cadran d'affichage numérique**

Pour les P20, P100, P200 :

Ex : P200

1
0
0
<b>1</b>
0

Le trait indique la virgule après l'unité **µL**

Pour 1000 et P5000

Ex : P1000

1
0
0
0

Le trait indique la virgule après l'unité **mL**

**3/ Débloquer la bague de maintien du volume**

**4/ Placer le cône convenable sur l'embout**

**5/ Appuyer sur le bouton pousoir jusqu'au 1<sup>er</sup> cran**

**5/ Introduire l'extrémité du cône dans le bêcher contenant la solution à pipeter**

**6/ Relâcher lentement le bouton pour faire entrer sans appel d'air le liquide**

**7/ Essuyer l'extérieur du cône**

**8/ Placer votre pipette cône collé sur la paroi du récipient où vous devez transférer la solution et à environ 60° par rapport au récipient.**

**9/ Presser sur le bouton lentement pour libérer le liquide**

**Il est ABSOLUMENT INTERDIT d'utiliser les P20, P200 et P1000 en dehors des "fourchettes" précisées ci-dessus.**

- Aucun liquide ne doit pénétrer dans le corps de la micropipette.
- Les solutions prélevées ne doivent être en contact qu'avec les cônes de prélèvement
- La micropipette doit toujours être maintenue verticalement et l'extrémité inférieure vers le bas.

## RAPPEL SUR LA REDACTION D'UN COMPTE RENDU DE TRAVAUX PRATIQUES

TOUS LES RAPPORTS DOIVENT ETRE DACTYLOGRAPHIES

## LES RAPPORTS ECRIS A LA MAIN NE SERONT PAS ACCEPTES

Le compte rendu doit obligatoirement être rédigé et traité dans l'ordre des différents points énoncés ci-dessous.

Nom et prénom du ou des auteurs ; Date de la manipulation

### **Titre du TP**

#### **I –Résumé (MAXIMUM 1/2 PAGE)**

Doit comporter l'objectif de l'étude, les méthodes utilisées et les résultats principaux.

#### **II-Introduction (MAXIMUM 1 PAGE)**

L'introduction doit contenir trois éléments :

- Amener le sujet : Replacer les travaux dans un contexte bibliographique plus général
- Présenter le but et les objectifs de l'étude.
- Principe des expériences réalisées.

#### **II I– Matériel et Méthode (MAXIMUM 1,5 PAGES)**

La partie Matériel et Méthode consiste à décrire le matériel spécifique utilisé en travaux pratiques et en la description des protocoles utilisés. **Vous devez rédiger et non établir des listes.**

##### A. Matériel

La partie ‘matériel’ n'est pas indispensable, elle sert à décrire le matériel biologique utilisé (anticorps, lignées cellulaires, enzymes) quand celui-ci est conséquent. Elle ne doit en rien être une liste exhaustive de la verrerie utilisée et doit être rédigée sous forme de phrases.

##### B. Méthodes

Dans cette sous-partie vous décrivez vos manipulations en **rédigeant**. Vous devez impérativement indiquer **les concentrations des solutions mères** que vous utilisez et les **temps d'incubation**. Si vous réalisez plusieurs fois le même type d'expérience, ne la décrivez qu'une fois et faites un tableau pour résumer les conditions particulières à chaque expérience. Vous devez être concis et nous devons être capables de refaire la manipulation à partir de votre compte rendu.

#### **Il ne faut surtout pas recopier le polycopié! (Si c'est le cas, c'est du plagiat)**

### **IV- Résultats et discussion**

Si le TP a donné lieu à plusieurs expériences, **chacune d'entre-elles** doit être décrite de la façon suivante :

Titre de l'expérience (clair et précis pour présenter le but de l'expérience)

- Introduction

En une phrase ou deux vous devez présenter l'objectif de l'expérience et son principe.

- Présentation des résultats

Les résultats doivent être présentés sous forme de figure, incluse dans le texte ou donnée en annexe. Pour les figures de résultat, vous devez :

- Graphique : titre, échelle, équation de la courbe, coefficient de corrélation, légende
- Tableau : titre
- Figures imagée (photo, dessin ou autre) : titre, une légende qui permette de comprendre la figure

Une figure doit se suffire à elle-même sans nécessiter de lire le texte à côté. Si vous avez fait des calculs pour obtenir votre figure vous devez donner un exemple de calcul.

- Analyse des Résultats :

Vous devez décrire vos résultats d'un point de vue qualitatif (ce que vous observez) et d'un point de vue quantitatif. Vous devez être rigoureux sur cette analyse.

- Discussion :

Tout résultat obtenu doit être discuté soit en analysant la qualité de votre manipulation soit en le comparant à la littérature. Cette discussion peut se faire progressivement au cours de l'analyse des résultats.

**Vous devez aller chercher dans la littérature et comparer vos résultats à des résultats théoriques. En cas de différence avec les données théoriques, vous devez expliquer pourquoi en vous basant sur les principes des techniques que vous avez utilisés.**

- Conclusion :

Il faut absolument faire une phrase de conclusion sur vos résultats. Si vos résultats ne vous paraissent pas suffisamment clairs pour répondre à la problématique, vous devez le dire à ce stade.

## V – Conclusion et Perspectives

Pour cela, vous réalisez deux paragraphes distincts :

- un paragraphe de synthèse des diverses expériences mises en œuvres et voir si vous avez répondu avec vos résultats à l'objectif de départ des travaux pratiques.
- Un paragraphe d'ouverture dans lequel vous proposerez des expériences complémentaires ou des expériences à réitérer.

**LES COMPTE-RENDUS SONT RENDUS À LA SÉANCE SUIVANTE. ILS SERONT NOTES EN TENTANT COMPTE DE TOUS CES CRITERES MAIS AUSSI DE LA QUALITE DE VOS MANIPULATIONS. DES AIDES À LA REDACTION DE LA PARTIE RESULTAT DE CHAQUE TP SONT DONNÉES DANS LE DESCRIPTIF DE LA SEANCE.**

**NB : Ce n'est pas la peine de gâcher des kilomètres de papier. Soyez concis et précis, vous ne serez pas notés au poids.**

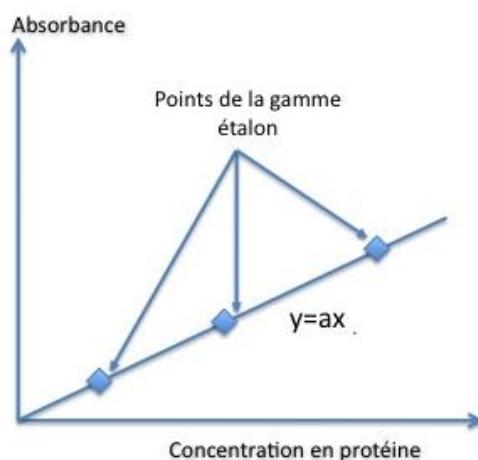
## VI – Références

# Introduction

Au cours de ces travaux pratiques les étudiants apprennent à doser, à séparer et à identifier des biomolécules. Le dosage des biomolécules d'intérêt (glucides et protéines) est réalisé en utilisant des méthodes colorimétriques. La séparation ainsi que l'identification des biomolécules se font par l'utilisation de chromatographie sur couche mince (CCM). **LE TRAVAIL DOIT ETRE PARTAGE.** **LA PREMIERE SEANCE UN ETUDIANT DU BINOME REALISE LE DOSAGE ET LE SECOND LA CCM. A LA 2<sup>E</sup> SEANCE LES ROLES SERONT INVERSES.**

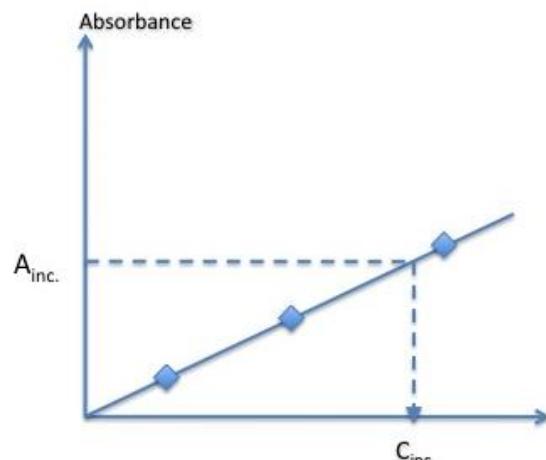
## I. Principe d'une gamme étalon

La solution à doser (concentration inconnue) ainsi que des solutions de la biomolécule d'intérêt (glucide, protéine ou acide nucléique) de concentration connue sont colorées en parallèle. A partir des solutions de concentration connue, on réalise une gamme étalon : absorbance en fonction de la concentration en biomolécule. La relation entre la concentration et l'absorbance est linéaire et suit la loi de Beer-Lambert :  $A = \epsilon l C$ , où  $A$  est l'absorbance en unités arbitraires,  $C$  la concentration en protéine en  $\text{mol.L}^{-1}$ ,  $l$  la longueur de la cuve en cm et  $\epsilon$  le coefficient d'extinction molaire des protéines en  $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ . A partir de cette droite, on peut déterminer la concentration de notre biomolécule d'intérêt dans la solution inconnue soit graphiquement en utilisant l'absorbance mesurée, soit en calculant l'équation de la droite.



Obtention d'une gamme étalon et méthode par le calcul

L'équation de la droite est :  $y=ax$ ; on mesure  $A_{inc}$ , l'absorbance de la solution de concentration inconnue, en posant  $y=A_{inc}$ , on trouve  $C_{inc}=A_{inc}/a$



Obtention d'une gamme étalon et méthode graphique

On reporte la valeur mesurée  $A_{inc}$  sur l'ordonnée graphique, on trace une ligne jusqu'à la droite étalon, puis une ligne de la droite étalon à l'axe des abscisses : la valeur pointée est la concentration recherchée  $C_{inc}$

L'équation de la droite est obtenue en tenant compte de chacun des points de la gamme: la plupart du temps, les imperfections expérimentales entraînent l'obtention de points qui ne sont pas parfaitement alignés. Pour obtenir une droite moyenne qui tient compte de tous les points il faut :

- calculer la pente moyenne :  $\bar{a}$ . Pour cela, pour chaque couple de point A, B, on calcule la pente :  $a_n = \frac{y_b - y_a}{x_a - x_b}$  puis on fait la moyenne des pentes obtenues :  $\bar{a} = \sum_n a_n$

- Calculer les coordonnées d'un point théorique : on pose  $x=1$  par exemple, on a donc un point de coordonnée  $x=1$  et  $y=\bar{A} \cdot 1$ . On place ce point sur le graphique et on trace la droite entre l'origine et celui-ci.

La qualité de la gamme étalon obtenue est estimée par une valeur statistique appelée coefficient de corrélation et noté  $r^2$ . Cette valeur est comprise entre 0 et 1, la valeur 1 correspondant à une droite parfaite. On considère que les résultats obtenus correspondent bien à une droite si le coefficient de corrélation est supérieur à 0,95, ce qui correspond à un écart moyen des points de 5% par rapport à la droite moyenne. Cette valeur est obtenue en utilisant la fonction régression linéaire de votre calculatrice.

Nota Bene : En théorie, à concentration en biomolécule nulle, l'absorbance est nulle. En pratique, nos biomolécules ne sont pas seules en solution et les ions ainsi que les réactifs de dosage peuvent absorber un peu en présence des biomolécules. Afin de palier à cette absorbance non due à la concentration en biomolécule, une expérience témoin est réalisée, dans laquelle la biomolécule est omise. L'absorbance de ce témoin  $A_0$  sera retirée de l'absorbance mesurée pour les points de la gamme étalon ou de la solution inconnue. On obtiendra un  $\Delta A_n = A_n - A_0$  pour chaque mesure. C'est cette valeur corrigée qui sera utilisée pour le graphique.

## II. Principe de fonctionnement du spectrophotomètre

Le spectrophotomètre est un instrument qui permet de mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée (pour une couleur donnée).

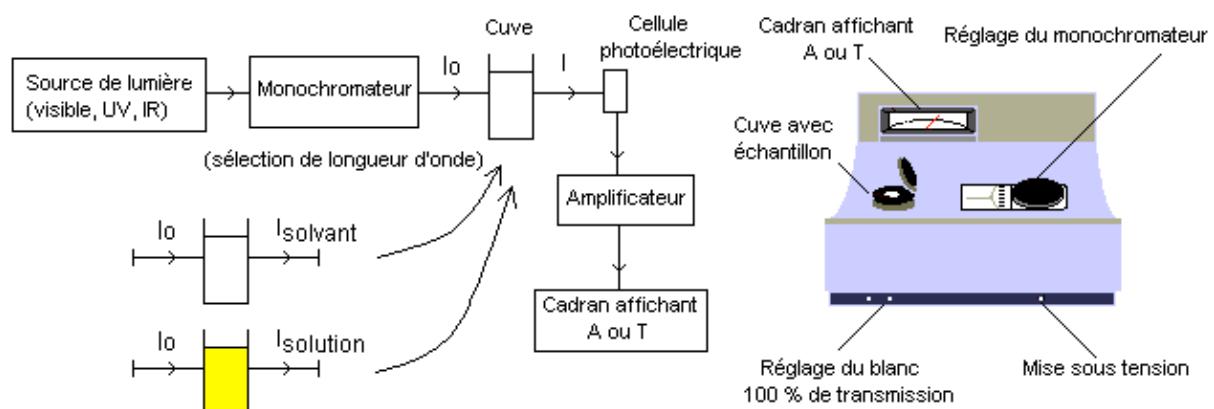


Figure 1 : Principe du spectrophotomètre

Pour mesurer l'absorbance, le spectrophotomètre envoie sur une cuve contenant la solution à mesurer un faisceau à la longueur d'onde voulue avec une intensité  $I_0$ . Selon le milieu traversé, cette intensité va être absorbée partiellement par l'échantillon et donc l'intensité va diminuer. Cette nouvelle valeur, notée  $I$ , est mesurée par un détecteur. L'absorbance est donnée par  $A = \log(I_0/I)$ , c'est donc une valeur sans unité. La mesure du spectrophotomètre ne donne une valeur d'absorbance correcte en dessous de 1. Au-dessus de  $A=1$ , nous sommes au-dessus des limites de mesure de l'appareil.

Cet instrument a besoin d'être calibré : il faut lui faire mesurer avant chaque expérience la valeur  $I_0$ , c'est ce qu'on appelle le zéro du spectrophotomètre ou le blanc. Pour cela, on peut notamment ne rien mettre dans l'instrument, appuyer sur le bouton « zéro ». Dans ce cas, on dit qu'on fait le zéro sur l'air. C'est ce qui sera réalisé ici.

### III. Chromatographie de partage sur couche mince (CCM)

Lorsqu'une substance est mise en présence de solvants non miscibles A et B, elle se répartit en solution entre ces deux solvants avec des concentrations  $C_A$  et  $C_B$  telles que :  $C_A/C_B = \text{constante}$ . Cette constante est appelée coefficient de partage de la substance considérée entre les deux solvants. A une température donnée et un système de solvants donné, cette constante est une caractéristique de la substance étudiée et indépendante de la concentration de la substance et n'est pas affectée par la présence d'autres solutés. Les chromatographies sur papier, sur couche mince et sur colonne sont basées sur le principe de la chromatographie de partage.

La phase stationnaire utilisant dans les TP de biochimie sera une couche mince de gel de silice sur plaque d'aluminium et la phase mobile des solvants non miscibles.

Les composants constitutifs du soluté se distribuent le long du parcours du solvant, selon leur coefficient de partage, entre le solvant organique et la phase aqueuse qui imprègne le support de silice. La chromatographie est ascendante, le solvant migrant du bas vers le haut du support. La distance parcourue par chaque substance depuis l'origine (ligne de base) par rapport front du solvant, définit  $R_f$  :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

La  $R_f$  est caractéristique d'une substance dans des conditions expérimentales données. Pour identifier une substance inconnue, il faut analyser par chromatographie simultanément une substance connue, présumée identique à celle qu'on étudie.

### IV. SECURITE

Produit	Etiquetage
Butanol	Inflammable ; Corrosif
Acide acétique	Inflammable ; Corrosif
Ninhydrine	Nocif ; Irritant
Réactif de folin	Nocif ; Irritant
3,5-dinitrosalicylate (DNS)	Nocif ; Irritant ; Inflammable ; Corrosif

## Travail Pratique 1 : Glucides

### Partie I : Etude de la structure d'un disaccharide.

Les glucides sont les biomolécules les plus abondantes sur terre. Les glucides peuvent avoir un rôle structural, énergétique ou fonctionnel. Les disaccharides résultent de la condensation de deux oses *via* une liaison O-osidique.

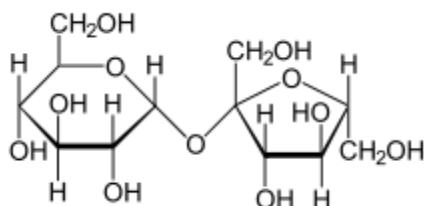


Figure 4 : Structure d'un diholoside (saccharose)

Nous disposons d'un diholoside d'intérêt biologique dont nous cherchons à déterminer la structure. Nous devons donc déterminer sa composition en oses ainsi que le type de liaison les unissant.

Pour cela, nous allons réaliser une chromatographie de partage sur couche mince après différents traitements afin d'identifier les oses constituant le diholoside d'intérêt.

Chaque binôme aura un diholoside à caractériser (A, B ou C). Plusieurs échantillons de ce diholoside seront traités de la manière décrite ci-dessous avant d'être séparé par CCM.

- a) le diholoside sans traitement
- b) le diholoside hydrolysé par HCl 0.1 M à 60°C pendant 1h
- c) et d) deux échantillons du diholosides digérées par des glycosidases, selon le diagramme ci-dessous :

Diholoside	Condition 'c'	Condition 'd'
A	α- glucosidase	β-glucosidase
B	β-fructosidase	β-glucosidase
C	β-galactosidase	β-glucosidase

#### 1. Protocole CCM

- Tracer la ligne de base au crayon à papier à 2cm du bord de la plaque de silice et un point tous les 1,4cm sur cette ligne à partir de l'extrémité.
- Déposer les échantillons : trois oses témoins (glucose, fructose et galactose) ainsi que les solutions expérimentales a,b,c,d sur ces points à l'aide d'une pipette Pasteur. Les dépôts doivent être de petits points et non de grosses taches. Sécher au sèche-cheveux immédiatement après le dépôt.

- Déposer la plaque (échantillon en bas) dans la cuve de chromatographie contenant le mélange de solvant : nbutanol/ethanol/eau (3:2:1)
- Laisser migrer le solvant jusqu'au deux tiers de la hauteur de la plaque.

#### **PENDANT LA MIGRATION FAIRE LA PARTIE II**

- Tracez la ligne de solvant à l'aide d'un crayon à papier puis séchez la plaque au sèche-cheveux
- Révéler en pulvérisant une solution de KMnO<sub>4</sub> (0.5%) dans 0.1 M NaOH.
- Sécher à l'étuve à 110°C 15 à 20 min.
- Tracez le contour des points obtenus au crayon gris et mesurer la distance de chaque point et du front de solvant par rapport à la ligne de base.

#### **2. Compte rendu partie CCM**

Pour la rédaction du compte-rendu vous devez suivre les consignes données au début du polycopié.

Pour la partie résultat, sur la chromatographie sur couche mince, vous devez :

- donner votre chromatogramme légendé .
- donner les R<sub>f</sub> ( sous forme de tableau) des points de tous les chromatogrammes.

Vous en déduirez la structure de ce diholoside. Comment confirmer vos résultats ?

## Partie II : Dosage des oses par le 3,5-dinitrosalicylate (DNS)

Le dosage des oses par le DNS repose sur le pouvoir des oses à réduire les complexes organiques. La réaction s'effectue à chaud et en milieu alcalin. Il y a réduction de l'acide 3, 5-dinitrosalicylique (composé jaune) en acide 3-amino-2-hydroxy-5-nitrobenzoïque (3-amino-5-nitrosalicylique) (composé rouge-orange), voir figure 5. L'intensité de la coloration rouge est proportionnelle à la concentration de l'ose dans la solution.

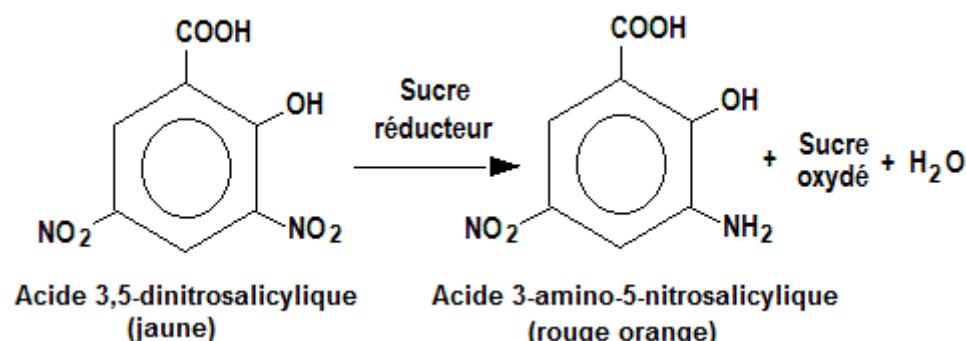


Figure 5 : Réaction de réduction du DNS.

### 3. Protocole expérimental.

Pour réaliser le dosage d'une solution de concentration inconnue de glucose en utilisant le DNS, vous disposez:

- Réactif au 3,5-dinitrosalicylate (DNS).
- Solution de glucose standard à 5 mmoles/L
- Solution de glucose de concentration inconnue.
- $\text{H}_2\text{O}$

### 4. Préparation de la gamme étalon et dilution de la solution à doser.

Afin d'obtenir une gamme étalon, différentes dilutions de la solution standard seront réalisées dans des tubes à essai selon la procédure suivante :

- numérotter et identifier 6 tubes à essai (numéros 1 à 6 et initiales du binôme)
- introduire 0-0,2-0,4-0,6-0,8 et 1 mL d'une solution de glucose à 5 mmol/L

Préparation en *duplicata* des tubes expérimentaux, contenant la solution de glucose de concentration inconnue :

- identifier 2 tubes à essai de la façon suivante ( E1a, E1b, E2a, E2b et initiales du binôme).
- introduire 0,5 mL et 1 mL de la solution inconnue.

Traitement commun :

- ajuster chaque tube à 2mL avec de l'eau distillée
- ajouter 2 mL de réactif (DNS)
- boucher chaque tube avec du papier aluminium.

- vortexer.
- incuber 5min au bain-marie bouillant.
- refroidir dans de la glace
- compléter le volume de chaque tube à 10mL avec de l'eau distillée.
- laisser reposer 15 minutes à température ambiante.
- lire les absorbances à  $\lambda = 530$  nm après avoir fait le zéro avec le blanc (sans glucose).

## 5. Compte rendu partie dosage

Pour rédiger cette partie du compte rendu, vous devez vous appuyer sur les consignes données au début du polycopié.

Dans la partie résultats, vous devrez :

- Donner la droite étalon avec l'équation, le  $r^2$  et les légendes appropriées
- Vous devrez utiliser ces valeurs pour en déduire la concentration en glucose dans la solution inconnue (avant dilution).

En annexe à votre compte rendu, vous ajouterez le tableau contenant les données brut (densité optique pour chaque dosage) ainsi que le détail des calculs.

## Travail Pratique 2 : Protéines

### Partie I : Etude de la structure d'un tripeptide

Les acides aminés sont les constituants essentiels des protéines. Ils sont liés les uns aux autres par une liaison peptidique de façon à former des enchaînements polypeptidiques. L'agencement spatial de chaque chaîne et de l'ensemble des chaînes les unes par rapport aux autres, confèrent à la protéine une conformation dont dépend son rôle biologique. La composition quantitative et qualitative en acides aminés et leur séquence dans les chaînes polypeptidiques confèrent la structure primaire d'une protéine.

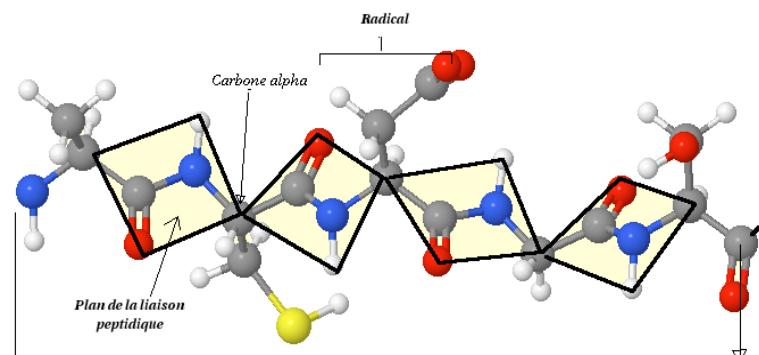


Figure 2 : Structure primaire d'un peptide

Nous disposons d'un tripeptide d'intérêt biologique dont nous cherchons à déterminer la structure. Nous devons donc déterminer sa composition en acides aminés ainsi que l'ordre de ces acides aminés dans la séquence.

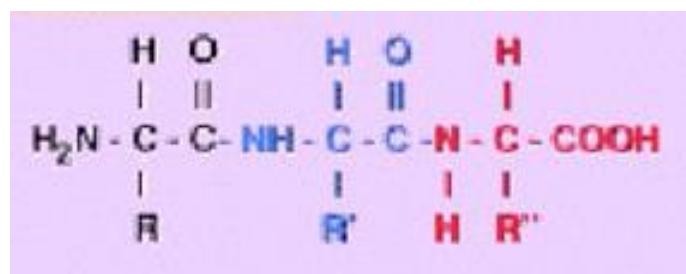


Figure 3 : Structure primaire d'un tripeptide

Pour cela, nous allons réaliser une chromatographie de partage sur couche mince afin d'identifier les acides aminés constituant le tripeptide d'intérêt.

Les solutés à testés seront issus d'un tripeptide qui aura subit différents traitements :

- le tripeptide sans traitement
- le tripeptide hydrolysé par HCl 5,7 M à 110°C pendant 18h
- l'acide aminé N-terminal purifié après digestion à l'aminopeptidase.
- l'acide aminé C-terminal purifié après digestion à la carboxypeptidase.

#### 6. Protocole CCM

- Tracer la ligne de base au crayon à papier à 2cm du bord de la plaque de silice et un point tous les 1,4cm sur cette ligne à partir de l'extrémité.
- Déposer les échantillons : trois acides aminés témoins et deux fois l'échantillon que vous testez (un des quatre présentés ci-dessus) sur ces points à l'aide d'une pipette Pasteur. Les dépôts doivent être de petits points et non de grosses taches. Sécher au sèche-cheveux immédiatement après le dépôt.
- Déposer la plaque (échantillon en bas) dans la cuve de chromatographie contenant le mélange de solvant : Butanol/acide acétique/H<sub>2</sub>O : 4 :2 :1.
- Laisser migrer le solvant jusqu'au deux tiers de la hauteur de la plaque.

#### **PENDANT LA MIGRATION FAIRE LA PARTIE II**

- Tracez la ligne de solvant à l'aide d'un crayon à papier puis séchez la plaque au sèche-cheveux
- Révéler en pulvérisant une solution de ninhydrine à 0,2% dans du butanol (sous une hotte chimique).
- Sécher à l'étuve à 110°C
- Tracez le contour des points obtenus au crayon gris et mesurer la distance de chaque point et du front de solvant par rapport à la ligne de base.
- Notez les résultats des autres binômes à l'aide d'un dessin à l'échelle de leur plaque.
- Jeter la plaque dans le contenant prévu à cet effet.

#### **7. Compte rendu partie CCM**

Pour la rédaction du compte-rendu vous devez suivre les consignes données au début du polycopié.

Pour la partie résultat, sur la chromatographie sur couche mince, vous devez :

- donner votre chromatogramme légendé et faire un dessin des autres chromatogrammes
- donner les R<sub>f</sub> ( sous forme de tableau) des points de tous les chromatogrammes.

Vous en déduirez la séquence de ce tripeptide

## **Partie II : Méthodes de dosage des protéines**

Différentes méthodes existent pour déterminer la concentration en protéine d'une solution inconnue. Parmi ces méthodes, nous pouvons citer les dosages colorimétriques. Ces dosages consistent à colorer spécifiquement les protéines en solution. Il existe trois méthodes de dosage colorimétriques qui diffèrent par les réactifs utilisés mais aussi par la sensibilité du dosage :

- Méthode du biuret : la zone d'utilisation est située entre 1 et 20 g.L<sup>-1</sup>. Les protéines sont dosées par la formation en milieu alcalin d'un complexe entre le cuivre et la liaison peptidique.
- Méthode de Folin-Ciocalteu : la zone d'utilisation est située entre 0,1 et 1 g.L<sup>-1</sup> de protéines. Le réactif de Folin (acide phosphotungstique et phosphomolybdique) donne une coloration bleue avec la tyrosine, le tryptophane, la cystéine et d'autres acides aminés. La coloration varie selon la composition en acides aminés des protéines.
- Méthode de Folin-Lowry : La zone d'utilisation est située entre 5 et 100 mg.L<sup>-1</sup>. En combinant le réactif de Folin avec le réactif de biuret, Lowry a réalisé un dosage très sensible. Cependant, ce dosage fait intervenir non seulement les liaisons peptidiques mais aussi certains acides aminés spécifiques tels que les acides aminés aromatiques et la coloration varie d'une protéine à l'autre.

### **8. Protocole expérimental du dosage par la méthode de Folin-Lowry**

Pour réaliser le dosage d'une solution de concentration inconnue de protéine par la méthode de Folin-Lowry, vous disposez de:

- réactif de folin commercial
- réactif A : Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,1% ; NaOH 0,4%
- réactif B : CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O 1%
- réactif C : Tartrate de Na et K 2%
- Protéine standard : solution de sérum albumine bovine (SAB) à 40mg.L<sup>-1</sup>
- Protéine inconnue : solution de protéine de concentration inconnue.

### **9. Préparation de la gamme étalon et dilution de la solution à doser.**

Afin d'obtenir une gamme étalon, on va réaliser différentes dilutions de la solution de protéine standard. Pour cela, on va mettre différents volumes V<sub>i</sub> (0-0,1-0,2-0,3-0,4-0,6-0,8-1 mL) et compléter avec de l'eau jusqu'à 2mL.

Pour plus de précision dans les mesures, on réalise également plusieurs dilutions de la solution inconnues. Pour cela, on met différents volumes V<sub>i</sub> de cette solution (0-0,5-1-2 mL) et on complète à 2mL avec de l'eau. Chaque dilution sera réalisée deux fois (en *duplicata*).

### **10. Coloration des protéines**

Vous devez d'abord préparer le réactif D à partir des réactifs a, B et C. Pour cela, ajouter dans une fiole jaugée de 50mL : 0,5 mL de B, 0,5 mL de C et compléter jusqu'au trait de jauge avec la solution A. Dans chaque tube :

- Ajouter 3mL de la solution D

- Vortexer
- Attendre 10 minutes
- Ajouter 0,1mL de réactif de Folin
- Vortexer
- Incuber 30mn à l'obscurité

*Nota bene :* Pour une bonne qualité de vos mesures, vous ne devez pas changer de manipulateur au cours de l'ajout d'un réactif. Par exemple, la personne qui ajoute la protéine dans le tube 1, l'ajoute dans tous les tubes. De cette façon ; l'erreur potentiellement réalisée est la même dans tous les tubes.

## 11. Mesure de l'absorbance

Pour chaque tube, vous devez mesurer l'absorbance. Pour cela :

- faites le zéro du spectrophotomètre sur l'air.
- Transférer un peu de l'échantillon du tube 0 dans une cuve de mesure LOIN DU SPECTROPHOTOMETRE.
- Placer la cuve dans le spectrophotomètre avec le côté transparent de la cuve face au faisceau
- Mesurer l'absorbance à 750 nm
- Vider TOUT le contenu de la cuve dans son tube d'origine
- Recommencer avec le tube 1.

Si vous mesurez l'absorbance, en prenant vos tubes dans l'ordre des concentrations croissantes en protéine, vous n'avez pas besoin de laver la cuve entre deux mesures. Vous aurez besoin de deux cuves : une pour la gamme étalon et une pour les échantillons.

## ATTENTION :

- Vos valeurs ne sont valables que si l'absorbance est inférieure à 1
- Les valeurs d'absorbance des échantillons doivent être inférieures à la valeur d'absorbance la plus forte de la gamme étalon. Cette gamme n'est pas extrapolable aux plus fortes concentrations.

## 12. Compte rendu partie dosage

Pour rédiger cette partie du compte rendu, vous devez vous appuyer sur les consignes données au début du polycopié.

Dans la partie résultats, vous devrez :

- Présenter un graphique avec la droite étalon (courbe standard) avec l'équation, le  $r^2$  et les légendes appropriées
- Vous devrez déterminer la concentration en protéine inconnue dans chaque tube par la méthode graphique et par le calcul.
- Vous devrez utiliser ces valeurs pour en déduire la concentration en protéine dans la solution inconnue mère (avant dilution).

En annexe à votre compte rendu, vous ajouterez le tableau donné en fin de polycopié en justifiant chaque calcul en prenant un tube pour exemple.

Tube	Gamme étalon							Echantillons						
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9a	9b	10a	10b	11a
Solution Standard (mL)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	1	0	0	0	0	0	0
Solution inconnue (mL)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	1	1	2
H <sub>2</sub> O (mL)														
Solution D (mL)									3mL					
Folin (mL)									0,1mL					
A <sub>750nm</sub>														
ΔA <sub>750nm</sub>														
C <sub>p,stand</sub> mol.L <sup>-1</sup>														
C <sub>p,inc</sub> mol.L <sup>-1</sup>														

Tableau 1 : Tableau du dosage de protéine à reproduire et à remplir.

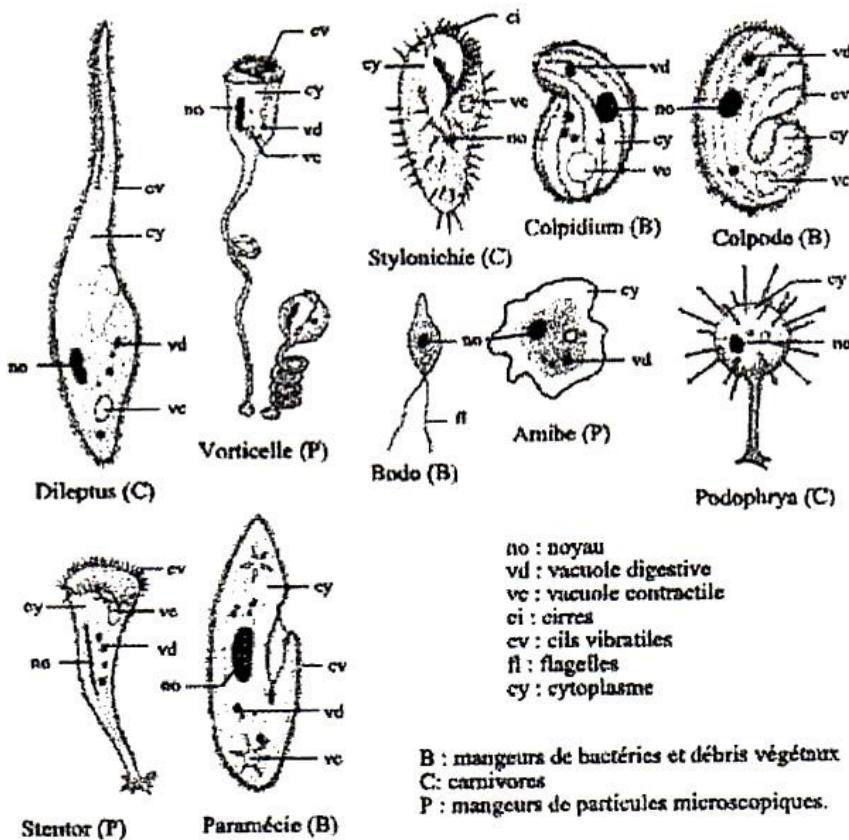
# TP de biologie animale n° 1 : Ciliées et Cnidaires

Objectif du TP : Observer des organismes divers, leur structure et discuter de leur position phylogénétique.

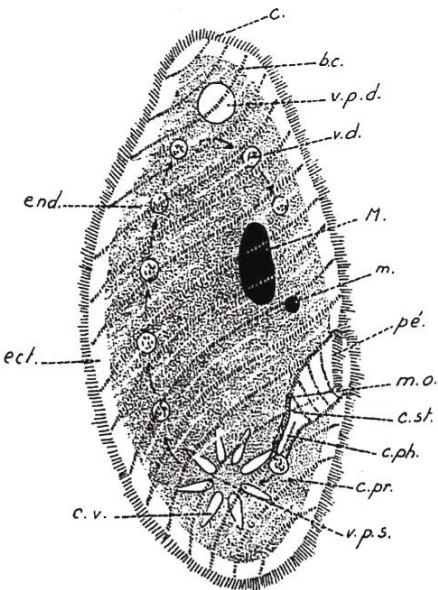
1h30 ciliées et 1h30 cnidaires

## A) Ciliées

Les Protozoaires sont des organismes unicellulaires qui présentent une grande diversité, et sont regroupés en trois embranchements : les **Sarcomastigophores**, (**polyphylétique**, regroupant Flagellés, Rhizopodes et Actinopodes), les **Apicomplexes**, et les **Ciliés**. Les Ciliés sont aussi appelés **Infusoires**, car on peut les cultiver sur une infusion de végétaux laissée au soleil, et à température ambiante, pendant quelques jours. Les Ciliés sont très divers et nombreux dans les eaux douces, plus particulièrement dans les **eaux stagnantes**. Ils portent des **cils vibratiles** à la surface de leur cellule, d'où leur nom de Ciliés.

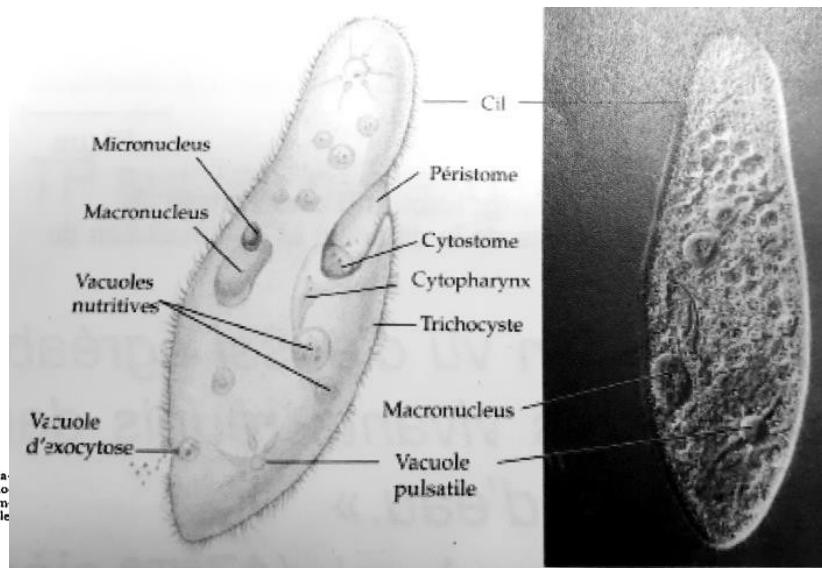


Ils présentent une caractéristique génétique exclusive, car ils contiennent deux types de noyaux : un seul gros **macronucléus**, et un **micronucléus** (ou plusieurs micronucléi en fonction des espèces ou du stade de leur reproduction sexuée) de petite taille. Le macronucléus est le lieu de la transcription de l'ARN, et de la traduction en protéines. Le micronucléus est essentiel à la reproduction sexuée, laquelle s'effectue par conjugaison. Parmi les Ciliés, se trouvent les **Paramécies** (genre *Paramecium*).



*Paramecium caudatum.* b.c., bande ciliale ; c., cilis ; cph., cytopharynx ; cpr., cytoprocte ; cst., cytostome ; c., v., canal vacuolaire ; ecl., ectoplasme ; end., endoplasmé ; m., micronucléus ; M., macro-nucléus ; m.o., membrane ondulante ; pè., péristome ; v.d., vacuole digestive ; v.p.d., vésicule pulsatile en diastole ; v.p.s., vésicule pulsatile en systole.

**Figure 2 : Anatomie d'une Paramécie (Anatomie animale et dissection' par TIXIER et GAILLARD (Editions Vigot Frères))**



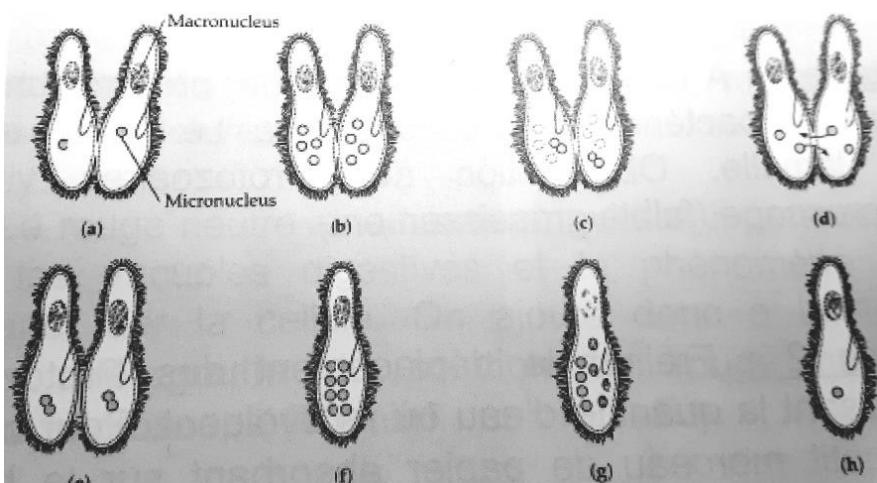
Les Paraméciennes sont des Ciliés **holotriches**, portant donc un revêtement ciliaire uniforme réparti en bandes. La Paramécie est une cellule en forme de pantoufle recouverte d'une **pellicule complexe**. Cette pellicule est composée d'une membrane externe, et d'une couche interne d'alvéoles à l'intérieur desquelles sont implantés des **cils vibratiles**. La pellicule complexe contient des organites de défense appelés trichocystes. Chaque **trichocyste** se termine par une pointe acérée contenant des toxines, pouvant être éjectée rapidement lors d'une minuscule explosion. Le cytoplasme de la Paramécie est composé de deux zones : l'une externe, appelée **ectoplasme**, l'autre interne, appelée **endoplasme**. L'ectoplasme apporte la rigidité et empêche les déformations excessives. L'endoplasme est le siège d'un mouvement continu des vacuoles digestives, appelé **cyclose**. La face ventrale de la Paramécie présente une dépression oblique appelée **péristome**, correspondant à l'orifice oral. Le péristome débouche sur le cytostome, puis sur le **cytopharynx** garni d'une membrane ondulante. La proie/matière organique est entraînée vers le péristome par les mouvements des cils et de la membrane ondulante. Après avoir traversé le cytostome et le cytopharynx, elle vient au contact de l'endoplasme qui l'inclut dans une **vacuole digestive** dans laquelle elle est digérée. Les résidus de la digestion sont éliminés au niveau d'un orifice anal appelé, **cytoprocte**, au cours du phénomène de cyclose. Aux extrémités de la cellule, se trouvent deux vésicules pulsatiles. Chaque vésicule est formée d'une **vacuole centrale** autour de laquelle rayonnent des **canaux vacuolaires** qui drainent l'eau en excès. Lorsque la vésicule est pleine d'eau, elle est en diastole. Elle se vide alors à l'extérieur grâce aux canaux vacuolaires : elle est alors en systole. Le battement des cils de la Paramécie lui permet de se déplacer, en avançant/reculant selon un **mouvement spiralé**.

La Paramécie peut se reproduire de façon **asexuée** et **sexuée**. La reproduction asexuée se déroule par **fission binaire** : la cellule mère se divise en deux, par scission transversale au cours d'une mitose, le macronucléus se divise alors en deux noyaux fils, le ou les micronucléi se divisent également. Une cellule mère donnant deux cellules filles, la fission binaire assure la **multiplication rapide** de l'espèce, et permet donc la **colonisation** d'un milieu. La reproduction asexuée est observée quand les conditions sont favorables, car pour coloniser un milieu il faut des nutriments permettant d'assurer la croissance/le développement rapide. La fission binaire n'implique qu'un parent : tous les descendants seront donc identiques (**clones**). Il existe alors un risque de ne pas pouvoir s'adapter si le milieu modifié devient défavorable.

La reproduction sexuée s'effectue par **conjugaison** lors d'une fécondation réciproque entre les deux parents, lesquels échangent donc une partie de leur matériel génétique. Chaque parent fécondé devient un zygote. La conjugaison se déroule en plusieurs étapes :

- Accrolement de deux Paramécies de types sexuels complémentaires dans la région péri stomienne
- Le micronucléus unique subit une méiose donnant quatre nouveaux micronucléi
- Trois micronucléi dégénèrent. Le quatrième micronucléus subit une mitose et donne deux noyaux haploïdes : ce sont les noyaux de fécondation (un noyau mâle et un noyau femelle), appelés pronucléi
- Les macronucléi dégénèrent. Echange des noyaux mâles entre les parents
- Les pronucléi mâles et femelles fusionnent dans chaque parent : c'est la fécondation. On obtient deux zygotes ou syncaryons
- Plusieurs divisions de post-conjugaison rétablissent le complément nucléaire : on observe la reformation du macronucléus

La conjugaison est un processus de **recombinaison génétique**, mais pas un mode de multiplication, puisqu'aucune nouvelle cellule n'est créée. La conjugaison assure la **pérennité** de l'espèce. Elle a lieu lorsque les conditions sont défavorables, car le brassage génétique génère une grande diversité et donc la possibilité d'une adaptation à l'environnement. Chaque paramécie doit conjuguer périodiquement. Les clones provenant de la reproduction asexuée ne peuvent survivre à plus de 350 fissions binaires successives.



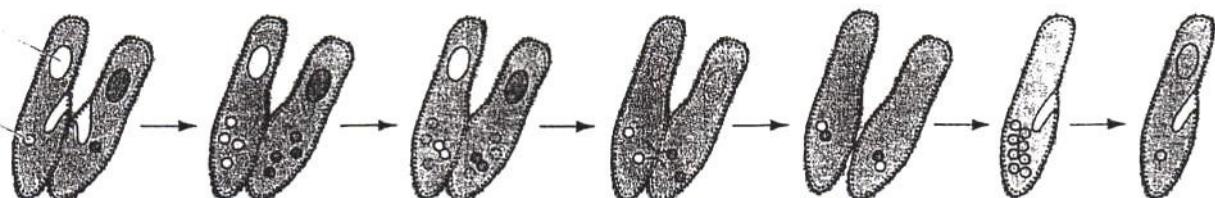
**Figure 26.9**  
**Conjugaison de *Paramecium caudatum*.**  
(a) Deux cellules de souches compatibles s'accouplent et fusionnent partiellement.  
Dans chaque cellule, tous les micronucléi diploïdes se désintègrent sauf un. (b) Le micronucléus restant subit une méiose qui donne naissance à quatre micronucléi.  
(c) L'un d'eux se divise par mitose pendant que les trois autres se désintègrent. (d) Les partenaires échangent un micronucléus.  
(e) La fécondation se produit quand le micronucléus qui reste à chaque cellule fusionne avec celui qu'elle reçoit de son partenaire.

tenaire. Il se forme alors un noyau diploïde contenant un mélange chromosomique provenant des deux cellules, puis les partenaires se séparent. (f) Dans chaque cellule, le nouveau micronucléus se divise par mitose plusieurs fois, jusqu'à ce qu'il y ait huit micronucléi identiques. (g) Par la suite, le macronucléus se désintègre. Quatre micronucléi deviennent de nouveaux macronucléi à la suite de réplications répétées de l'ADN, sans division nucléaire. Les quatre autres micronucléi ne se transforment pas.

(h) Après deux divisions cellulaires (sans

**Figure 3 : Recombinaison génétique par conjugaison de Paramécie** (*Le Monde du vivant* par PURVES, ORIANS, HELLER et SADAVA (Editions Flammarion))

division nucléaire), chacun des quatre nouveaux macronucléi s'unit à un des quatre micronucléi pour former quatre nouvelles cellules (cela se produit chez chacun des partenaires ayant participé à la conjugaison ; on ne voit ici qu'une seule des quatre cellules produites par un partenaire). Il faut noter que les huit cellules finales de la conjugaison sont génétiquement identiques. Cependant, elles présentent une composition génétique différente de celle des deux cellules mères qui ont participé à la conjugaison.



## Activité à réaliser

**Attention :** la culture mixte pouvant contenir des pathogènes, plonger les lames dans la Javel après utilisation, puis se laver soigneusement les mains.

**1-a) Observation des Ciliés vivants :** A l'aide d'une pipette effilée, prélever un fragment de voile bactérien de la culture mixte. Monter le prélèvement entre lame et lamelle. Répéter l'opération deux fois afin d'obtenir trois préparations distinctes. Freiner le déplacement rapide des Ciliés en réduisant la quantité d'eau où ils évoluent. Pour cela, placer un petit morceau de papier absorbant sur un des côtés de la lamelle. Observer/reconnaître les Ciliés vivants au microscope (faible grossissement). Identifier deux groupes de Ciliés auprès de l'enseignant (15 min).

→ Identifiez 3 espèces différentes de ciliées et présentez les à l'enseignant

**1-b) Observation des Ciliés colorés :** L'utilisation de colorants est indispensable pour mettre en évidence les structures cellulaires (Ciliés naturellement transparents). Le rouge neutre est un colorant vital qui permet de visualiser les vacuoles digestives et la cyclose, sans tuer les cellules. Ajouter une goutte de rouge neutre à la 1ère préparation. Observer au microscope. Le lugol (réactif iodo-ioduré) tue les cellules et met en évidence leurs cils. Ajouter une goutte de lugol à la 2ème préparation. Le vert de méthyle acétique tue les cellules et colore en vert l'appareil nucléaire (macronucléus, micronucléus). Ajouter une goutte de vert de méthyle acétique à la 3ème préparation. Observer/caractériser au microscope (15 min).

→ Présentation par l'étudiant de ce que montre la technique de coloration

**2) Observation de l'organisation d'une paramécie (15 min)**

→ Dessin d'observation d'une lame de paramécie, avec les légendes appropriées en fonction de la lame obtenue (1 dessin par personne)

**3) Discussion du placement phylogénétique des ciliés et des protistes.** Pour chacun de ces groupes, identifiez le ou les groupes frères (et éventuellement certain des groupes importants qu'ils contiennent) (15 min)

→ Placement des ciliées et des protistes dans l'arbre du vivant en général

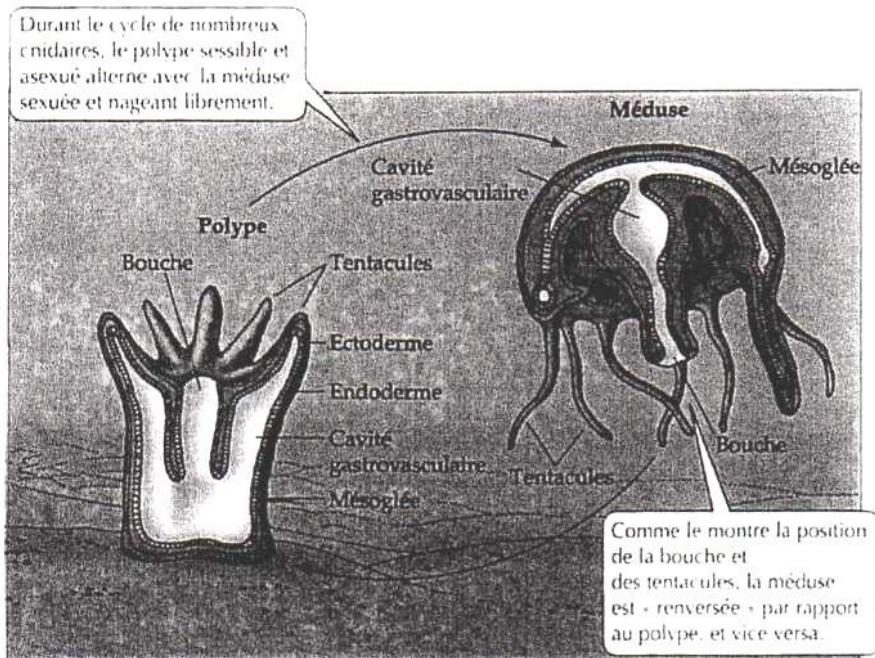
## B) Cnidaires

Les Diploblastiques sont des **Métazoaires** (Domaine Eukarya ; Règne : Metazoa) dont le développement embryonnaire se déroule à partir de deux feuillets : **l'ectoderme** et **l'endoderme**. Ces deux feuillets sont séparés par une sorte de gelée ne contenant pas de cellules : la **mésoglée**. Les Diploblastiques se différencient des Métazoaires Triploblastiques dont l'embryon s'organise à partir de trois feuillets : ectoderme, endoderme, et mésoderme. Contrairement au **mésoderme**, la mésoglée n'est pas un tissus mais une couche de matrice extra-cellulaire, et ainsi ne participe pas à la formation d'organes, lors du développement embryonnaire.

Les Diploblastiques sont un groupe paraphylétique d'animaux aquatiques constitués de trois embranchements : les **Spongiaires**, les **Cnidaires**, et les **Cténaire**s.

Les Cnidaires sont des animaux à **symétrie radiale** (symétrie autour d'un axe central longitudinal allant de la face orale à la face aborale). Ce sont des **prédateurs carnivores** qui utilisent des cellules urticantes, les **cnidocystes**, pour capturer leurs proies. Les cnidocystes sont portés par les **tentacules**, et contiennent des structures acérées appelées **nématocystes**. Les nématocystes déchargent des toxines dans les proies afin de les paralyser (exemple : piqûres des méduses). Les Cnidaires transportent ensuite les proies jusqu'à leur bouche, grâce à leurs tentacules. La bouche communique avec la cavité **gastro-vasculaire**, laquelle participe à la fois, à la digestion, à la circulation, et aux échanges gazeux respiratoires. Le corps des Cnidaires contient des fibres musculaires dont les contractions assurent leur déplacement.

Le mode de vie des Cnidaires comprend deux stades successifs : le stade **polype** (asexué), puis le stade **méduse** (sexué). Le stade polype vit **fixé** au substrat. Il se présente sous la forme d'une tige cylindrique, la bouche étant située du côté opposé au point d'attache au substrat. La bouche est entourée de tentacules. La mésoglée des polypes est fine. Le stade méduse est **libre** et **nageur**, ayant l'aspect d'un parapluie. Il flotte avec sa bouche et ses tentacules dirigés vers le bas. La mésoglée des méduses est très épaisse, constituant la majeure partie de la masse de l'animal. Le stade sexué des méduses libère des ovules et des spermatozoïdes, dans l'eau. L'œuf résultant de la fécondation donne une larve ciliée nageuse, appelée **larve planula** qui se fixe au substrat, et donne par bourgeonnement une **colonie de polypes**. D'un de ces polypes, naît une nouvelle méduse qui va se détacher du polype parental, et mener dans l'eau une vie libre, pendant laquelle elle développe à son tour ses produits génitaux.

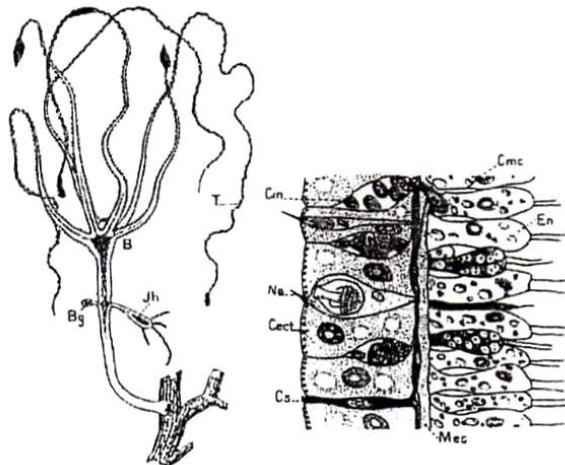


**Figure 4 :** Cycle biologique d'un cnidaire (*Le Monde du vivant* par PURVES, ORIANS, HELLER et SADAVA (Editions Flammarion))

Les Cnidaires regroupent quatre classes : les **Hydrozoaires**, les **Scyphozoaires**, les **Cubozoaïres**, et les **Anthozoaires**.

Parmi les Hydrozoaires, se trouve **l'Hydre** appartenant au genre **Hydra**. Hydra est exclusivement présent en eau douce, n'existe qu'au stade polype, et ne forme pas de colonies. Hydra a la forme d'un cylindre, l'axe oral-aboral passant du disque pédieux, situé à l'extrémité fixée au sol, jusqu'à la bouche, située à l'autre extrémité. Six à dix tentacules entourent la bouche. La paroi corporelle de Hydra est formée de trois parties : l'ectoderme (couche externe), l'endoderme (couche interne), et la mésoglée (couche intermédiaire). Hydra se reproduit asexuellement et sexuellement. La reproduction asexuée s'effectue par **bourgeonnement**, lorsque les conditions sont favorables. Le

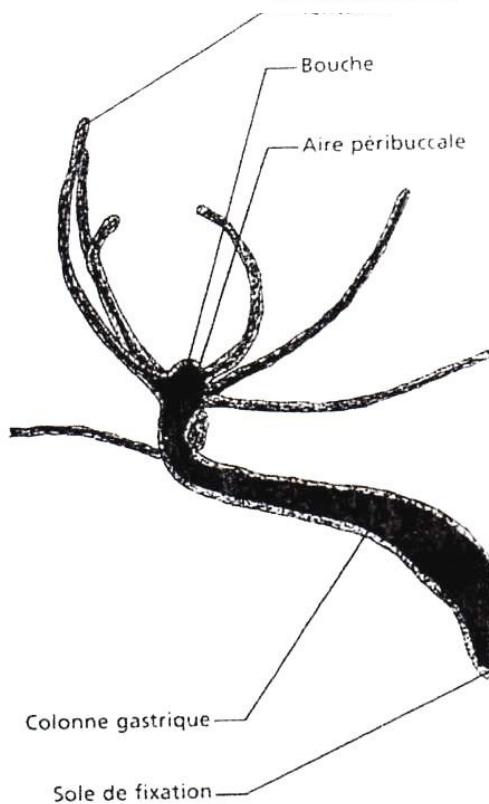
bourgeonnement est la formation d'un nouvel organisme à partir d'une excroissance appelée bourgeon, provenant de l'organisme parental. La plupart des espèces sont dioïques (= à sexes séparés). La formation des **gonades** et la reproduction sexuée sont observées en conditions défavorables. Les gonades sont des structures temporaires qui causent des renflements de la paroi corporelle.



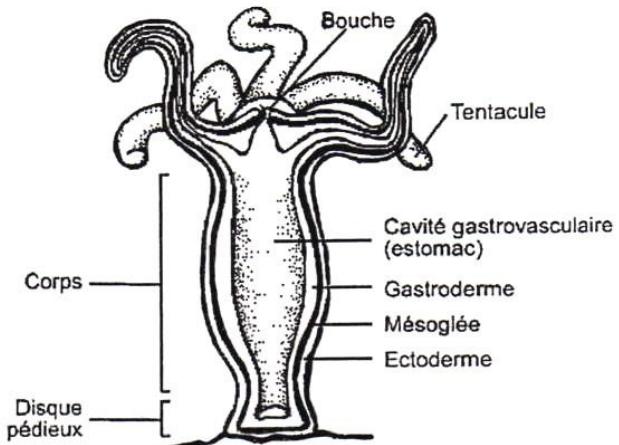
**Figure 5 : Anatomie du genre Hydra**

Hydre d'eau douce  
(*Chlorhydrus viridisima*). B.  
bouche; Bg. bourgeon; Jh.  
jeune Hyde sur le point de  
quitter sa mère; T. tentacule.

Coupe longitudinale dans la paroi d'une  
Hyde. Cec. cellules du revêtement ectodermique ;  
Cm. cellules interstitielles ; Cmc. cellule  
ectodermique migratrice ; Cs. cellule sensorielle ;  
En. cellule de la cavité gastrique (endoderm) ;  
Mes. mésoglée ; Ne. nématoïblaste contenant le nématocyste.

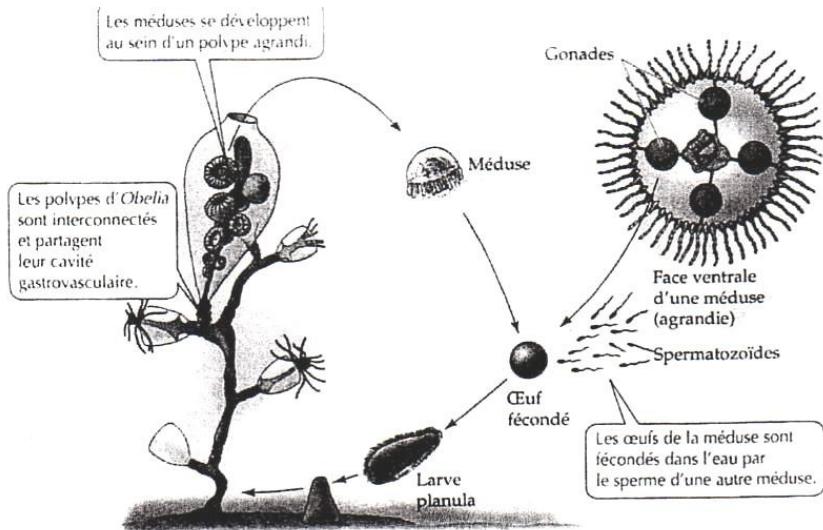


POLYPE : Hydra

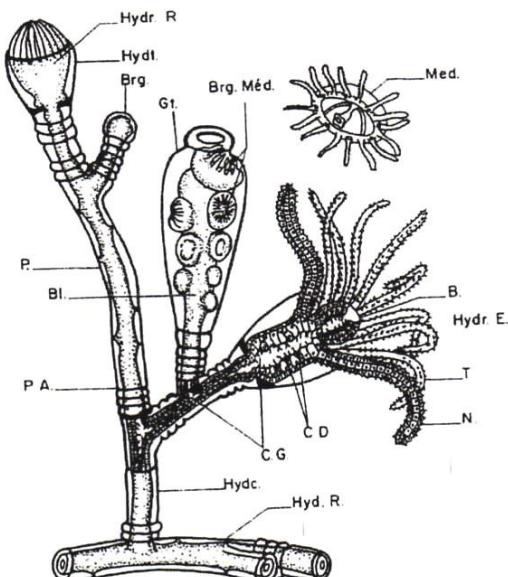


Parmi les **Hydrozoaires**, se trouve le genre **Obelia**, qui est un Hydrozoaire marin dont les polypes forment des colonies. Les polypes d'une colonie d'*Obelia* sont insérés sur des axes dressés verticaux, les **hydrocaules**, eux-mêmes portés par des structures rampantes horizontales, les **hydrorhizes**. La colonie est recouverte d'une couche gélatineuse, le **périsarc**. Les polypes sont reliés entre eux par des tubes qui sont les extensions d'une seule cavité gastro-vasculaire commune. Il existe deux types de polypes dans la colonie : les **hydranthes** et les **blastocyles**. Les hydranthes sont des polypes nourriciers. Ils ont des tentacules portant des **nématoblastes**. Les blastostyles sont

des polypes reproducteurs. Ils portent une **gonothèque** renfermant des bourgeons médusaires, qui en se détachant donneront des **méduses**. Les **blastostyles** n'ont pas de tentacules, et ne capturent pas de proies. Ils reçoivent les éléments nutritifs par les hydranthes adjacents, auxquels ils sont reliés par une même cavité gastro-vasculaire.



**Figure 6 : Anatomie du genre *Obelia***

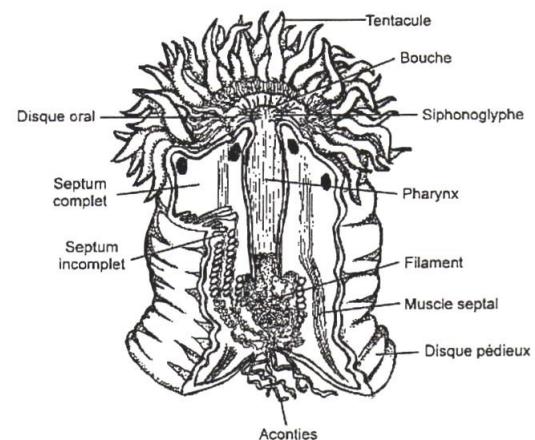


*Obelia geniculata. Portion agrandie de la colonie.*

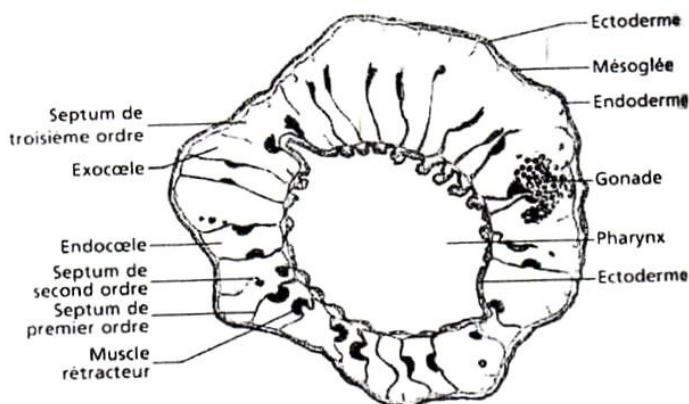
B. : bouche ; Bl. : blastostyle ; Br. : bourgeon ; Br. Méd. : bourgeon médusaire ; C. D. : cellules digestives ; C. G. : cavité gastro-vasculaire ; Gt. : gonothèque ; Hydc. : hydrocaule ; Hyd. R. : hydrorhize ; Hydt. : hydrothèque ; Hydr. E. : hydranthe épauné ; Hydr. R. : hydranthe rétracté ; Med. : méduse ; N. : nématoblaste ; P. : périsarc ; P. A. : périsarc annelé ; T. : tentacule.

Parmi les **Cnidaires**, les **Anthozoaires** n'ont pas de stade méduse, donc n'existent qu'au stade polype. Il y a deux types de polypes chez les Anthozoaires : les plus gros/charnus sont des **Anémones**, alors que les **Coraux** ont des polypes plus petits/délicats. Parmi les Anémones, se trouve le genre **Metridium**. Une Anémone est composée de trois parties : 1, le disque pédieux, par lequel elle s'attache au substrat, 2, le disque oral, à l'extrémité opposée, entouré de tentacules, et 3, le corps, situé entre les deux. La bouche a une forme ovale et contient des **siphonoglyphes** portant des bandes de cils qui permettent la circulation de l'eau de mer dans la cavité gastro-vasculaire. La bouche mène au **pharynx** composé de plusieurs loges, délimitées par des septa (cloisons). Les septa peuvent être complètes, ou incomplètes. Elles sont épaisses à certains endroits, à cause de tissus ressemblant à des muscles qui permettent à l'Anémone de changer de forme, ou de rétracter un

tentacule. Ce ne sont pas de véritables muscles, car les vrais muscles sont dérivés du mésoderme, or l'Anémone n'est constituée que d'ectoderme et d'endoderme. Le pharynx s'étend jusqu'à la **cavité gastro-vasculaire**. Au fond de cette cavité, se trouvent des **aconties** armées de **cnidocystes**. Contrairement aux autres Cnidaires, les cnidocystes tapissent aussi la cavité gastro-vasculaire, car l'Anémone avale ses proies entières/vivantes. Une fois ingérées, ces proies sont paralysées pour qu'elles n'endommagent pas l'Anémone en se débattant. La reproduction de l'Anémone est **asexuée**, ou **sexuée**. Lors de la reproduction sexuée, les gonades se développent au niveau des septa, et les gamètes sont libérés par la bouche. La fertilisation mène à une **larve planula** qui s'attache au substrat avant de se développer en Anémone adulte.



**Figure 7 : Anatomie d'une anémone de mer**



### Activité à réaliser

- Observations de cnidaires à légéner en salle (30 min)
  - [Un dessin et deux objets à légéner sur photos](#)
- Discussion du placement phylogénétique des cnidaire et de la définition des diploblastiques (30 min)
  - [Placement des cnidaires dans l'arbre des animaux. Placement des diploblastiques en général](#)

# TP de biologie animale n° 1 : Annélides

*Objectif du TP : Observer une représentant des annélides, sa structure et discuter de sa position phylogénétique.*

Parmi les Métazoaires (Domaine : Eukarya ; Règne : Metazoa), l'embranchement des Annélides regroupe des animaux triploblastiques cœlomates, métamérisés, protostomiens, et hyponeuriens. L'embranchement des Annélides compte trois classes : les Polychètes portant de nombreuses soies, les Oligochètes à soies peu nombreuses, et les Achètes dépourvus de soies. Parmi les Oligochètes, le Lombric (*Lumbricus terrestris*) appartient à la sous – classe des Terricoles, et à la famille des Lumbricidés.

Le Lombric est le plus commun des vers de terre. Il vit à l'intérieur de galeries souterraines qu'il creuse dans le sol, imbibe de mucus, et tapisse de terre déféquée. Le Lombric est un animal humivore, donc qui extrait ses substances nutritives de l'humus contenu dans le sol. En période de reproduction, on observe l'accouplement des individus hermaphrodites, ainsi qu'une fécondation croisée.

## A) Anatomie externe

Le corps est allongé, gris - violacé, et comporte un nombre élevé d'anneaux (100 à 150), tous à peu près identiques, à l'exception des deux premiers appelés **prostomium** et **péristomium**, et du dernier, appelé **pygidium** qui porte un anus terminal.

L'**extrémité antérieure** est effilée et colorée, formée d'anneaux cylindriques.

L'**extrémité postérieure** est beaucoup moins colorée, aplatie dorso – ventralement, formée d'anneaux étroits. La **face dorsale** est plus foncée que la face ventrale. En passant le doigt sur la **face ventrale** d'arrière en avant, on perçoit une résistance due à la présence de **soies**, dirigées vers la partie postérieure de l'animal. Sur la face dorsale, le **vaisseau dorsal** rougeâtre apparaît par transparence.

À maturité sexuelle, on observe entre le 31-32e et le 36-37e métamère, une zone épaisse, plus claire que les anneaux avoisinants, où la métamérie est très fortement atténuée. Cette zone correspond au clitellum, qui peut sécréter une quantité abondante de mucus en période de reproduction, et est impliquée dans l'accouplement. Dans la région postérieure du clitellum, on observe, par transparence, la **chaîne nerveuse ventrale** apparaissant comme un mince filet blanc.

La tête est composée de deux parties distinctes : le lobe pré – oral ou céphalique (prostomium), et le lobe péri-oral (péristomium) qui porte ventralement le **bulbe buccal**.

Le prostomium précédant le péristomium, ne constitue pas un métamère puisqu'il ne renferme pas de cavité cœlomique. Le prostomium, bien que dépourvu d'organes sensoriels, assume des fonctions tactiles. Le péristomium correspond au 1e métamère. Le bulbe buccal y est dépourvu d'appendices masticateurs.

Au niveau du tronc, chaque anneau porte deux paires de **soies ventrales**, et deux paires de **soies latérales**. La zone comprise entre le 9e et le 15e métamère renferme les **gonades**, qui sont visibles par transparence sous le tégument de la face ventrale, du 9e au 13e métamère. Les différents orifices sexuels ventraux, sont : les deux **orifices des réceptacles séminaux** sur la marge postéro – latérale des 9e et 10e métamères, une paire **d'orifices génitaux femelles** sur le 14e métamère, et une paire **d'orifices génitaux mâles** sur le 15e métamère. Tous ces orifices sont difficiles à voir, à l'exception des orifices génitaux mâles.

## Activité à réaliser

- Orientez l'animal grâce aux indications fournies

- Observation des différents éléments morphologiques externes suivants : **Extrémité antérieure, pygidium, face dorsale, viasseeu dorsal, clitellum, face ventrale, soies ventrales et latérales (25 min)**

→ *Présenter les différentes légendes à l'enseignant sur l'animal vivant*

- Observation des différents élément extreens suivants sur l'animal mort : **Prostomium, péristomium, sillon labial, repli labial, bouche, gonades, orifices génitaux mâles, orifices génitaux femelles. (20 min)**

→ *Présenter les différentes légendes à l'enseignant sur l'animal mort*

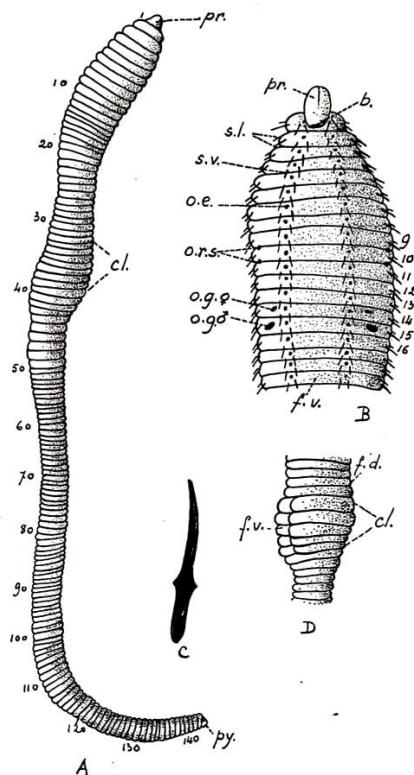


FIG. 29. — Le Lombric, morphologie externe ; A, face dorsale ; B, face ventrale de la région antérieure ; C, tête ; D, profil de la région du clitellum ; b., bouche ; cl., clitellum ; f. d., face dorsale ; f. v., face ventrale ; o. e., orifice excréteur ; o. g. m., orifice génital mâle ; o. g. f., orifice génital femelle ; o. r. s., orifice des réceptacles séminaux ; pr., prostomium ; py., pygidium ; s. l., soies latérales ; s. v., soies ventrales ; 1 à 140, segments.

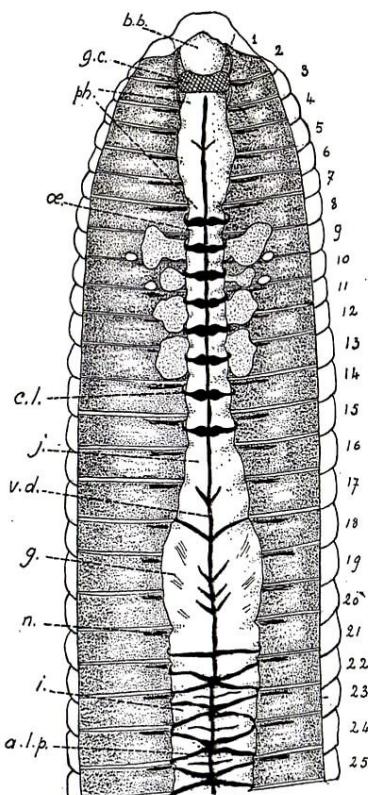


FIG. 30. — Le Lombric, dissection générale ; 1 à 140, soies latérales postérieures ; b. b., bulbe buccal ; c. l., coeur latéral ; g., gésier ; g. c., ganglions cérébroïdes ; i., intestin ; j., jabot ; n., néphridie ; o. s., osophage ; ph., pharynx ; v. d., vaisseau dorsal.

**Figure 1 : Morphologie externe et dissection générale du lombric (Anatomie Animale et Dissection par TIXIER et GAILLARD (Editions Vigot Frères)**

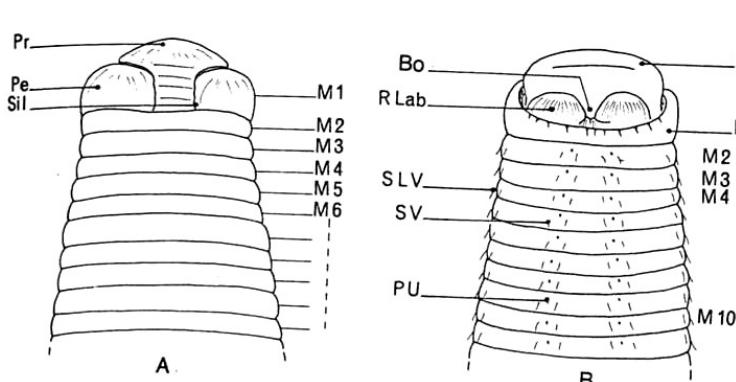


Fig. 8-2 : Étude de la région antérieure du Ver de terre, *Lumbricus terrestris* L. A. : vue dorsale; B. : vue ventrale.

Bo. : bouche ; M.1, M.2, M.3,... M.10, etc. : métamères 1, 2, 3,... 10, etc. ; Pe. : péristomium ; P.U. : pore urinaire (néphridiopore) ; R.Lab. : repli labial ; Sil. : sillon ; S.L.V. : soies latéro-ventrales ; S.V. : soies ventrales.

**Figure 2 : Région antérieure du lombric (Travaux Pratiques de Biologie Animale' par BEAUMONT et CASSIER (Editions Dunod)**

## **B) Anatomie interne**

L'anatomie interne de Lumbricus terrestris sera étudiée par dissection de l'animal fraîchement tué. L'étude anatomique interne portera sur les 40 premiers métamères (de l'extrémité antérieure à l'arrière du clitellum).

### **1 – Appareil circulatoire**

Il comprend un **vaisseau dorsal**, un **vaisseau ventral**, et des **anses latérales** disposées par paires autour du tube digestif, à raison d'une paire par métamère.

Le vaisseau dorsal repose sur la ligne médio – dorsale du tube digestif : le sang y circule d'arrière en avant.

Au niveau de l'œsophage situé entre les 7e et 14e métamères, cinq à huit grosses paires d'anses latérales se distinguent, ce sont les **cœurs latéraux** : ils propulsent le sang de l'avant vers l'arrière.

### **2 – Tube digestif**

Le tube digestif est rectiligne, et comporte six régions spécialisées :

- Le **bulbe buccal** (1e métamère), court et musculeux,
- Le **pharynx** (entre les 3e et 6e métamères), ovoïde et musculeux, qui reçoit les sécrétions des glandes salivaires,
- **L'œsophage** (entre les 7e et 14e métamères), étroit, aux parois faiblement musculeuses, en grande partie recouvert par l'appareil génital, et entouré par les cœurs latéraux,
- Le **jabot** (entre les 14e et 16e métamères), délimité par des parois minces,
- Le **gésier** (17e et 18e métamères), aux parois épaisses, assurant le broyage de la terre ingérée,
- **L'intestin**, qui débute au 19e anneau et se prolonge jusqu'à l'anus (situé au bout du pygidium). Il est le site de la digestion par les sucs digestifs, et de l'absorption des nutriments. Ces fonctions sont assurées par une couche de cellules brunes, les **cellules chloragogènes**, recouvrant l'intestin dorsalement.

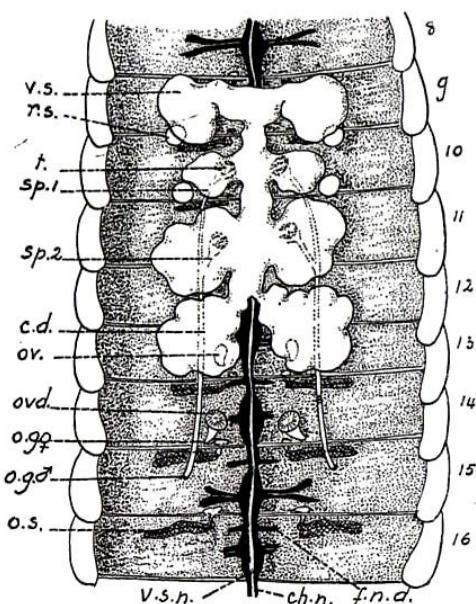
### **3 – Appareil génital**

Le Lombric étant hermaphrodite, il porte à la fois un appareil génital mâle, et un appareil génital femelle :

- **L'appareil génital mâle** est composé de deux paires de **testicules** difficilement observables, localisés au niveau des 10e et 11e métamères. Les testicules sont recouverts par trois paires de **vésicules séminales** blanchâtres et lobées, situées entre les 9 e et 13e métamères. C'est à l'intérieur de ces vésicules que se termine la spermatogenèse, et donc que les spermatozoïdes sont stockés. Les vésicules séminales débouchent sur deux paires de **spermiductes** se réunissant en une paire de **canaux déférents**. Les canaux déférents s'ouvrent extérieurement au niveau du 15e métamère, par deux **orifices génitaux mâles**.
- L'appareil génital femelle est composé d'une paire **d'ovaires** blanchâtres et piriformes, situés au niveau du 13 e métamère. Ils sont cachés par les lobes des vésicules séminales. Au niveau du 14 e métamère, une paire de courts **oviductes** débutant par un entonnoir aboutit à deux **orifices génitaux femelles**.

Afin de permettre la fécondation croisée, l'appareil génital est complété par deux paires de réceptacles séminaux plurilobés et jaunâtres, situés entre les 9-10e métamères et les 10-11e

métamères. Ces réceptacles ont pour fonction de stocker les spermatozoïdes du partenaire lors de l'accouplement.



**Figure 3 : Les organes génitaux du lombric**  
(Anatomie Animale et Dissection' par TIXIER et GAILLARD (Editions Vigot Frères)

FIG. 33. — Le Lombric, organes génitaux ; *c. d.*, canal déférent ; *ch. n.*, chaîne nerveuse ; *f. n. d.*, fibre nerveuse innervant le dissépiment ; *o. g. ♀*, organes génitaux femelles ; *o. g. ♂*, organes génitaux mâles ; *o. s.*, organe segmentaire ; *ov.*, ovaire ; *ovd.*, oviducte ; *rgd.*, réceptacle séminal ; *sp. 1*, *sp. 2*, spermiducte antérieur et spermiducte postérieur ; *t.*, testicule ; *v. s.*, vésicule séminale ; *v. s. n.*, vaisseau sus-nérvien ; 8 à 16, segments.

## Activité à réaliser

### Dissection (30 min) :

Fixer le Lombric face ventrale sur le fond de la cuvette à dissection, à l'aide de deux épingle, l'une dans l'extrémité antérieure, l'autre à l'arrière du clitellum. Tendre sans étirer exagérément la portion du tronc comprise entre les deux épingle.

Avec la paire de ciseaux fins, faire une incision de l'arrière vers l'avant de chacun des métamères dorsaux, en enfonçant peu les ciseaux, et en suivant une ligne parallèle légèrement latérale au vaisseau dorsal pour ne pas le lésier.

**Attention : Couper en tenant les ciseaux presque horizontalement pour éviter de lésier les organes internes !**

Épingler latéralement et symétriquement les volets de téguments dorsaux sur la planche à dissection. Au cours de cette opération, remarquer qu'il faut rompre les dissépiments (cloisons) métamériques : ils subdivisent la cavité cœlomique en chambres identiques, appelées sacs cœlomiques. Recouvrir d'eau et observer.

- **Observation de l'anatomie interne sous différents grands axes** : alimentation, reproduction, respiration (60 min)

→ *Réalisation de la dissection, présentation des légendes à l'examinateur en classant par différentes fonctions*

- **Discussion de la position phylogénétique des groupes étudiés (30 min)**

→ *Réalisation d'un arbre phylogénétique bilan de tous les groupes vus en TP jusque là*