

REALISATION DES PRÉPARATIONS

COMMENT RÉALISER DES PRÉPARATIONS

Les “objets” ou “exemplaires” observés au microscope doivent être préparés correctement pour l’observation, chacun selon sa nature. Il y a différentes manières de faire une préparation. Généralement, elles se divisent de la manière suivante:

- Montage complet
- Montage de poudre
- Montage d’une goutte suspendue e
- Préparation de la cendre
- Montage d’une section
- Montage d’un trait
- Préparation à estamper

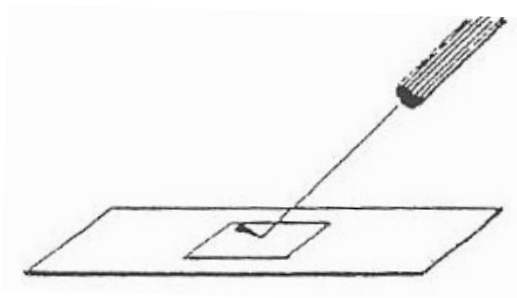
Vous trouverez ci-dessous cas par cas les explications de ces différentes méthodes. De plus il y a aussi des montages temporaires ou permanents.

Si nous souhaitons conserver une exemplaire ou un échantillon pour d’autres occasions, nous devons réaliser une montage permanent, tandis que pour une étude unique et momentanée le montage temporaire sera suffisant.

MONTAGE TEMPORAIRE

Ce type de montage est généralement réalisé en mettant l’exemplaire sur une goutte d’eau ou une solution a 30% de glycérine ou bien encore sur un liquide alcalin sur la lame porte objet. Il faut faire attention à ce que le verre soit propre et sec.

A l’aide d’un compte gouttes, mettez une goutte d’eau ou de glycérine sur le verre porte préparation. Posez avec délicatesse l’échantillon sur la goutte et posez par dessus le verre couvre objet, en l’appuyant sur un côté puis en l’accompagnant délicatement sur le liquide, en faisant attention à ce qu’il ne se forme pas de bulles d’air.



Application d'un couvre objets avec une aiguille

MONTAGE PERMANENT

Les montages permanents servent à conserver la préparation durant un certain temps, afin de pouvoir réaliser différentes observations. En réalisant bien la préparation, celle-ci peut être conservée de nombreuses années.

MONTAGE AVEC DU BAUME DU CANADA

1. Collecte de l'exemplaire

Les petits objets ou plantes se collectent comme organismes entiers ou en parties, cela dépend des cas, ils se conservent dans une solution d'alcool à 70%, ou dans du formol à 7%. Pour les microorganismes comme les bactéries ou les levures, il est nécessaire de préparer une culture. Les objets très petits comme les protozoaires, les algues, le moisi ou les chromosomes doivent être préparés avant d'être conservés.

2. Préparation des exemplaires

La taille des objets à observer doit se déterminer en considérant les limites et les besoins de la préparation et du montage.

Les cellules d'objets délicats comme les algues, les chromosomes du moisi, les plantes fragiles ou les tissus d'une provenance animale doivent être durcis en les submergeant dans un liquide spécifique appelé fixateur.

L'objet doit être submergé dans le fixateur pendant une nuit, puis il faut le rincer avec de l'eau claire pendant une heure. Ensuite, si vous le souhaitez, l'objet peut être conservé dans une solution d'alcool.

3. Coloration

La coloration de l'objet doit se réaliser de la manière suivante: nettoyer avec délicatesse l'objet avec de l'eau; submergez le dans un colorant pendant un temps variable selon l'objet; entre cinq et dix minutes dans un colorant acide et entre une et dix minutes dans un colorant basique. Puis rincez une autre fois avec de l'eau. Pour une préparation temporaire la coloration réalisée permet une observation directe de la préparation, tandis que pour une préparation permanente la préparation doit être complètement sèche avant d'être montée.

4. Coloration de contraste

Pour obtenir une coloration de contraste il faut utiliser le mode testé, avec un colorant basique. Submergez l'objet dans un mélange de 70% d'alcool et de 0,50 à 1% d'acide. Le colorant restera seulement dans le noyau et dans le xylème. Submergez l'objet dans l'eau légèrement alcaline puis rincer le. Utilisez un colorant acide; les tissus et les cellules deviendront rouges, verts ou bleus, ce qui facilitera l'observation.

5. Déshydratation

Avant de monter un échantillon, il faut éliminer complètement l'humidité intérieure. Pour faire une déshydratation correcte, il faut préparer une série de solution d'alcool, avec le pourcentage d'alcool croissant, en commençant très bas jusqu'à arriver à 100%. Puis submergez le pendant 5 minutes dans de l'acétone, liquide épurateur, et monter la préparation immédiatement.

Rappelez vous que le temps d'immersion varie selon un objet ou un autre. La meilleure manière de réaliser cette opération est de verser les solutions avec un compte-goutte sur l'échantillon sur un verre de montre, en changeant les solutions toutes les cinq minutes. Il est conseillé de changer deux fois l'alcool à 100%. L'alcool qui reste peut être utilisé pour la conservation d'autres échantillons.

Si après avoir submergé l'objet dans l'acétone, celui-ci ne prend pas un ton clair, la déshydratation n'a pas été complète. Submergez le alors une autre fois dans de l'alcool à 100%. La préparation prendra un ton clair seulement si vous l'avez submergé dans de l'acétone une fois complètement sèche.

6. Montage avec le baume

L'objet se monte sur le verre porte préparation avec le baume de Canada. Nettoyez avec délicatesse le verre de la poussière. Faites tomber une goutte assez grande de baume sur le centre du porte préparation avec un compte-gouttes puis placer l'échantillon. En utilisant les pinces, mettez au centre de la goutte avec la préparation un verre couvre objet, que vous aurez au préalable trempé dans de l'alcool et bien nettoyé. Veillez à ce qu'il ne se forme pas de bulles d'air et que le verre couvre objet soit bien centré. Rappelez vous que si le baume est trop dense, il faut le diluer dans de l'acétone. Utilisez une tige en verre pour mettre une goutte de baume dilué sur le porte préparation.

Si après avoir mis le couvre objet, le baume est encore trop dense, il se ramollira en chauffant le verre porte préparation, et le couvre objet pourra être placé facilement.

7. La finition

Collez une étiquette avec les informations nécessaires (numéro, nature de l'objet, date, etc....) sur le côté du porte préparation. Laissez le tout reposer durant 24 heures, pour que le baume réalise sa fontion. Retirez avec une lame ou un chiffon humidifié dans de l'acétone le baume dépassant des bords du couvre objet. Placez la préparation dans un coffret prévu à cet effet en position verticale.

MONTAGE AVEC N.B. GUM MEDIA

En utilisant le N.B. Gum Media avec de l'eau, vous pouvez préparer facilement des préparations sans avoir besoin de passer par la phase de fixation, déshydratation, nettoyage et positionnement. A l'aide d'une tige en verre, mettez une goutte de cette préparation sur le porte préparation. Puis, à l'aide d'une pince ou d'un compte gouttes, placez l'objet en question sur le fluide. Couvrez le et appuyez légèrement sur le couvre objet. Collez l'étiquette d'identification et laissez reposer 48 heures. Lorsque la préparation est sèche. Elle sera prête pour l'observation au microscope. En utilisant cette méthode, vous pouvez monter directement et de manière permanente, des créatures vivantes ou objets dans de l'eau ou préservés dans le l'alcool à 70%. Il n'est pas nécessaire de faire une préparation spéciale, l'échantillon contient tous les agents nécessaires pour fixer, endormir et nettoyer les objets. C'est simple et facile; c'est utilisé au quotidien pour la recherche scientifique, dans les écoles et dans les universités.

LA CONSERVATION

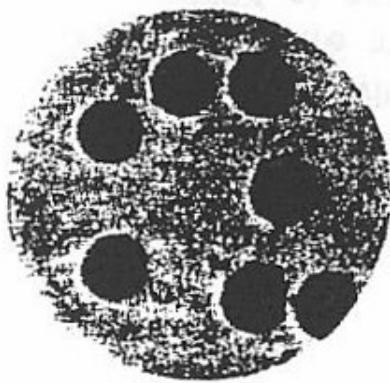
Les exemplaires à conserver doivent être gardés dans un récipient fermé qui contient une solution d'alcool à 70%. Pour déplacer des objets de petite taille, utilisez un compte goutte.

EXPERIENCES

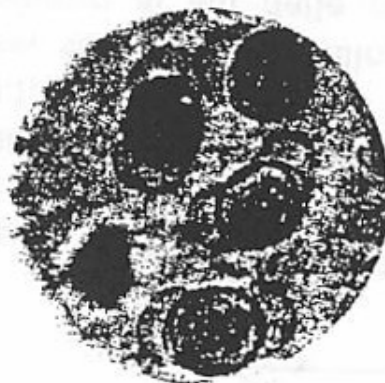
1. ETUDE DU POLLEN

Observation: Procurez vous des grains de pollen en mettant une étamine sur un verre porte préparation, ou bien en frottant l'anthere avec des pincettes. Le couvre objet n'est pas obligatoire, mais si vous l'utilisez, vous devez mettre en dessous une teinture d'iode diluée, pour mieux observer l'intérieur du pollen.

En observant le pollen avec de l'eau, vous verrez comme il gonfle jusqu'à ce que la membrane cellulaire explose. En particulier, le pollen de courgette qui explose comme une bombe. De tout manière, vous maintiendrez les conditions naturelles en utilisant une solution de glucose à 2%, à la place de l'eau.



Pollen de courgette



Pollen de pin



Pollen d'ambrosie

1.1 Pollen de courgette 400x

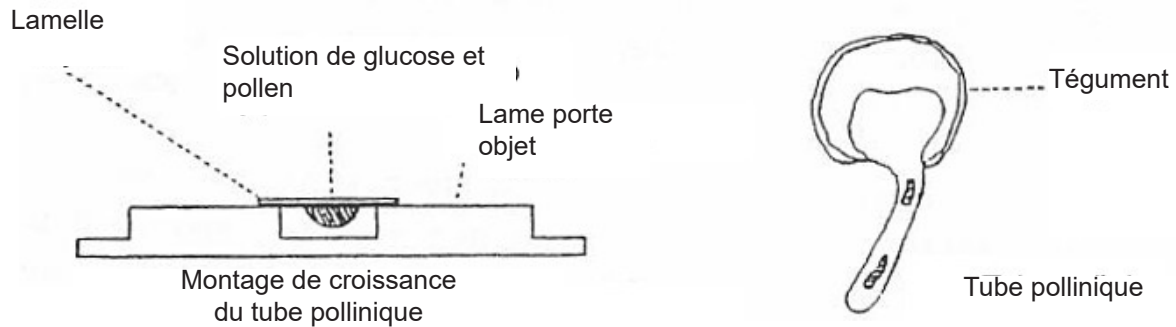
Lorsqu'une abeille s'est posée sur la corolle d'une fleur de courgette, elle se retrouve avec les pattes recouvertes d'un pollen jaune et collant, qui provient de la pointe du pistil. Les fleurs dont le pollen est transporté par les insectes sont appelés Entomophile. Observez sur la superficie du pollen de courgette les épines emmêlées qui s'accrochent aux pattes des insectes pour que le pollen soit transporté de fleur en fleur.

1.2 Pollen de pin 600x

Le pollen de pin est le typique pollen transporté par le vent. La vraie structure de ce pollen se trouve dans son centre : sur les côtés il y a des poches d'air qui fonctionnent comme les ailes lorsque le pollen est transporté par le vent. Le pollen d'ambrosie est une petite boule épineuse qui peut irriter les yeux. Les fleurs dont le pollen est transporté par le vent s'appellent Anémophiles.

1.3 Le tube pollinique

Le pollen est transporté d'une plante à une autre par le vent ou par les insectes. Lorsqu'un grain de pollen arrive sur la fleur d'une autre plante de la même espèce, le grain est alors absorbé par l'organe reproducteur féminin de la fleur, celui-ci s'ouvre et une protubérance commence à pousser en forme de tube qui traverse les tissus de la plante jusqu'à ce que la fécondation se réalise.



Prenez une fleur et frottez le stigmate (extrémité du pistil) sur le verre porte préparation. En l'observant au microscope vous verrez le tube pollinique qui envahi le tissu du pistil. Vous pouvez également étudier le phénomène intéressant de la croissance d'un tube pollinique à la maison. Mettez une goutte de solution de glucose à 3-15% sur le couvre objet. Répandre sur la solution quelques grains de pollen de l'anthere d'une fleur. Tournez délicatement le couvre objet pour l'appuyer et le coller sur un verre porte préparation ayant une cavité. Sellez les bords avec de la vaseline, pour que la solution de glucose ne s'évapore pas. Cette méthode de montage s'appelle a goutte pendante. Au bout de 24 heures vous pourrez observer l'apparition du tube pollinique.

2. ETUDE DES SPORES DE FOUGÈRE

Les spores de fougères sont contenues dans des poches appelées sporanges. Les fougères n'ont pas de fleur, mais elles se reproduisent grâce à leurs spores. Lorsque les spores sont mûres, les sporanges s'ouvrent en les libérant. Répandez des spores de fougère sur un morceau de bois humidifié avec la fibre en position verticale, et placez le dans un bac plein d'eau : au bout d'un mois la superficie du bois sera de couleur vert à cause de la croissance des petites fourgères. En l'observant au microscope vous pourrez voir le développement des fougères.

Au bout de deux ou trois mois il apparaîtra le prothalle (gamétophyte de vie libre), en forme de lames vertes.



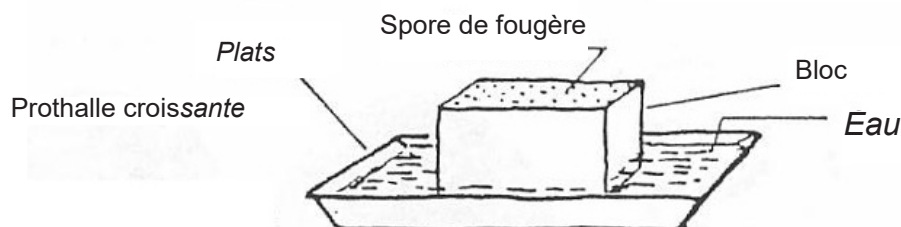
Sori sur le dessous d'une feuille de fougère



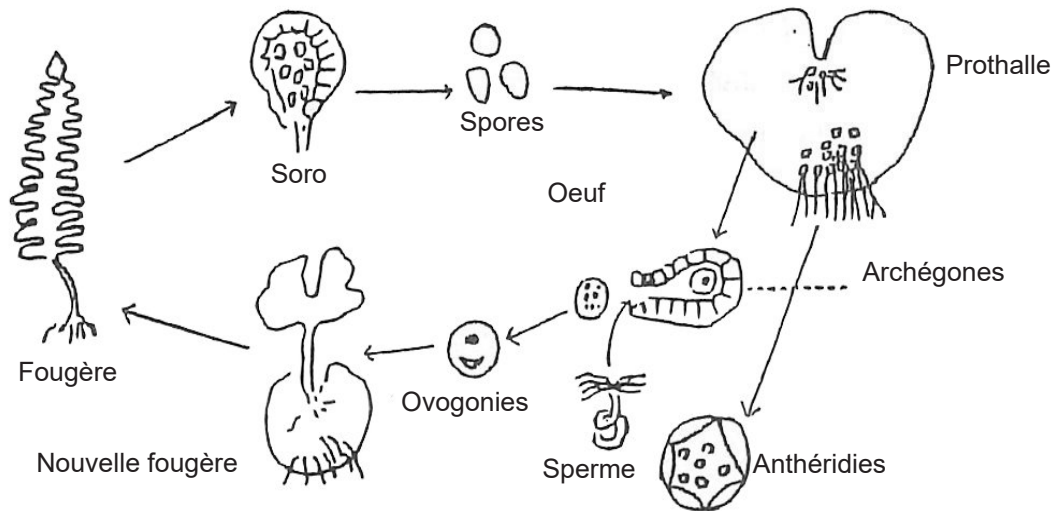
Section d'un soro



Spores d'un soro



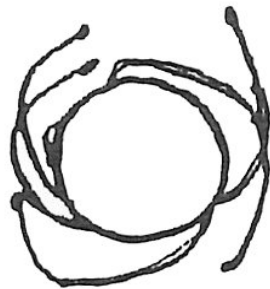
En observant à 600x vous verrez sur les côtés des protubérances rondes et elliptiques, les premières appelées archégones qui contiennent les cellules de l'oeuf (oosphère); et les secondes appelées anthéridies, qui contiennent les spermatozoïdes. Si vous observez les anthéridies au microscope vous verrez que les spermatozoïdes sortent de l'eau en nageant rapidement en cercle. Lorsqu'un spermatozoïde arrive à l'oosphère il se fertilise, en transformant le prothalle en une nouvelle fougère.



Le cycle de vie d'une fougère

3. ETUDE DE LA PRÊLE

La prêle est une plante qui ressemble à une fougère. Du corps de la prêle surgissent différents types de colonnes, sur lesquelles se trouvent les sporanges, avec les spores. En observant au microscope vous verrez une boule entourée de quatre appendices filamenteuses. Si nous respirons sur l'échantillon qui se trouve sur le porte préparation (sans le couvrir), nous verrons comment les appendices s'éparpillent. La même chose que sur les fougères, les spores naissent des prothalles.



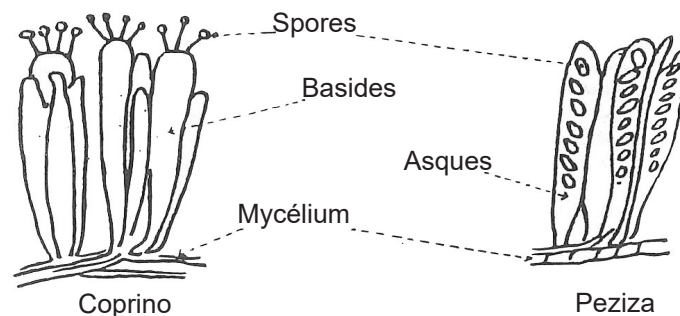
Annexes Etendu



Annexes de recueillir

4. LES SPORES DU CHAMPIGNON

Como los helechos y los equisetos, los hongos no tienen flores pero se reproducen sembrando esporas. Para observar las esporas de un hongo, cortar por ejemplo una parte del sombrerillo de una especie cualquiera para obtener una laminilla, donde encontraremos la estructura que soporta las esporas. Colocar una laminilla fina sobre el porta preparados y aplastarla ligeramente con el dorso de un bisturí, cubrirlo y observarlo; se verán a los lados del cuerpo formado por el micelio, tres o cuatro esporas en el extremo de una larga célula.



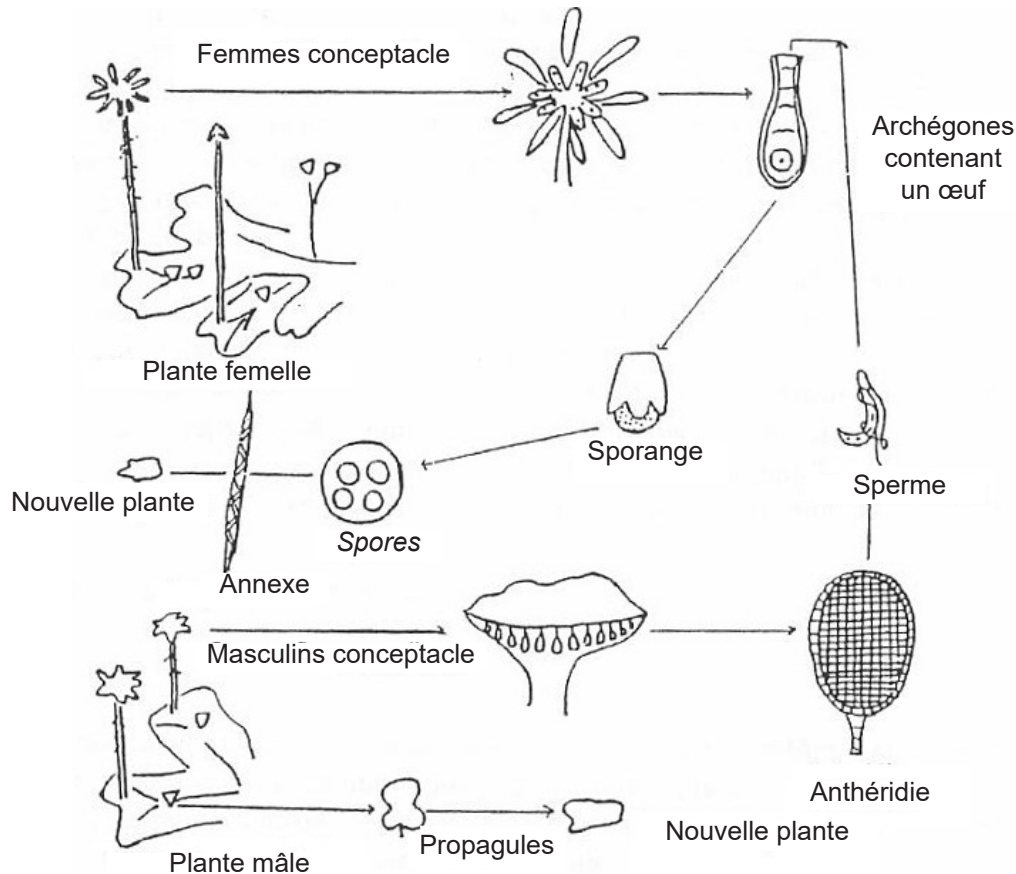
Coprino

Peziza

Mettez le chapeau d'un champignon sur une feuille de papier noir, et laissez le toute une nuit; vous découvrirez la grande quantité de spore qui s'est libéré en une seule nuit. Sur la superficie d'un champignon ascomycète il y a une cellule longue en forme de poche qui contient les spores. Coupez une section longitudinale très fine en forme de lamelle, et préparez une préparation. Vous pourrez voir parfaitement les spores.

5. ETUDE DE L'HÉPATIQUE

L'hépatique est une plante très commune dans les zones humides et à l'ombre.



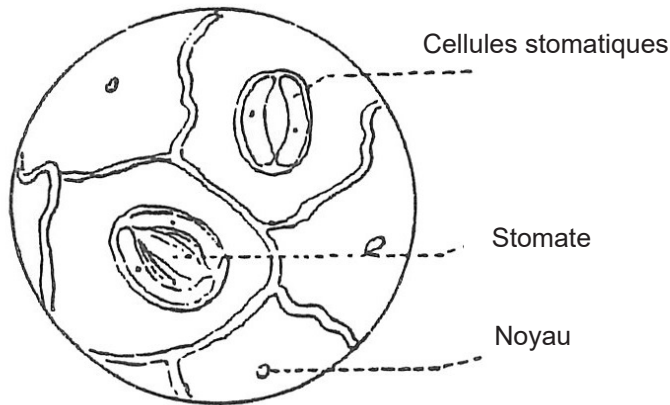
La plante féminine a une structure pédonculée appelée archégone qui contient l'archégone avec l'œuf, tandis que la plante masculine a une structure appelée anthéridie, qui contient le sperme. Sur la surface des thalles des plantes de chaque sexe, il pousse un réceptacle que contient les propagules, grâce aux quels la plante se reproduit asexuellement par germination.

Prenez une partie de la plante avec les pinces, mettez la sur le verre porte préparation et observez la. Sur la partie supérieure de la structure féminine vous y verrez l'archégone, qui ressemble à un petit sac. En utilisant la lentille de grossissement placez la sur un verre porte préparation et étudiez la attentivement. Dans le fond il y a une cellule œuf. Celle-ci sera fertilisée par le sperme qui arrivera jusqu'à elle en nageant dans l'eau et en traversant la longue et étroite bouche de l'archégone qui se transformera en sporange.

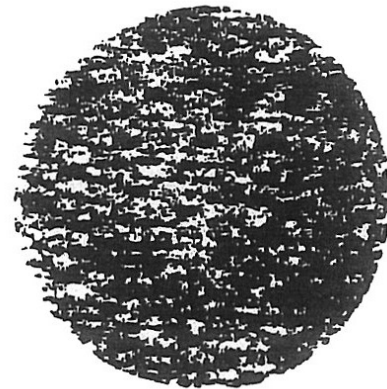
Répétez l'opération dans l'anthéridie (structure masculine). Vous verrez un objet en forme de raquette de tennis, dans lequel se forme le sperme. Il sera peut être difficile de voir le sperme, mais en observant beaucoup d'anthéridies vous pouvez y arriver. Dans un archégone de couleur jaune le sporange est déjà formé : enlevez la partie jaune et examinez la au microscope. Vous y verrez une spore ronde d'où sort un appendice filamenteux. A l'aide d'une très fine section de thalle et d'un microtome vous verrez un espace plein d'air et un stigmate.

6. LES STOMATES

Nous avons comparé la feuille d'une plante à une usine qui produit les sucres et les amidons pour la transformation de simples matières premières, comme l'eau et l'anhydride carbonique de l'air. Dans l'épiderme d'une feuille il existe des ouvertures, les stomates (qui veut dire « bouches »), qui contrôlent le passage de matières de l'extérieur à l'intérieur de la feuille. Pour voir ces stomates, prenez une feuille de pomme de terre, d'haricot ou similaire. Il y a beaucoup plus de stomates sur la partie inférieure de la feuille. Décollez délicatement la pellicule transparente de la l'épiderme, et examinez la au microscope sur un verre porte préparation. Vous verrez de nombreux pores, entourés par une cellule occlusive, en forme de deux demies lunes. Ces cellules en se contractant, ouvrent et ferment les stomates, en réglant de cette manière le passage des matières.



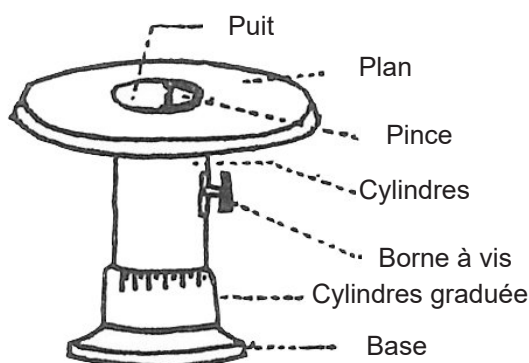
Stomates sur l'épiderme d'une feuille



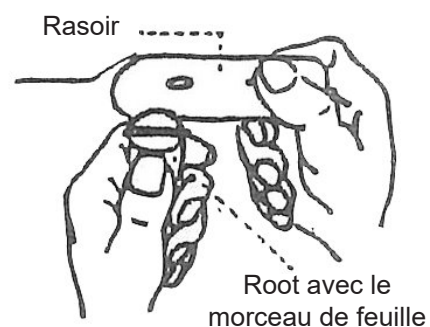
Epiderme d'une feuille avec stomates de l'iris

7. STRUCTURE DE LA FEUILLE

La superficie supérieure d'une feuille est enveloppée d'une pellicule d'épiderme sous le quel se trouve le tissu formé par plusieurs couches de cellules cylindriques ordonnées, appelées parenchyme ou couche palissade. Sur la partie inférieure de la feuille, les cellules sont disposées de manières irrégulières, en laissant beaucoup de lacunes. Dans les cellules des parenchymes il y a les chloroplastes. Au centre de la feuille il y a les nervures, qui emmènent à la feuille l'eau et les aliments, et récupèrent les amidons et les sucres. Pour observer une section de feuille résistante comme celle du camélia, du peuplier ou les aiguilles du pin, insérez la sur une coupe faite par exemple sur une carotte. Mettez la carotte dans un microtome. Cet appareil sert à couper des sections fines de tissus d'origine animale ou végétale, pour les examiner ensuite au microscope.



Microtome a main



Qui ne peut pas avoir un microtome coupé à la main avec une lame de rasoir

En coupant la carotte horizontalement tout au long du plat du microtome avec une lame, vous pourrez obtenir une très fine section de l'exemplaire. Assurez vous que la section soit réellement très fine.

Observez cette section au microscope, puis submergez la dans de la safranine pendant quelques minutes afin de l'éclaircir. Puis, submergez la immédiatement dans de l'alcool acide (à 70%) et dans de l'acide chlorhydrique (1%) qui absorbera la couleur superflue. Les vaisseaux de la feuille absorberont la safranine et les autres tissus comme la parenchyme ressortiront. Rincez ensuite la feuille afin d'éliminer l'acide, submergez la dans du colorant vert ou de l'hématoxyline pendant quelques minutes, puis rincez à nouveau. La feuille sera magnifiquement teintée avec des parties rouges et d'autres tissus en vert ou violet. Une section de feuille bien teintée est digne d'être montée en préparation permanente.