
Diversité du vivant à l'échelle microscopique

Activité proposée dans le cadre du Printemps des Sciences 2023

*Paul Dekaezemaeker, Adrien Luyckx, Pauline Moreels,
Muriel Quinet, Nolan Regnier, Marie-Eve Renard*



Introduction – Manipulation du microscope

Il est important de lire attentivement cette section.

1. Structure d'un microscope

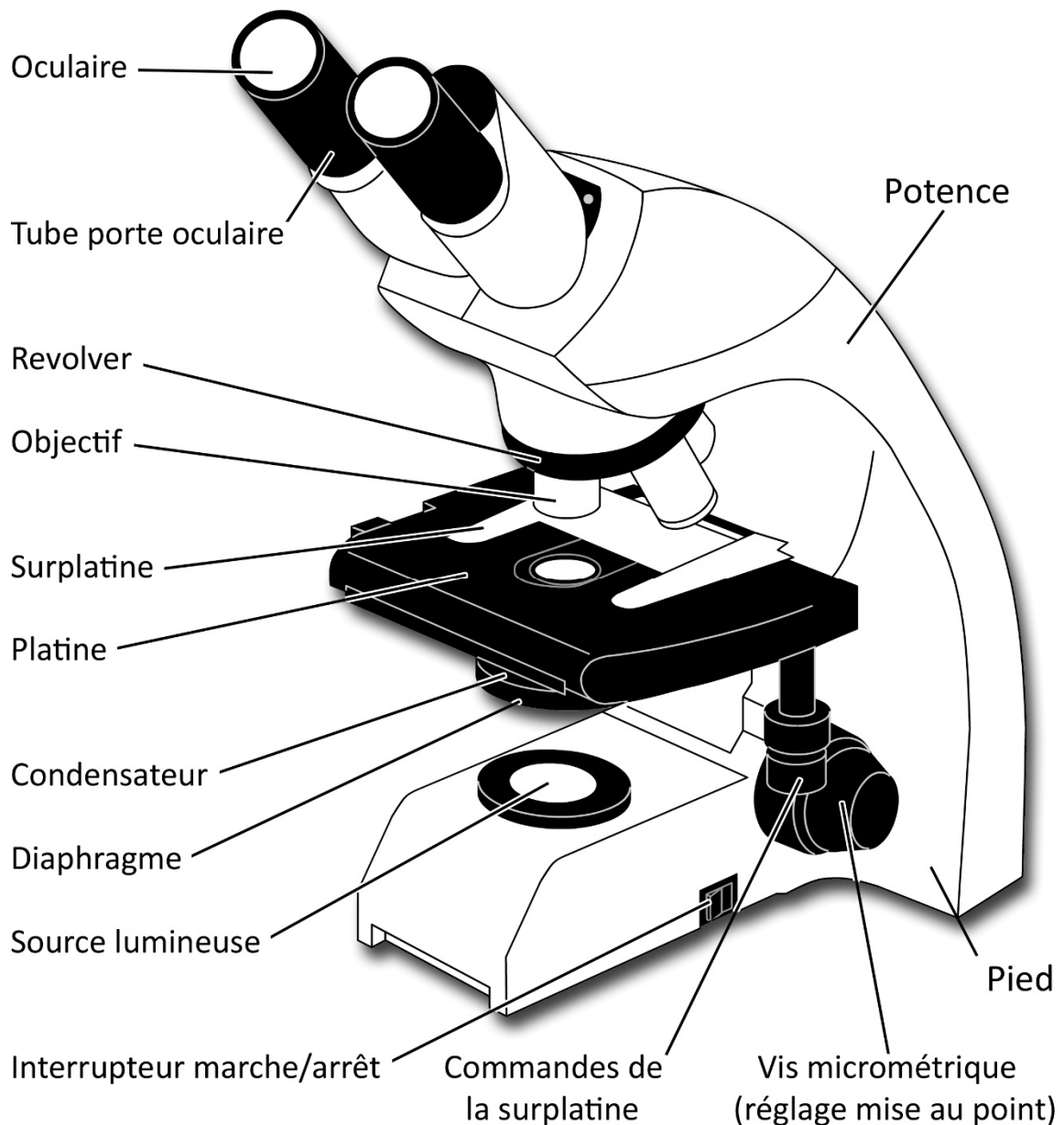


Figure 1 : Vue générale d'un microscope (modèle DM 500 de Leica).

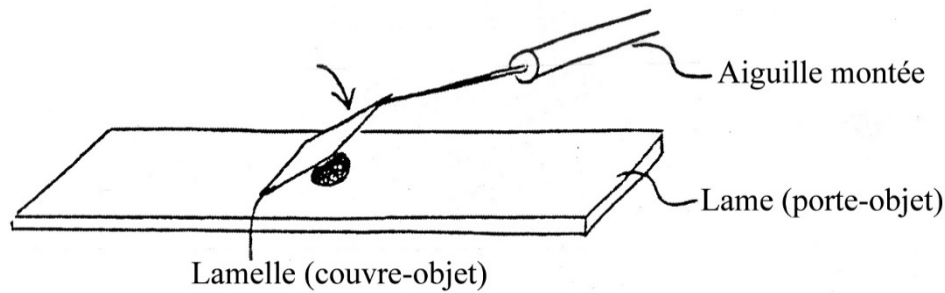


Figure 2 : Manière de déposer le couvre-objet sur l'objet pour éviter la formation de bulles d'air.

2. Maniement du microscope

Avant d'entreprendre toute observation, **s'assurer de la propreté des objectifs, des oculaires et de la préparation**. Si cela s'avère nécessaire, appelez un(e) assistant(e) afin de nettoyer le microscope ou la préparation de manière adéquate. S'il s'agit d'une préparation préparée par vos soins, s'assurer qu'il n'y a pas de liquide de montage **sur** la lamelle. **Ne jamais nettoyer** les oculaires ou les objectifs avec du papier tork et **ne jamais placer ses doigts sur les oculaires** (graisse !).

a. Observation au grossissement faible

1. Mettre l'éclairage (rhéostat) au minimum ;
2. Mettre l'objectif faible (x4), le plus court, dans l'axe optique en s'assurant qu'il est bien en place (décllic !);
3. Ouvrir le diaphragme-iris ;
4. Poser la préparation sur la platine, la fixer dans la pince de la surplatine et, à l'aide des commandes de la surplatine, amener l'objet au centre de la perforation de la platine, dans le faisceau lumineux ;

NB : La lamelle couvre-objet doit toujours être tournée vers l'objectif, sous peine de ne pouvoir mettre l'image au point au grossissement fort ; l'épaisseur de la lame porte-objet est en effet supérieure à la distance frontale de l'objectif fort !

5. Avec le bouton de mise au point, amener « à l'œil nu » la platine - et la préparation - à quelque 2 cm de l'objectif (cf. distance frontale de l'objectif faible) ;
6. Régler l'écartement des oculaires (avec les deux mains, en saisissant les parties mobiles blanches situées sous les tubes porte-oculaires et non les tubes eux-mêmes) pour l'adapter à votre écartement pupillaire et ne plus voir qu'une seule image avec les deux yeux (un seul champ bien circulaire !);
7. Régler la **netteté de l'image** (par la vis micrométrique) ;
8. Régler l'**éclairage**. La **clarté de l'image** se règle par le rhéostat d'intensité de la lampe. La **profondeur de champ** et le **contraste** (important surtout pour les objets non colorés) se règlent par l'ouverture du diaphragme-iris.

b. Observation au grossissement moyen

Procéder comme ci-dessus, de 1 à 8, puis :

9. Amener la portion de la préparation à observer en détail au **centre du champ**. Se rappeler que le déplacement de la préparation est inverse du mouvement désiré de l'image ;
10. A l'aide du revolver, amener l'objectif moyen (x10) dans l'axe optique (décllic !);

11. Les objectifs étant focalisés, l'image est encore au point, ou presque, avec ce second objectif ; préciser éventuellement la mise au point avec la molette extérieure ;
12. Régler l'**éclairage** (cf. point 8).

c. Observation au grossissement fort

Procéder comme ci-dessus de 1 à 12, puis

13. Amener le détail à observer au **centre du champ** (attention, plus le grossissement est fort, plus le déplacement de l'image est rapide) ;
14. Passer l'objectif fort (déclat !), en surveillant latéralement l'opération pour contrôler que l'objectif ne touche pas la préparation (cf. distance frontale : 0,32 mm !) ;
15. Préciser la mise au point de l'image. **Au grossissement fort, toujours utiliser la vis micrométrique (la petite à l'extérieur), jamais la vis macrométrique !**
16. Régler l'**éclairage** (voir point 8).

*NB : Si la mise au point s'avère impossible au grossissement fort, vérifier que la préparation a bien été placée correctement (**lamelle vers le haut !**) ; si c'est le cas, **repasser au grossissement faible**, vérifier la propriété des lentilles et de la préparation et reprendre les opérations au point 1.*

REMARQUES

Lorsque l'observation nécessite l'**emploi du grossissement fort**, il faut toujours procéder comme indiqué ci-dessus, **en commençant par le grossissement faible**. Cette façon de faire permet d'avoir une vue d'ensemble de la préparation, de repérer et de centrer facilement le détail à examiner à un grossissement supérieur.

Durant l'observation, particulièrement **au grossissement fort**, on actionne continuellement le mouvement vertical de la platine. En effet, celui-ci sert non seulement à la mise au point fine, mais encore à **explorer la préparation en profondeur**. (Se rappeler que, même si l'objet est mince, il présente un certain volume).

RECOMMANDATIONS PRATIQUES IMPORTANTES

Avant de retirer la préparation, passer l'objectif faible (il n'est pas nécessaire de descendre la platine). Ceci permettra d'éviter d'abîmer l'objectif et/ou la préparation lorsque celle-ci est retirée.

Ne jamais éteindre le microscope. Avant de quitter la salle, mettre le rhéostat (lumière) au minimum.

Concernant la partie mécanique du microscope :

- Ne jamais relever inconsidérément la platine : avec l'objectif fort, on risque de briser la préparation ou d'endommager l'objectif ;
- Ne jamais forcer quand on sent la moindre résistance dans un mouvement.

3. Remarques importantes concernant les objectifs

La **distance frontale** d'un objectif (distance qui sépare la lentille frontale et la préparation lorsque l'image est au point) est d'autant plus petite que le pouvoir de grossissement est élevé :

- L'objectif faible (4x) a une distance frontale de 23 mm ;
- L'objectif moyen (10x) a une distance frontale de 6,8 mm ;
- L'objectif fort (40x) a une distance frontale de 0,32 mm.

L'objectif fort touche donc presque la préparation ! Bien que la monture télescopique de cet objectif réduise les risques de briser la préparation ou, ce qui est plus grave, d'endommager la lentille frontale en cas de fausse manœuvre, on manipulera toujours le microscope avec **précaution au grossissement fort**.

Les objectifs ont des longueurs différentes : le **plus faible** est aussi le **plus court**. Ils ont été construits de telle sorte que la mise au point pour l'un d'eux soit valable, à peu de chose près, pour les autres. Dès lors, le **passage d'un grossissement à un autre se fera sans déplacer la platine** (sauf pour préciser la mise au point après avoir enclenché l'objectif plus fort).

Tableau 1 : Diamètre du champ de vision du microscope Leica DM 500 en fonction de l'objectif et de l'oculaire utilisés.

| | Objectif | | |
|--------------|----------|--------|---------|
| | 4x | 10x | 40x |
| Oculaire 10x | 4,5 mm | 1,8 mm | 0,45 mm |

Activité n°1 - Observation des grains d'amidon

L'amidon est un sucre complexe. C'est une molécule de réserve pour les végétaux et un élément courant de l'alimentation humaine. On en trouve dans les graines de céréales (maïs, blé, ...) ou de légumineuses (pois, haricot, ...), dans les tubercules et rhizomes (pomme de terre, patate douce, manioc), dans les fruits (banane), etc. La morphologie des grains d'amidon est propre à une espèce donnée et permet donc d'identifier par exemple la composition d'une farine. Vous observerez des grains d'amidon de diverses espèces de plantes afin d'identifier la composition de farines.

Préparation

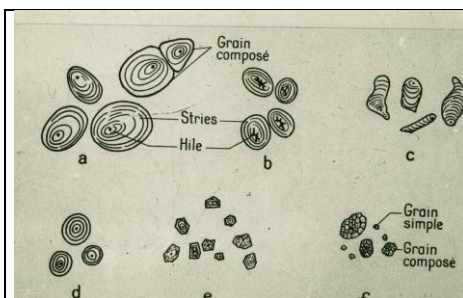
- Déposez une goutte de farine en suspension dans de l'eau sur une lame.
- Couvrir avec une lamelle.
- S'assurer qu'aucun liquide ne déborde (surtout pas sur la lamelle !).
- Observer les grains d'amidon à l'objectif x4, puis x10, puis x40.

Observations

Les grains d'amidons sont contenus dans l'amyloplaste. Ils sont formés par dépôts successifs autour d'un point central, le **hile**, et présente souvent des stries de croissance concentriques. La morphologie du grain (taille, aspect du hile, striation,...) varie fortement selon l'espèce.

Après avoir fait la mise au point au grossissement faible, passez au grossissement moyen et fort. Vous pouvez y observer l'aspect et la localisation du hile dans chaque cas ainsi que la présence des stries. Une simple membrane délimite le grain d'amidon.

Vous disposerez de plusieurs échantillons d'un mélange de farine. Il faudra identifier l'(les) espèce(s) présente(s) dans chaque échantillon ! Pour vous aider, voici une description des grains d'amidon de diverses plantes alimentaires :

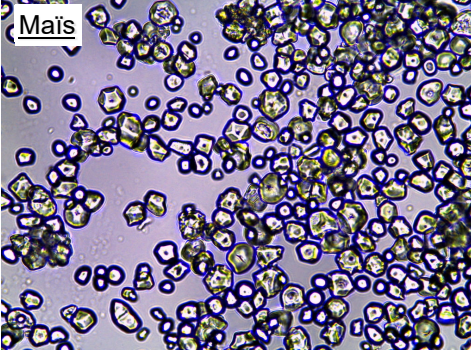



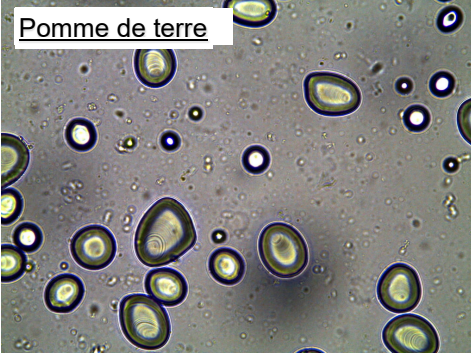

Les **grains d'amidons** sont contenus dans l'amyloplaste. Ils sont formés par **dépôts successifs autour du hile** et présente souvent des stries de croissance concentriques

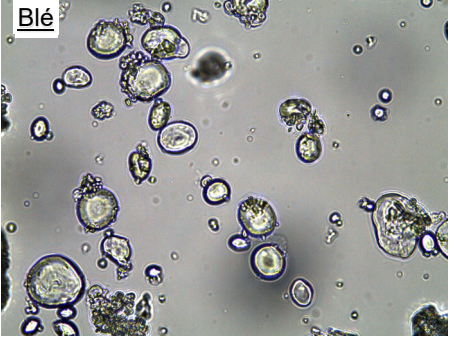

Morphologie du grain **variable** entre les espèces.
Classification selon 3 caractéristiques :

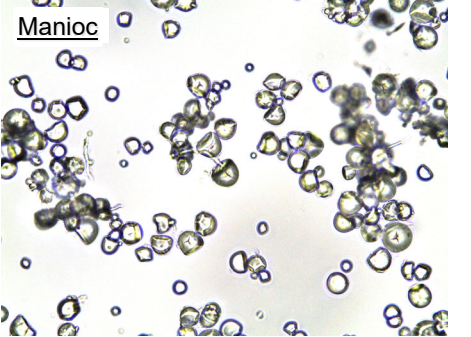

- **Taille et forme** du grain
- **Hile** : aspect et localisation
- **Stries** visibles ou non

Emploi de ces caractéristiques contre la fraude des farines

| | |
|--|---|
|  <p>Maïs</p> | <p>Maïs</p> <ul style="list-style-type: none"> - Forme polygonale anguleuse - Hile cruciforme ou linéaire - Stries non visibles - Aspect chiffonné - 9-40 μm  |
|--|---|

| | |
|---|---|
|  <p>Pomme de terre</p> | <p>Pomme de terre (grand grain) (obtenu par frottis d'un tubercule)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ovale, asymétrique, parfois elliptique. - Hile ponctiforme excentré - Stries - 10-70 μm  |
|---|---|

| | |
|---|---|
|  <p>Blé</p> | <p>Blé (petit grain)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Arrondi, elliptique (plus régulier que le maïs) - Stries peu visibles - Hile ponctiforme, central pas toujours visible - 4-35 μm  |
|---|---|

| | |
|--|--|
|  <p>Manioc</p> | <p>Manioc</p> <ul style="list-style-type: none"> - Arrondi, tronqué, souvent associé par 2 (au niveau de la face tronquée) - Hile central étoilé, ponctiforme, linéaire - Stries non visibles - 6-25 μm  |
|--|--|



| | |
|--|---|
|  <p>Haricot</p> | <p>Haricot</p> <ul style="list-style-type: none"> - Elliptique ou arrondi (forme de grain de café) - Hile allongé souvent ramifié - Stries non visibles sauf en périphérie - 6-30 μm |
|  <p>Banane</p> | <p>Banane (fruit vert concassé en panade + eau)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Allongé et étroit (forme de coquille de moule) - Stries nombreuses - Hile ponctiforme, nettement excentré pas toujours visible - Dans une cellule de stockage - 12-65 μm |

Figure 3 : Principales caractéristiques morphologiques des grains d'amidon de plusieurs espèces alimentaires.

Question

Identification des mélanges de farines :

Activité n°2 – Miel & grains de pollen

À la suite du butinage des fleurs par les abeilles, de très nombreux grains de pollen se retrouvent dans le miel. À l’œil nu, le pollen se présente comme une poudre plus ou moins collante selon les espèces. À l’échelle microscopique, la diversité morphologique est très importante. En analysant le miel au microscope, il est ainsi facile d’identifier les principales espèces de plantes butinées ! Ici, votre objectif est d’identifier à l’aide d’une clé dichotomique (figure 4) les grains de pollen présents sur les différents échantillons de miel préparés sur des lames de microscopie.

Le matériel a été fourni par le CARI, une asbl liée à l’UCLouvain qui travaille dans le domaine de l’apiculture.

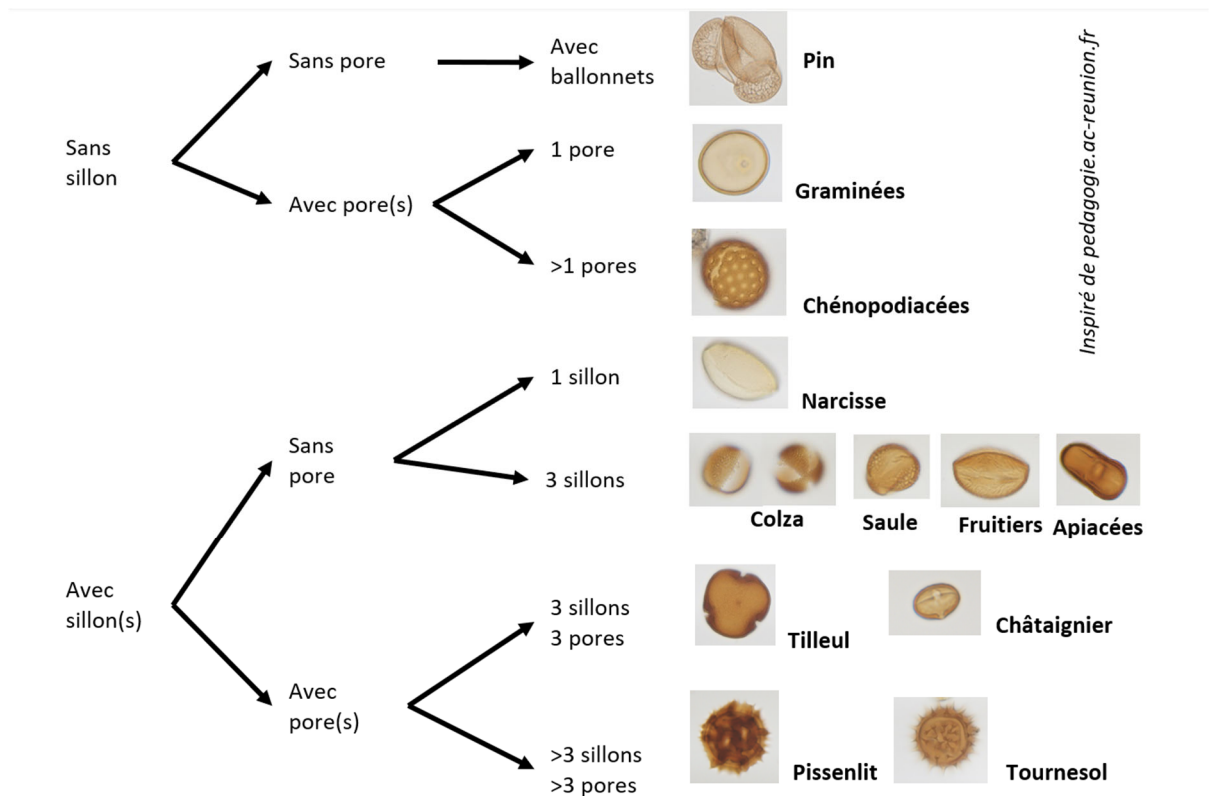


Figure 4 : clé dichotomique permettant l’identification des grains de pollen (disponible en couleurs).

Question

Identification des mélanges des grains de pollen dans les miels :

Activité n°3 – Observation vitale d'une goutte d'eau

Après avoir observé certains composés alimentaires au microscope, voyons un peu pourquoi il n'est pas bon de se désaltérer avec l'eau d'une mare.

Le but de cette partie sera d'observer une goutte d'eau douce provenant d'une mare afin de découvrir la diversité cellulaire biologique présente.

Préparation

- Déposez une goutte de la solution de la mare sur une lame porte-objet
- Recouvrir la goutte par une lamelle (délicatement afin de ne pas créer de bulle).
- Vérifier qu'il n'y a aucun liquide sur la lamelle.
- Faire vérifier par l'assistant.
- Observer la goutte d'eau de la mare au microscope

Observations

Différents micro-organismes peuvent être observés :

Procaroyotes

Cyanobactéries : *Oscillatoria* forme une colonie filamenteuse de coloration bleu vert (pigments photosynthétiques). Cette algue doit son nom au fait qu'elle peut se mouvoir par oscillations. Faisant partie du règne des procaryotes, elle ne possède pas d'organites cellulaires. Il n'existe donc pas de chloroplaste mais les pigments photosynthétiques se retrouvent dans la partie périphérique du cytoplasme (dans un système de lamelles membraneuses, appelées thylacoïdes).

Protistes (organismes eucaryotes unicellulaires)

présentant des caractères animaux :

Ciliés : la *paramécie* est un organisme oblong recouvert de cils.

présentant des caractères végétaux :

Bacillariophytes (diatomées) : la paroi (pectine) des *diatomées* est imprégnée de silice. Elle est constituée de deux valves emboîtées l'une dans l'autre, comme le fond et le couvercle d'une minuscule boîte en verre. Les valves sont ornées de motifs divers, caractéristiques pour une espèce donnée.

Euglénophytes : l'*Euglène* a une forme lancéolée et est pourvue de deux flagelles (difficilement distinguables). Cet organisme possède de nombreux chloroplastes. Le stigma est coloré en rouge orangé de par la présence de carotène, un pigment photorécepteur.

Chlorophytes (algue verte) : *Scenedesmus* est une colonie formée de 4 cellules allongées, les 2 cellules externes étant prolongées par deux pointes.

Colonies sphériques : diverses espèces de *Chlorococcales*.

Colonies filamenteuses : diverses espèces de conjugales comme le *Spirogyra* qui possède un ou plusieurs chloroplastes de forme très caractéristiques (une sorte de rubans spiralés, portant de nombreuses taches réfringentes : les pyrénoides (granules de protéines)).

Animaux microscopiques :

On peut observer aussi certaines larves d'insectes, de vers, ainsi que des *rotifères* (organismes comportant une couronne de cils entourant l'orifice buccal).

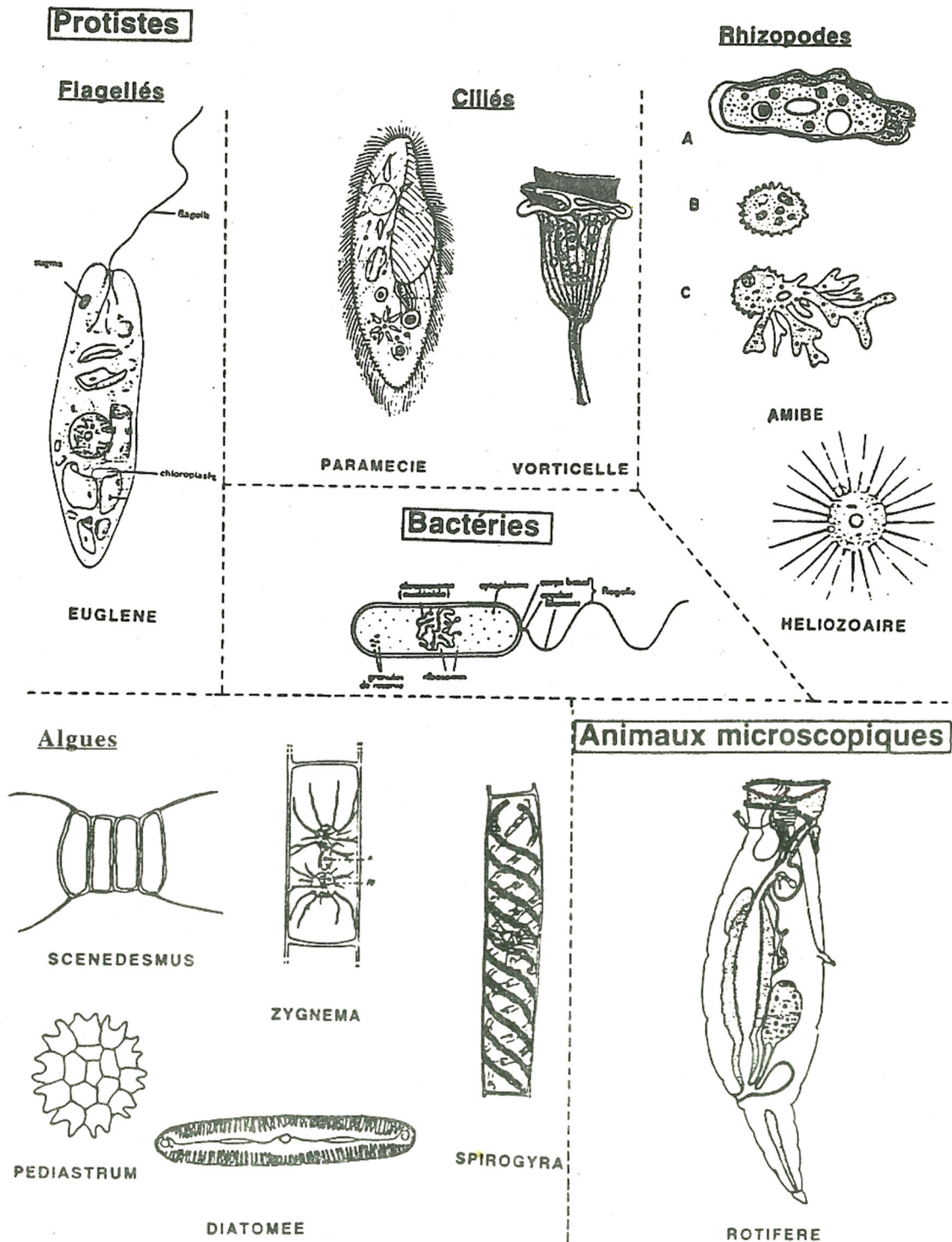


Figure 5 : principaux taxons microscopiques rencontrés présents dans l'eau d'une mare.

Question

Combien de types de micro-organismes différents as-tu observé ? Entoure sur la figure 5 les organismes que tu as su identifier et dessine le micro-organisme qui est le plus présent dans ta goutte d'eau.

Activité n°4 – Comparaison de cellules animales & végétales.

Bien que plusieurs composants cellulaires sont communs entre les animaux et les végétaux, les cellules animales et végétales diffèrent par plusieurs aspects comme leur taille, leur forme, certains organites etc. Nous vous proposons de comparer un type de cellules animales (cellules épithéliales humaines) et un type de cellules végétales (cellules de la nervure de l'élodée).

Préparation

Observation de cellules épithéliales humaines

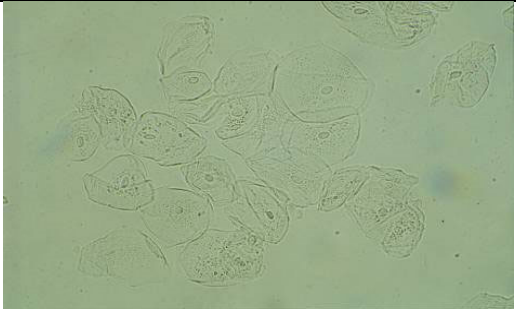
- Déposer une goutte de Ringer sur la lame-porte-objet.
- Grattez avec l'ongle la face interne de la joue et posez les cellules dans la goutte de Ringer¹.
- Dissociez avec une aiguille montée, puis couvrez avec une lamelle.
- Observez au grossissement fort (attention de commencer par le petit objectif).

Observation d'une feuille d'élodée (*Elodea canadensis*)

L'élodée est une plante aquatique qui pousse couramment dans nos mares et étangs. Elle est aussi largement utilisée en aquariophilie.

- Déposez une feuille entière, bien verte sur la lame-porte-objet.
- Ajoutez une goutte d'eau.
- Déposer une lamelle.
- Au grossissement faible, repérez les cellules chlorophylliennes plus étroites de la nervure médiane.
- Vérifiez votre mise au point au grossissement moyen, ainsi que l'emplacement des cellules de la nervure.
- Au grossissement fort, observez le déplacement des chloroplastes le long des parois.

Observations

| | |
|---|---|
|  | <p>Règne animal : cellules épithéliales humaines</p> <ul style="list-style-type: none"> - Forme variable, plus ou moins circulaire - Pas de paroi cellulaire - Présence d'un noyau - Membrane cellulaire non visible. Par contre la limite cellulaire est distinguable grâce à une différence de réfringence (brillance). - Taille : 20-60 μm |
|---|---|

¹ Le liquide de Ringer est une solution physiologique créée par Sydney Ringer. Cette solution est composée de chlorure de sodium, de potassium et de calcium.

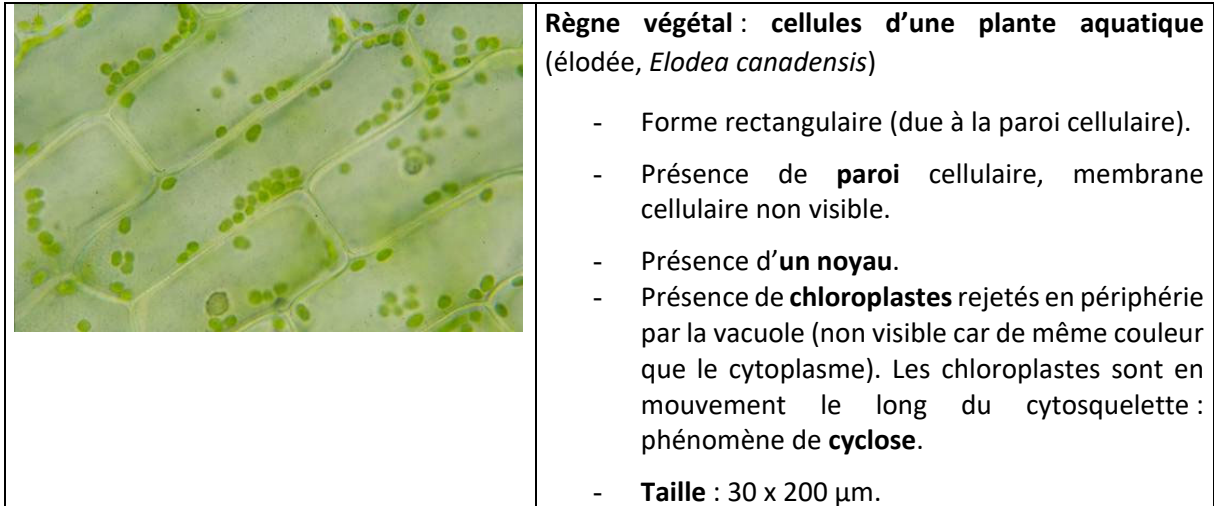


Figure 6 : Photos de cellules animales (haut) et végétales (bas).

Questions

- Quels sont les composants cellulaires visibles communs aux cellules animales et végétales ?

- Quels sont les composants cellulaires visibles spécifiques aux cellules végétales ?

- A quoi servent les chloroplastes et pourquoi apparaissent-ils verts ?