

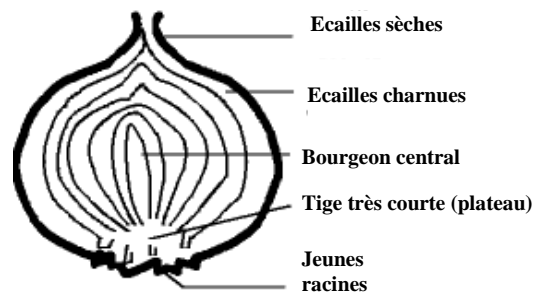
TP 2. ETUDE MICROSCOPIQUE DE CELLULES VEGETALES

OBSERVATION D'UN ÉPIDERME D'OIGNON (*ALLIUM CEPA* L.)

1. INTRODUCTION

L'observation d'un fragment d'épiderme « interne » du bulbe d'oignon permet de prendre connaissance de l'essentiel de la structure de la cellule végétale.

Le bulbe d'oignon montre, lorsqu'il est coupé verticalement, une tige très courte appelée plateau qui porte un faisceau de racines adventives et des écailles emboîtées les unes dans les autres. Les plus externes sont desséchées, les autres sont gorgées de réserves. Dans l'axe, le bourgeon central est enveloppé d'écailles minces.



2. MATÉRIEL ET RÉACTIFS

Microscope, lames, lamelles, 1 oignon, 1 couteau, pinces fines, 2 verres de montre pour chaque paillasse, solution de rouge neutre à 1g/L (Dissoudre 0,1g de rouge neutre dans 100 ml de tampon phosphate à pH 6,5 : la pénétration du rouge neutre dans les cellules n'est possible qu'à ce pH), solution d'eau iodo-iodurée ou lugol (4g d'iode, 8g de KI dans 1L d'eau distillée), cristalliseur avec eau de Javel pour lames et lamelles usagées

3. PRÉPARATION DES LAMES

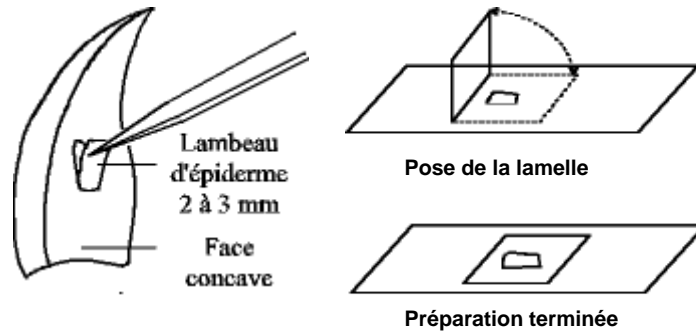
- On prépare simultanément 2 colorants dans 2 verres de montre :

- Rouge neutre
- Solution d'eau iodo-iodurée

- A l'aide de pinces fines, on prélève de petits lambeaux d'épiderme sur la face concave d'une écaille d'oignon. On les place immédiatement dans les solutions colorées (2 ou 3 dans chaque verre de montre).

- Sur une première lame, on dépose 1 goutte de la solution de rouge neutre et on y place 1 ou 2 lambeau. On recouvre d'une lamelle.

- On fait de même avec la 2ème lame et la solution d'iode.



4. Observations (objectifs x10, x40)

4.1. Coloration au rouge neutre (coloration vitale)

Le rouge neutre pénètre dans la cellule sans la tuer : c'est un colorant vital.

- Chercher à l'objectif la plus faible, une image nette de la préparation et placer une cellule au centre du champ du microscope.
- Passer au fort grossissement (400X)
- Dessiner, Mettre un titre et une légende et décrire vos observations : coloration, forme des cellules, présence de vacuoles, noyau et nucléoles, paroi pecto-cellulosique etc.

4.2. Coloration à l'iode (coloration post-vitale)

L'iode tue la cellule en provoquant la coagulation du cytoplasme et du noyau (c'est un fixateur) et en teintant en jaune certains éléments.

Procéder comme dans 4.1

TP 3. ETUDE MICROSCOPIQUE DE CELLULES ANIMALES

1. OBSERVATION DES CELLULES DE FOIE (HÉPATOCYTES)

1.1. GÉNÉRALITÉS

Un matériel pratique pour l'observation microscopique des cellules animales est constitué par le foie frais. On peut utiliser indifféremment du foie de mouton, veau ou poulet. La seule contrainte dont il faut tenir compte est que le foie ne doit pas avoir été congelé.

1.2. MATÉRIEL ET RÉACTIFS

- Morceau de foie, microscopes, lame et lamelles, spatule, papier essuie-tout, glycérol, bleu de méthylène 0,01% (Dissoudre 100 mg de bleu de méthylène en poudre dans 100 mL d'eau distillée).

1.3. MODE OPÉRATOIRE

- Couper un petit morceau de foie et gratter avec une spatule la surface de la section de façon à déposer sur une lame de microscope un échantillon de la taille d'une lentille au maximum.

- Dissocier au mieux les cellules avec la spatule puis recouvrir d'une goutte de bleu de méthylène.

- Laisser agir environ une minute.
- Déposer une goutte de glycérol et bien mélanger avec la spatule.

Le glycérol rend possible l'observation de la préparation pendant une longue durée sans risquer l'évaporation du milieu de montage.

- Poser une lamelle sur l'échantillon et placer l'ensemble sur une feuille de papier essuie-tout.
- Utiliser une autre feuille pour presser fermement sur la lamelle de façon à dissocier les cellules en prenant garde de ne pas casser la lamelle.

Le papier sert à essorer le trop plein de liquide qui s'échappe lors du pressage.

- Essuyer soigneusement la surface de la lamelle et observer au microscope.
- Rechercher les régions de la préparation où les cellules sont dissociées et suffisamment colorées pour faciliter leur observation.

1.4. RÉSULTATS

Dessiner, mettre un titre et une légende et décrivez vos observations :

- Forme et taille des hépatocytes, forme et nombre de noyaux par cellule, présence de nucléole, présence de granulations etc.

2. OBSERVATION DES CELLULES DE L'ÉPITHÉLIUM BUCCAL

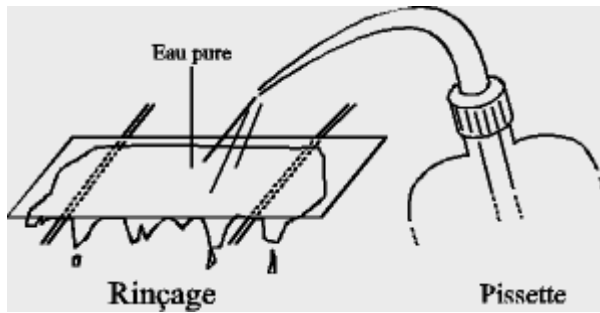
2.1. MATÉRIEL

Microscope, lames, lamelles, hématoxyline-éosine ou bleu de méthylène, pissette avec eau ordinaire, compte gouttes, cuve à coloration, cristalliseur avec eau de Javel pour lames et lamelles usagées, bec Bunsen.

2.2. PRÉLÈVEMENT ET COLORATION

- Se rincer d'abord, la bouche à l'eau
- Frotter avec un doigt propre, la paroi interne de la joue.
- Déposer le produit recueilli sur une lame et la placer sur le support de la cuve à coloration.
- Recouvrir sans attendre avec quelques gouttes d'hématoxyline-éosine ou de bleu de méthylène
- Rincer à l'eau après 5 minutes.
- Avec un papier absorbant, essuyer le dessous et le pourtour de la lame.

- Recouvrir la préparation d'une lamelle et placer la lame sur la platine microscope.



2.3. OBSERVATIONS

Dessiner, mettre un titre et une légende et décrivez vos observations :

Fort grossissement: coloration de différents compartiments cellulaires, présence de granulations, aspect et taille des cellules, aspect de la membrane cellulaire, etc.

Remarques

- Si la préparation est bonne, on peut observer un ou deux grains brillants dans le noyau. Il s'agit des **nucléoles** (ensemble de fibrilles et granules, producteur de ribosomes).
- En réalité, ces cellules constituent un tissu (elles sont jointives). On peut les observer isolées, car au frottement, elles ont été détachées de ce tissu.

Enfin, dresser un tableau récapitulatif des caractères distinctifs morphologiques et structuraux des cellules animales et végétales