

TP N°1

INITIATION A LA MICROSCOPIE

But du TP :

- Savoir manipuler une loupe binoculaire.
- Savoir utiliser le microscope optique, qui est outil principal utilisé pour tous les TP.
- Connaissance et mise en évidence des particularités des cellules végétales sous microscope optique.

Partie théorique

A- Utilisation de la loupe binoculaire

Appelé également le **stéréomicroscope**. C'est un appareil destiné en priorité à l'observation à faible grossissement avec un éclairage par-dessus. Il permet surtout la perception stéréoscopique, en relief, de petits sujets. Les différentes parties sont présentées dans la planche 1.

B- Utilisation du Microscope optique

En étymologie, Microscope comprend deux mots ; micro = petit et scopein= voir. C'est un appareil optique qui permet de voir des objets très fins dont la lumière peut les traverser, en les grossissant de 32 à 1000 fois voir plus selon le type de microscope utilisé. Les différentes parties du MO sont présentées dans la planche 2. L'échantillon à observer est appelé « préparation », il est placé entre une lame et une lamelle de verre.

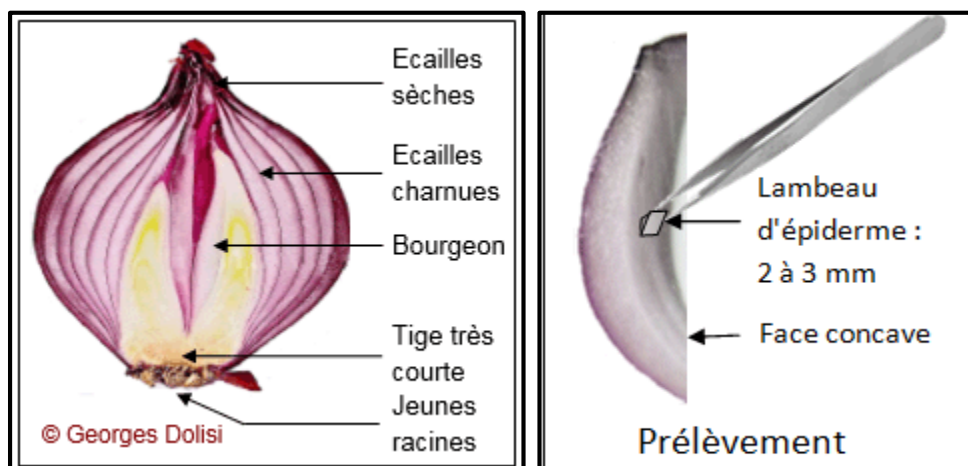
Partie pratique

A. Matériel et réactifs nécessaires pour les manipulations : Microscope, lame, lamelle, oignon, pince, bistouri, rouge neutre, eau iodé, bleu de méthylène.

B. Protocole expérimentale

Observation 1 :

- Prélever un fragment d'épiderme « 0.5cm/0.5cm » interne d'une écaille de bulbe d'oignon et la mettre entre lame et lamelle dans une goutte d'eau, en veillant à bien l'étaler.
- Passez à l'observation Gx10 puis Gx40.



Observation 2 :

- Prélever un autre fragment et plonger le pendant 5min dans une solution de NaCl 40% (40g de NaCl dans 100ml d'eau) tenue dans une boîte Pétri.
- Déposer ce fragment dans une goutte de rouge neutre entre lame et lamelle.
- Observer avec Gx10 puis Gx40.

Observation 3 :

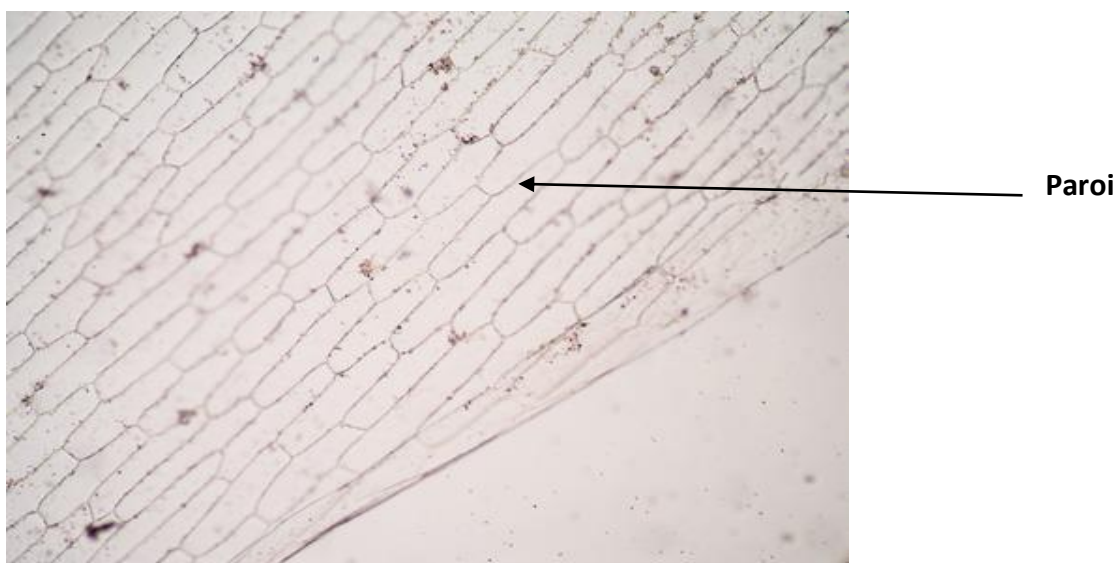
- Déposer un nouveau fragment dans une goutte de bleu de méthylène.
- Observer à Gx10 puis Gx40.

C. Manipulation du microscope

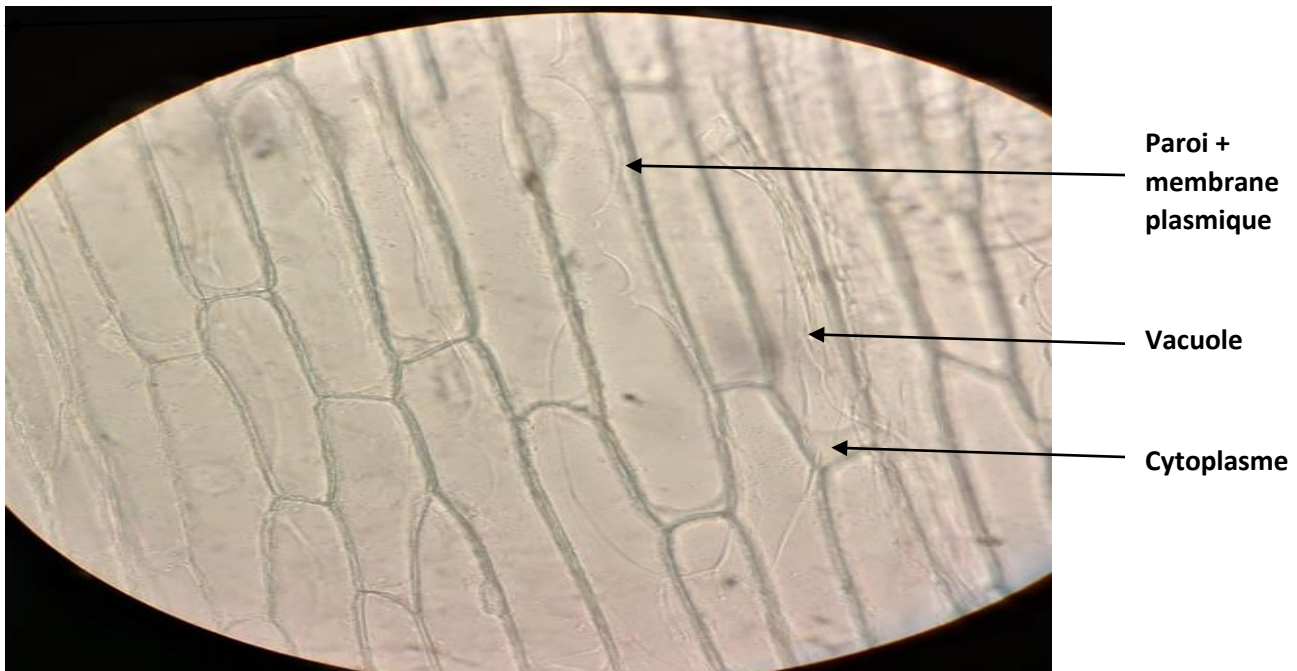
- Broncher la prise et allumer le microscope (bouton ON/OFF).
- Nettoyer les lentilles et les objectifs pour éliminer toute sorte de poussière.
- Régler l'orientation et l'intensité de la lumière.
- Placer la lame préparée pour l'observation sur la platine, entre les valets, de sorte qu'elle soit perpendiculaire par rapport à la lumière et l'objectif.
- Choisir et mettre l'objectif qui a le plus petit grossissement.
- Déplacer la platine vers le haut par le vis macrométrique, jusqu'à l'apparition de l'image. Si l'image n'est pas claire et nette, il faut la régler par le vis micrométrique.
- Augmenter le grossissement pour avoir plus de détails, et régler la netteté de l'image par le vis micrométrique. Le déplacement de la lame est assuré par les différents vis de déplacement (à droite, à gauche, en haut et en bas) pour avoir une image complète.
- Eteindre et ranger le microscope à la fin de l'observation.

D. Résultats : Organisation de la cellule épidermique d'*Allium cepa*

1. Observation sans coloration



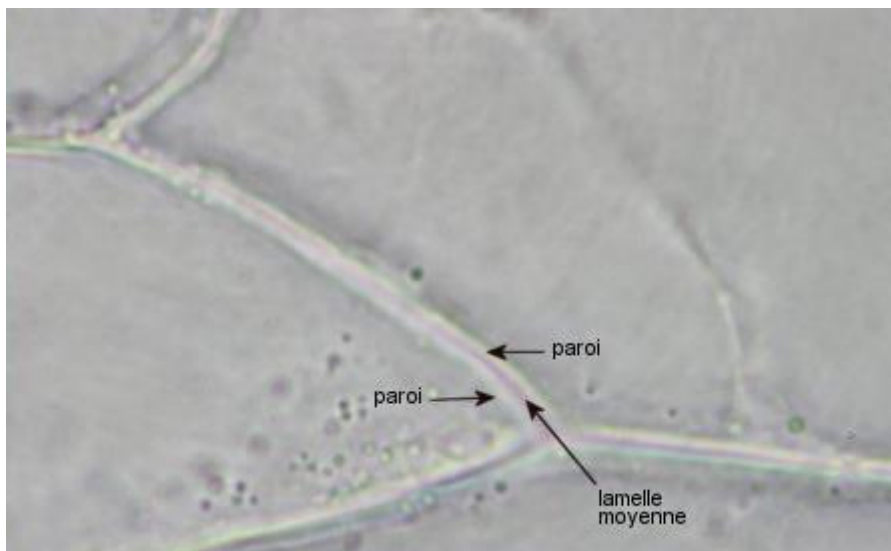
Cellules épidermiques de l'écaïlle interne d'oignon *Allium cepa* sous microscope optique GX100



Cellules épidermiques de l'écaille d'oignon *Allium cepa* sous microscope optique GX400

L'épiderme d'oignon est constitué de plusieurs cellules, toutes collées les unes aux autres et alignées. Donc l'oignon est un organisme vivant pluricellulaire.

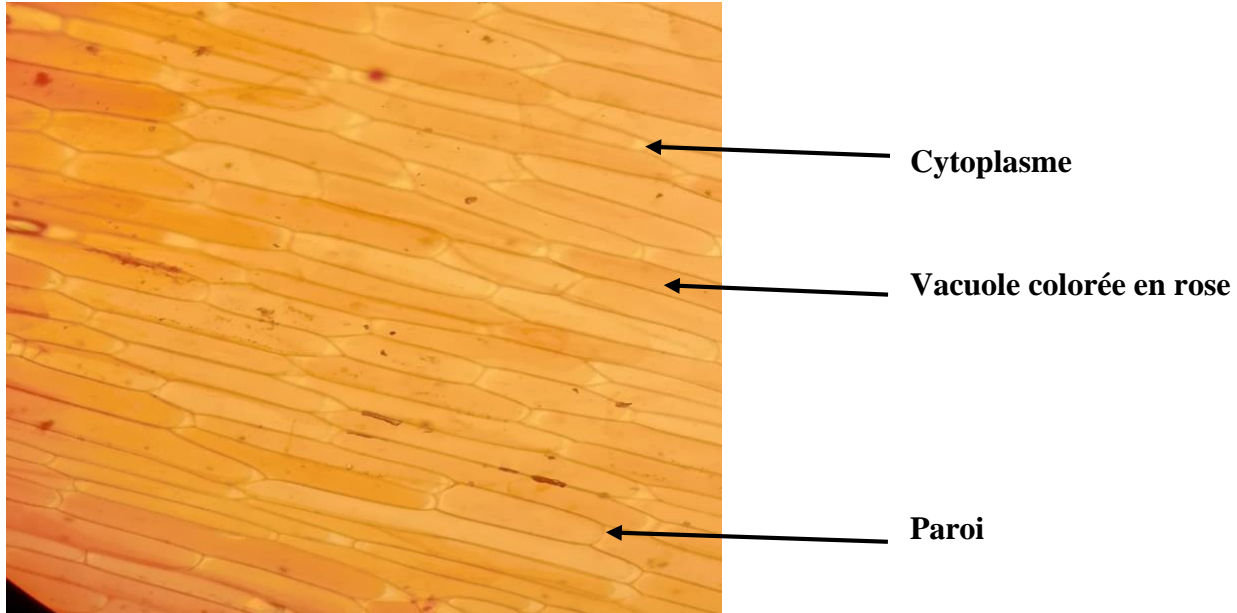
Il est possible de repérer la paroi, la lamelle moyenne, la grande vacuole et de matérialiser la présence de la membrane plasmique des cellules d'épiderme interne d'écaille d'oignon même sans aucune coloration.



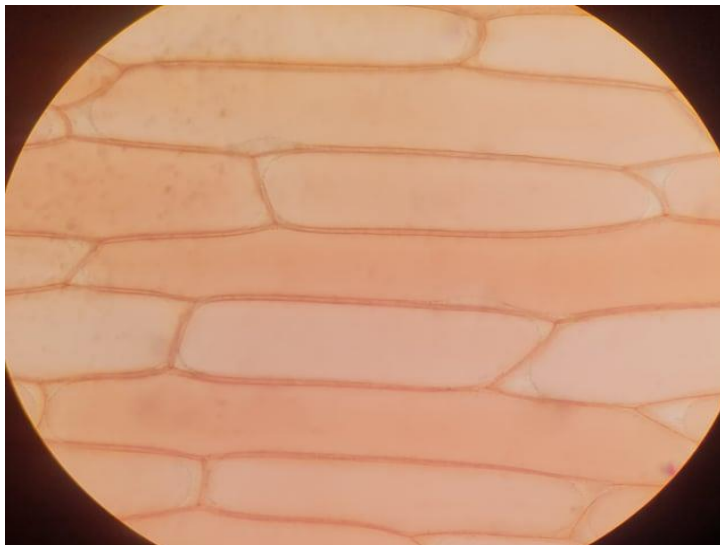
(GX1000)

2. Observation avec coloration

Coloration au rouge neutre :

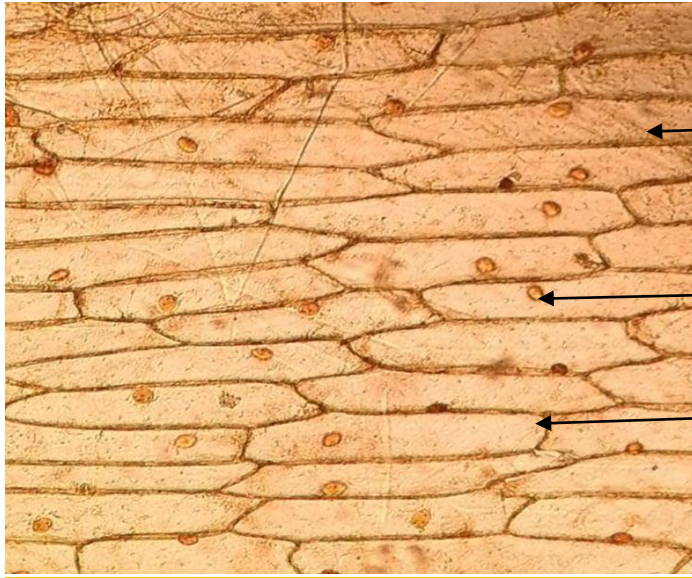


Cellules d'épiderme d'oignon *Allium cepa* colorées au rouge neutre (Gx100)



Cellules d'épiderme d'oignon *Allium cepa* colorées au rouge neutre sous microscope optique (Gx400)

Coloration à l'eau iodée

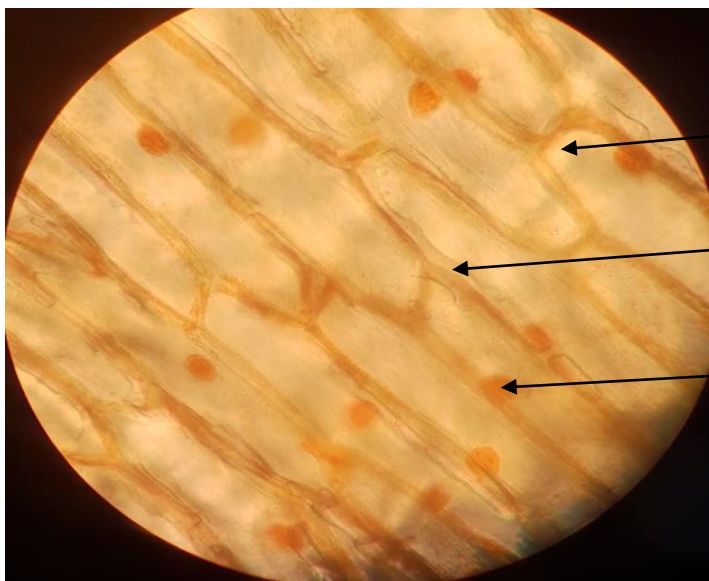


Cytoplasme colorée en
jaune

Noyau

Paroi

Cellules épidermiques de l'écaille d'oignon *Allium cepa* sous microscope optique (GX100)



Cytoplasme colorée en jaune

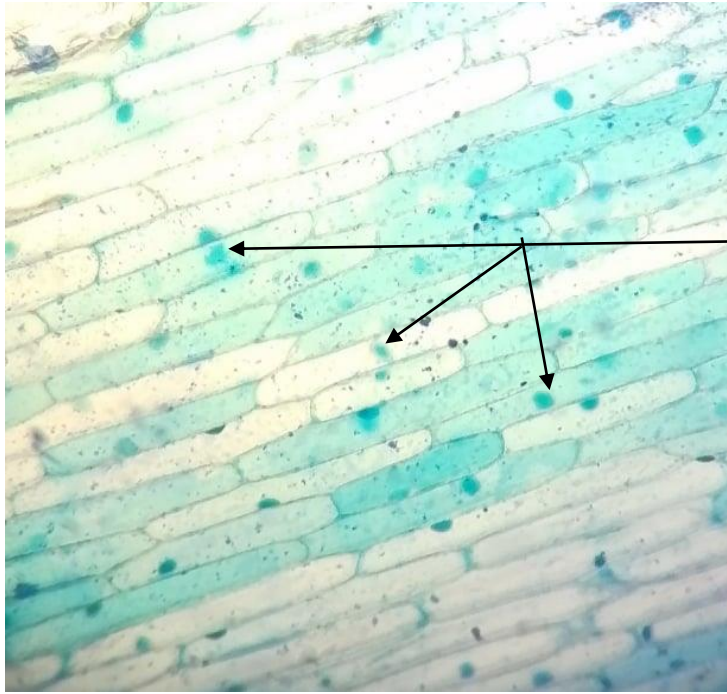
Paroi + membrane

Noyau

Cellules épidermiques de l'écaille d'oignon *Allium cepa* sous microscope optique (GX400)

NB : Noter l'épaisseur de la paroi, la présence d'un point brun à l'intérieur du noyau, le nucléole, ainsi que diverses inclusions à l'intérieur du cytoplasme (le contenu cellulaire).

Coloration au bleu de méthylène



Noyau

Cellules épidermiques de l'écaille interne d'oignon *Allium cepa* sous microscope optique (GX100)



Cytoplasme granuleux

Noyau

Chromatine

Cellules épidermiques de l'écaille interne d'oignon *Allium cepa* sous microscope optique (GX400)

Le plan de mise au point choisi nous a permis de repérer :

- La paroi pecto-cellulosique et à certains endroits la lamelle moyenne.
- Dans le noyau, la chromatine est colorée par le bleu de méthyle. La chromatine correspond aux chromosomes interphasiques dont l'un des constituants est l'ADN. Ce qui veut dire que l'ADN a retenu le colorant.
- Le cytoplasme granuleux avec sa composante pariétale juste sous la paroi, et ses travées transvacuolaires (cytop. trabéculaire).