

Lois de Mendel

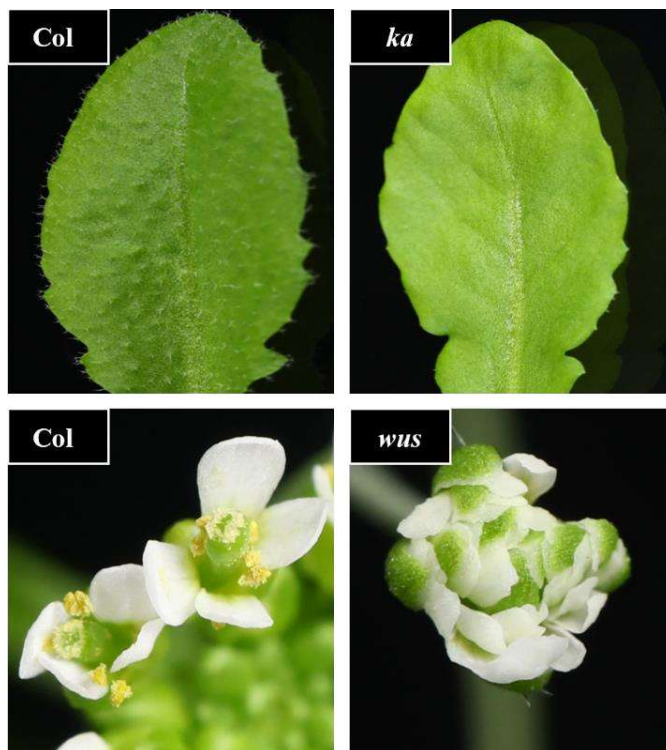


Introduction

Le moine Gregor Mendel a réalisé diverses expériences de croisement de pois au XIXe siècle. Il s'est basé sur ces expériences pour formuler les trois lois de l'hérédité biologique qui portent son nom.

Avec le kit 'lois de Mendel', les élèves recréeront certaines expériences de Mendel, mais avec une herbe appelée Arabette des dames ou Arabette de Thalius (latin *Arabidopsis Thaliane*). Cette plante est couramment utilisée pour la recherche aussi bien biologique que génétique. Elle est moins encombrante que les pois et peut donc facilement être cultivée sur un rebord de fenêtre.

Les graines du kit 'lois de Mendel' sont basées sur différentes variantes d'*Arabidopsis*, qui diffèrent légèrement sur le plan génétique. Columbia (Col) est la plante mère sauvage avec des feuilles velues et une structure florale normale (quatre pétales blancs, tous les organes sexuels). Deux lignées mutantes homozygotes ont été créées à partir de Col par mutation et sélection : cotonneux (*wus*) et glabre (*ka*). Cotonneux doit son nom à ses fleurs, qui n'ont pas d'organes sexuels et une abondance de pétales blancs. Le glabre, lui, présente des feuilles complètement lisses, non velues.



Le kit 'lois de Mendel' est un ensemble expérimental qui permet d'aborder de manière claire et pédagogique les lois de Mendel. Les élèves cultivent des plantes en classe et observent les phénotypes sur plusieurs semaines.

L'expérience est divisée en deux parties : le semis et l'analyse. Vous pouvez aborder des thèmes ou des sujets supplémentaires au fur et à mesure que les plantes se développent.

L'analyse peut commencer environ 7 à 11 semaines après le semis, en fonction des conditions d'éclairage et de la température.

Composants du kit 'lois de Mendel' :

- 11 micro-tubes de graines
- 2 mini serres
- 30 pots cultures
- 30 étiquettes à planter
- Cure-dents
- Livret pédagogique

Composants supplémentaires requis, non fournis :

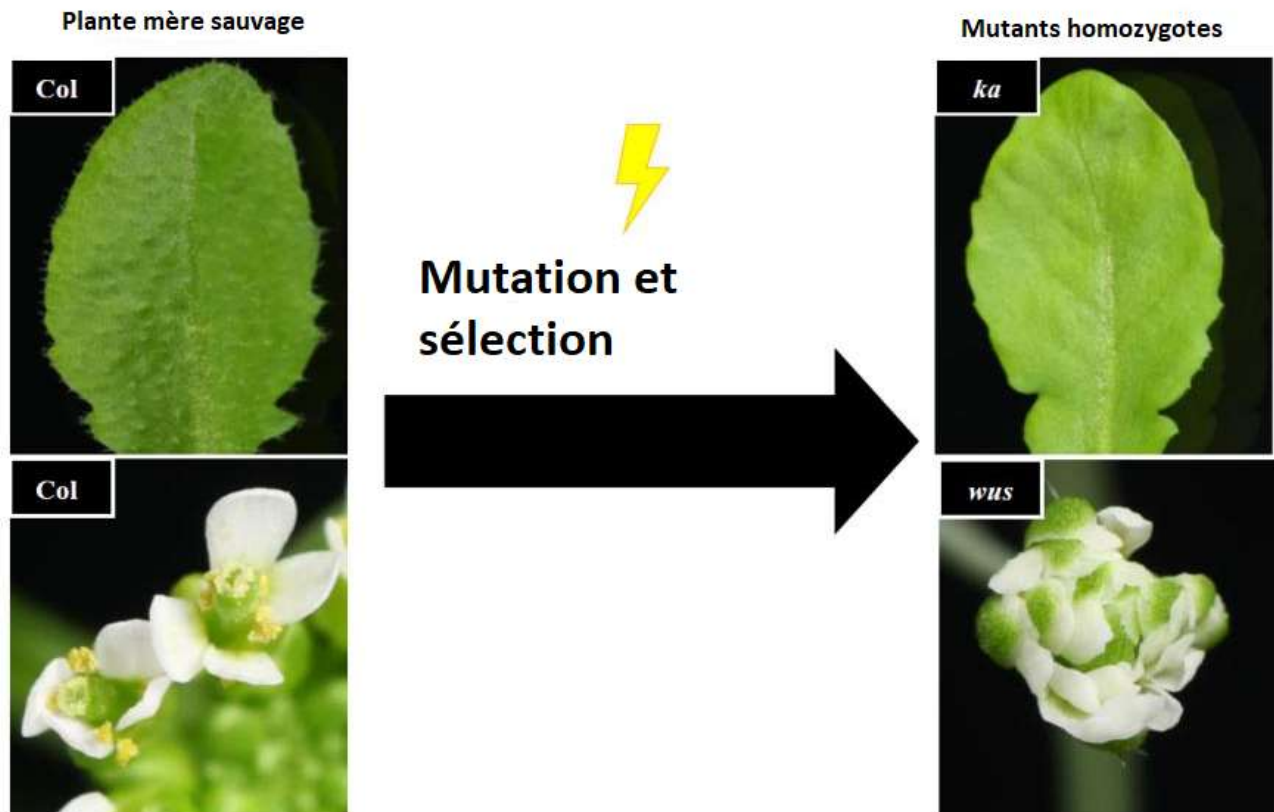
- Seau et eau
- Feuille de cellulose (mouchoirs, papier d'essuyage, etc.)
- Terreau environ 8 à 10 litres

Informations importantes.

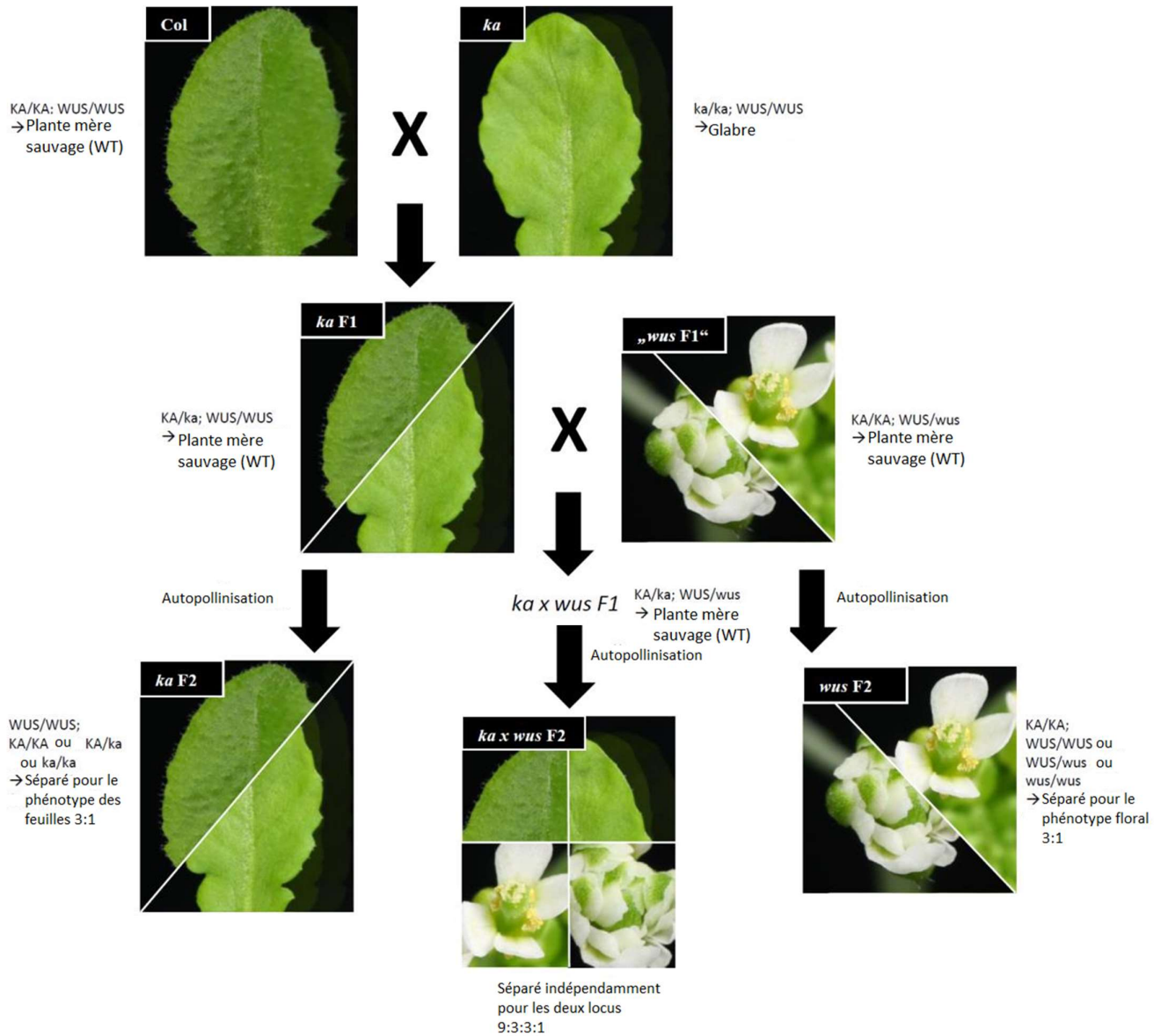
1. Avec le kit 'lois de Mendel', les élèves travaillent avec de vrais organismes. Cela signifie qu'il n'y a aucune garantie que tout se déroulera toujours comme prévu. Soyez prêt à devoir faire preuve de flexibilité! Attention à ne pas conserver les graines trop longtemps car cela pourrait affecter négativement le taux de germination.
2. Les graines doivent être préparées avant le premier cours. Cela signifie que vous devez remplir les micro-tubes contenant les graines avec de l'eau et les conserver au frais. La fraîcheur assure une germination plus uniforme et plus rapide. Il est recommandé de conserver les graines au réfrigérateur pendant trois à cinq jours avant d'ensemencer.
3. Si vous êtes pressés par le temps, la première évaluation des résultats peut avoir lieu après environ 2 à 3 semaines, car les plantes ka/ka n'ont pas de trichomes (poils) sur les premières feuilles après les deux cotylédons. Cependant, pour les plantes wus, il faut attendre que les premières fleurs s'ouvrent.

Les graines suivantes sont incluses dans le kit ' Lois de Mendel' :

- 1 x Col parentale (de type sauvage)
- 1 x ka/ka parentale (mutante)
- 1 x KA/ka F1 (descendante d'un croisement entre Col et ka)
- 2 x ka F2 (descendante de ka F1 par autopolinisation)
- 2 x wus ségrégation F2 (descendant d'un croisement entre Col et ka F1 et wus F1, ne peut pas être propagé de manière homozygote)
- 4 x KA/ka WUS/wus ségrégation (3ème règle de Mendel)



Schémas de croisements



Semis :

1ère heure (45-60 min.) :

- Si nécessaire, introduction aux lois de Mendel et à la génétique
- Lecture de la feuille de travail

Pour cette expérience, les descendants de différents croisements entre ces lignées sont semés et on observe leur développement. Un aperçu graphique des mutants et des croisements envisagés peut être consulté à la page précédente. Semez les graines suivantes dans le nombre de pots indiqué entre parenthèse :

- Parentaux monozygotes Col et ka¹ (1 pot chacun)
- ka F1 : descendant d'un croisement entre Col et ka (2 pots)
- ka F2 : descendant de ka F1² par autopollinisation (5 pots)
- wus F2 : descendant d'une plante wus F1 qui contient le mutant et le gène sauvage wus (5 pots)
- ka x wus F2 : descendants d'une plante ka x wus F1 créée en croisant une plante ka F1 et wus F1 (16 pots)

Préparation les pots

A faire par les élèves :

Remplissez un seau de terreau et ajoutez progressivement de l'eau. Mélangez bien pour qu'il ne reste pas de gros grumeaux. N'ajoutez pas trop d'eau, il ne doit pas y avoir d'eau stagnante dans le seau et le terreau doit être seulement humide, pas détrempé !

Si vous voyez de l'eau stagnante dans le seau, versez-la. Enlèvez les plus gros morceaux de compost. Remplissez 30 pots à ras bord, tassez légèrement et ajoutez plus de terreau si nécessaire.

Une fois les pots remplis pour le semis, nettoyez vos outils, les pots et votre plan de travail...

Le semis

A faire par l'enseignant :

Une fois les pots préparés, distribuez aux élèves les micro-tubes de graines (comme indiqué ci-dessus), des cure-dents et un morceau de cellulose par micro-tube de graines (environ 10x10 cm de mouchoir, papier d'essuyage, etc...) et une étiquette à planter par micro-tubes. Demandez aux élèves de noter le type de graines reçues sur l'étiquette. Il faudra être en mesure d'indiquer correctement quelle graine est dans quel pot.

A faire par les élèves :

Enfoncez l'étiquette avec le nom de la graine dans le pot de terreau. Humidifiez votre feuille de cellulose. Versez le contenu du récipient sur le papier d'un seul coup afin que les graines reposent bien sur la surface humide. Si vous avez différents types de graines, veillez à ne pas les mélanger. Réalisez la manipulation ci-dessus séparément pour chaque tube. N'ouvrez le tube suivant que lorsque vous avez terminé avec le précédent.

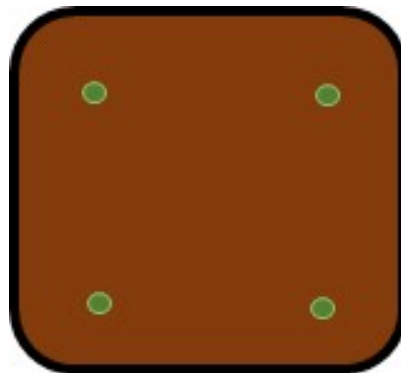
1 Les mutants wus n'ont pas d'organes sexuels et ne produisent donc pas de progéniture. Les plantes purement génétiques ne peuvent pas être croisées ou multipliées.

2 Arabidopsis est facultativement autogame (autopollinisante). Cela signifie que la plante se féconde normalement elle-même, mais peut également être croisée artificiellement.

Humidifiez ensuite un cure-dent avec la bouche ou un peu d'eau et prélevez délicatement une graine avec la pointe. Attention! Veillez à ne pas écraser les graines et à ne prélever qu'une seule graine à la fois.

Insérez la pointe du cure-dent d'environ 5 mm dans le terreau et tournez-le légèrement entre vos doigts. Cela devrait détacher la graine. Prenez note des coins du pot que vous avez déjà remplis (positionner une seule graine par coin). Si de la terre ou des graines ne se détachent pas du cure-dent, utilisez du papier pour nettoyer le cure-dent et prenez une nouvelle graine. Une fois que vous avez réparti les graines dans tous les pots, déposez-les dans la mini serre et placez le couvercle avec les aérations ouvertes sur la mini serre.

Posez la mini serre sur le rebord de la fenêtre ou sous une lampe pour plante d'intérieur. Et maintenant, il est temps d'attendre et de regarder !



Semez quatre graines dans les coins du pot, mais laissez un peu d'espace jusqu'au bord !

Semis – questions et propositions de réponses

1. Réfléchissez aux questions suivantes et notez vos réponses :

a. Énumérez les caractéristiques qui pourraient faire d'*Arabidopsis thaliana* une plante modèle appropriée.

- sa taille
- sa croissance rapide
- petit génome
- robuste/peu exigeant
- autopollinisante (peut également être croisé), permet un croisement et une propagation facile
- génétiquement modifiable facilement

b. Faites des hypothèses sur les caractéristiques que les différentes lignées de plantes auront dans les pots.

- parents monozygotes pour Col et *ka* → **monozygotes**
- *ka* F1 : descendant d'un croisement entre Col et *ka* → **identique à Col**
- *ka* F2 : descendant d'une plante *ka* F1 → **3:1** ;
3 chances d'avoir des fleurs normales : feuille duveteuse,
1 chance d'avoir des fleurs normales : feuille glabre,
- *wus* F2 : descendant d'une plante *wus* F1 qui contient le mutant et le gène sauvage *wus* → **3 :1**
3 chances d'avoir des fleurs normales : feuille duveteuse,
1 chance d'avoir des fleurs cotonneuses : feuille duveteuse,
- *ka* x *wus* F2 : descendant d'un croisement entre une plante *ka* F1 et *wus* F1 → **9:3:3:1** ;
9 chances d'avoir des fleurs normales : feuille duveteuse,
3 chances d'avoir des fleurs normales : feuille glabre,
3 chances d'avoir des fleurs cotonneuses : feuille duveteuse,
1 chance d'avoir des fleurs cotonneuses : feuille glabre

Après le semis :

- Enlever le couvercle quand les plans touchent le couvercle
- Ne pas arroser tant que le couvercle est sur la mini serre, puis environ une fois par semaine quand le couvercle n'est plus en place, d'autant plus souvent que les plantes grandissent et que la salle est chaude.
- Si les pots contiennent plus de quatre plantes, retirez le surplus avec une pince ronde en plastique ou avec les doigts et, si nécessaire, placez-les dans des pots contenant trop peu de plantes (attention au génotype !)
- Observez régulièrement la croissance des plantes (voir la feuille de travail avec des exemples de questions)

Pendant que les plantes poussent – questions et propositions de réponses

1. Voyez-vous une différence entre les deux premières feuilles (cotylédons) et celles qui suivent ? Quelle pourrait être la raison?
 - les deux premières feuilles sont les cotylédons et ont une morphologie beaucoup plus simple (petites feuilles circulaires et peu de vascularisation)
 - les systèmes des cotylédons sont déjà formés dans l'embryon de la graine ; ils servent à absorber rapidement l'énergie du soleil.
 - une structure de feuille complexe serait plus gourmande en énergie et prendrait plus de temps pour se développer, ce qui entraînerait un désavantage concurrentiel

2. Pourquoi les plantes plus développées ont-elles besoin de plus d'eau que les jeunes pousses?
 - les plantes plus développées sont plus grandes et ont donc besoin de plus d'eau pour se développer
 - elles ont plus de racines et peuvent donc absorber l'eau plus rapidement

3. Voyez-vous des différences de vitesse de croissance entre les différents pots ? Quels facteurs pourraient jouer un rôle ?
 - les plantes poussent souvent mieux sur les bords des pots et du côté face à la fenêtre car elles reçoivent plus de lumière.
 - les mutants wus sont généralement plus petits, mais fleurissent souvent plus tôt.

Des expériences réalisables en parallèle

Avec le kit 'lois de Mendel', vous pouvez non seulement expliquer les règles de l'hérédité de manière plus concrète, mais également produire du matériel pour d'autres expériences.

Les expériences suivantes sont également envisageables avec le kit 'lois de Mendel' :

- Morphologie des feuilles au microscope; différences entre le haut et le bas de la feuille, poils des feuilles
- Anatomie des feuilles au microscope; coupe transversale des feuilles, couches de tissus dans les feuilles de plantes dicotylédones
- Structure florale des angiospermes; comparaison de fleurs typiques cotonneuses et sauvages

Analyse

2ème heure (45-90 min.) :

- Rappel des lois de Mendel
- Compter les phénotypes
- Répondez aux tâches de la feuille de travail

Analyse - Questions

1. Observez les populations. Les distributions phénotypiques correspondent-elles à ce que vous attendiez ou imaginiez ? Réalisez un carré de Punnett et comparez les distributions attendues avec les hypothèses formulées précédemment.

- Parentaux purs pour Col et *ka* → **Pureté héréditaire**
- *ka* F1 : les descendants d'un croisement de Col et *de ka* → **identique à Col**
- *ka* F2 : les descendants d'une plante *ka* F1 → **3:1 ; feuilles duveteuses : feuilles glabres**

	KA	ka
KA	KA/KA	KA/ka
ka	KA/ka	ka/ka

- *wus* F2 : les descendants d'une plante ("*wus* F1") qui a produit le mutant et le sauvage
wus Gène contient → **3:1 ; fleurs normales : fleurs cotonneuses**

	WUS	Wus
WUS	WUS/WUS	WUS/wus
wus	WUS/wus	wus/wus

- *ka* x *wus* F2 : les descendants d'un croisement entre une plante *ka* F1 et une plante "*wus* F1".
→ **9:3:3:1 ; feuilles duveteuses, fleurs normales : feuilles glabres, fleurs normales : feuilles duveteuses, fleurs cotonneuses : feuilles glabres, fleurs cotonneuses**

	KA WUS	ka WUS	KA wus	ka wus
KA WUS	KA/KA ; WUS/WUS	KA/ka ; WUS/WUS	KA/KA ; WUS/wus	KA/ka ; WUS/wus
ka WUS	KA/ka ; WUS/WUS	ka/ka ; WUS/WUS	KA/ka ; WUS/wus	ka/ka ; WUS/wus
KA wus	KA/KA ; WUS/wus	KA/ka ; WUS/wus	KA/KA ; wus/wus	KA/ka ; wus/wus
ka wus	KA/ka ; WUS/wus	ka/ka ; WUS/wus	KA/ka ; wus/wus	ka/ka ; wus/wus

2. Sur la base de vos résultats, quel phénotype les plantes "*WUS* F1" et "*WUS* F2" devraient-elles avoir ? *ka* x *wus* F1 avoir ? Pourquoi ?

- tous deux de type sauvage, car ils sont hétérozygotes pour les loci respectifs

3. Pourquoi n'est-il pas possible d'obtenir des semences avec un génotype exclusivement *wus*^{-/-} ? Avez-vous une idée de la manière dont ces lignées pourraient tout de même être conservées ?

- *wus*^{-/-} est stérile
- Propagation par reproduction asexuée/clonage (p. ex. par greffage ou induction hormonale de nouvelles plantes à partir de matériel végétatif)

4. Avant de commencer ses expériences, Gregor Mendel a croisé les différentes lignées de pois entre elles afin d'obtenir des lignées plus pures. Faites des suppositions sur les raisons pour lesquelles cela était important pour le succès de ses expériences !
 - les lignées pures sont homozygotes pour tous les loci (bien qu'il ne le sache évidemment pas explicitement)
 - c'était la seule façon pour lui de s'assurer que ses croisements fonctionneraient, car cela lui permettait d'être certain de la composition du "génotype" de ses plantes
5. Lorsque l'on croise des plantes *wus* et *ka*, les distributions phénotypiques correspondent parfaitement à la troisième règle de Mendel. Qu'est-ce que cela nous apprend sur la position des deux gènes sur le génome d'*Arabidopsis thaliana* ?
 - il n'y a pas de couplage, les gènes se trouvent sur des chromosomes différents
6. Comparez l'apparence générale de la *wus* F2 et de la *ka* F2. Remarquez-vous des différences ? Qu'en est-il du croisement *ka* x *wus* F2 ? Quelles pourraient être les raisons de ces différences ?
 - *wus* - Les plantes ont tendance à avoir les phénotypes suivants :
 - plantes plus petites
 - fruits émousés, plus courts et plus larges
 - des inflorescences plus denses, regroupées par dominance apicale avec des pédoncules plus courts
 - moins de pousses latérales
 - tendance à une croissance plutôt verticale
 - feuilles plus rondes

Les plantes *ka* x *wus* F2 seront également ségréguées pour les phénotypes généraux. Cela est dû au fait que les plantes mères Col qui ont été utilisées pour générer les mutants n'étaient pas génétiquement identiques. De ce fait, ces caractères supplémentaires se ségrégent parallèlement à ceux décrits. Les mutants sont donc purs pour leurs mutations respectives, mais pas dans l'ensemble du génome. Pour cela, il faudrait autofertiliser les plantes pendant au moins cinq générations.

Analyse statistique

Il peut être intéressant de réaliser l'analyse statistique de telles données afin de pouvoir dire si l'hypothèse nulle peut être considérée comme falsifiée ou non. Nous utilisons ici un test du khi carré qui peut être calculé de manière très simple et compréhensible.

Informations de fond supplémentaires

Les semences du kit 'lois de Mendel' se composent de différentes générations et de croisements de trois lignées (une parentale, deux mutantes) d'*Arabidopsis thaliana*, également connue sous le nom d'arabette des champs. C'est la plante dicotylédone modèle la plus importante dans la recherche sur les plantes et c'est pourquoi son génome a été entièrement séquencé dès l'année 2000.

Les lignées mutantes de ce kit sont *glabres* (*ka*) et *cotonneuses* (*wus*), la lignée parentale Columbia (Col). Les mutants ont été créés par mutagenèse à l'aide de méthane sulfonate d'éthyle (EMS). L'EMS réagit avec les nucléotides et provoque ainsi des mutations G/C -> A/T, une méthode largement utilisée dans la sélection agricole et dans la recherche ("forward genetics"). Les plantes mutantes homozygotes pour *ka* (*ka/ka*) ne développent pas de poils foliaires (trichomes) sur leurs feuilles.

Les plantes *wus/wus* montrent une structure florale défectueuse. Il s'agit d'une mutation homéotique dans

laquelle l'identité du stamina et du carpelle est perdue, la fleur est "remplie" et ne présente que des pétales et des sépales. C'est un phénotype très recherché en horticulture ornementale, que l'on peut voir dans divers bégonias ou chrysanthèmes, mais souvent seuls les staminas sont mutés. Comme les plantes *wus/wus ne* produisent pas de gamètes, la lignée ne peut pas être maintenue à l'état homozygote.

Les mutants ont été trouvés par mutagenèse de différents écotypes d'*Arabidopsis thaliana*. Au sens strict, le parental de *wus* n'est pas Col, mais Landsberg erecta (Ler). C'est pourquoi les mutants diffèrent partiellement dans leur apparence générale. Cependant, pour faciliter la tâche des élèves, seul Col a été indiqué comme parentale.

Exemple de test du khi carré

Le test du khi carré consiste à vérifier si une distribution observée de classes (ici des phénotypes) correspond à la distribution attendue sur la base de l'hypothèse préalablement établie. Les hypothèses possibles dans ce cas sont par exemple

Hypothèse nulle H_0 : les *allèles wus* et *ka* sont hérités de manière récessive/non mendélienne.

Hypothèse alternative H_1 : les *allèles wus* et *ka* ne sont pas hérités de manière récessive/mendélienne.

On calcule ici χ^2 , que l'on compare ensuite aux valeurs d'un tableau pour obtenir la valeur p de notre test statistique.

$$\chi_c^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

χ^2 est calculé comme la somme de la différence au carré entre le nombre de phénotypes observé (O, observé) et attendu (E, attendu), divisée par le nombre attendu pour chaque classe de phénotype.

Pour chaque phénotype de la population, vous comparez dans quelle mesure le nombre de plantes s'écarte de la distribution attendue basée sur Mendel (hypothèse nulle). Si l'écart est important, χ^2 et donc la valeur p seront également plus importants (voir ci-dessous). A titre d'exemple, prenons une population F2 en ségrégation pour les *wus* et les *ka* avec 64 individus observés.

Pour calculer, vous pouvez remplir le tableau suivant avec les élèves de gauche à droite :

Phénotype	O (distribution observée en pots)	E (basé sur la distribution attendue sur Mendel 9:3:3:1)	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
Feuilles duveteuses, fleurs normales	38	36	2	4	0,11
Feuilles glabres, fleurs normales	14	12	2	4	0,33
Feuilles duveteuses, fleurs cotonneuses	9	12	3	9	0,75
Feuilles glabres, fleurs cotonneuses	3	4	1	1	0,25
				Somme = χ^2	1,44

Puis consolidez un tableau pour déterminer la valeur de p

n	p						n
	0,5 %	1 %	2,5 %	5 %	10 %	50 %	
1	0,0000	0,0002	0,0010	0,0039	0,0158	0,4549	1
2	0,0100	0,0201	0,0506	0,1026	0,2107	1,3863	2
3	0,0717	0,1148	0,2158	0,3518	0,5844	2,3660	3
4	0,2070	0,2971	0,4844	0,7107	1,0636	3,3567	4
5	0,4117	0,5543	0,8312	1,1455	1,6103	4,3515	5

n est le nombre de degrés de liberté, qui est toujours le nombre de classes moins 1 (donc 3 pour la troisième règle de Mendel, 1 pour la deuxième règle). On cherche ensuite dans la ligne correspondante la valeur X^2 calculée (dans l'exemple : 1,44) et on regarde dans quelle colonne on arrive, ce qui nous donne la valeur p . Dans ce cas, la valeur p se situe entre 10% et 50% et donc au-dessus du niveau de signification classique de 5%.

La valeur p indique la probabilité d'obtenir à nouveau une telle distribution observée si l'hypothèse nulle est correcte, c'est-à-dire s'il existe une hérédité mendélienne. Si $p < 5\%$, H_0 peut être considéré comme falsifié. Il y aurait donc une raison de supposer qu'il n'y a pas d'hérédité mendélienne, car la distribution est suffisamment éloignée des attentes mendéliennes.

Il devrait être très difficile d'obtenir un résultat significatif avec $p < 5\%$, parce que la population testée est ici relativement faible et qu'il y a toujours une transmission génétique mendélienne à la base. Néanmoins, cela peut être la base d'une digression passionnante pour parler d'études scientifiques, de reproductibilité et de tests statistiques.