



# **LE LABO FACILE**

***GUIDE PRATIQUE DES TECHNIQUES DE LABORATOIRE***

***POUR LES ENCADRANTS***

***FORMATEURS EN BIOLOGIE MARINE***

**Laurence GAUTIER**

## SOMMAIRE

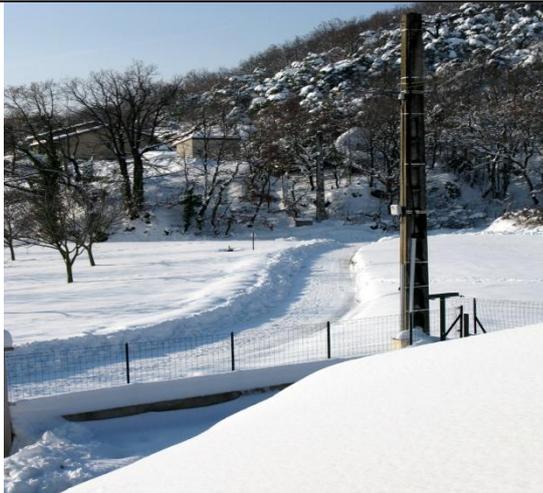
<b>LE LABO POUR QUOI ?</b>	<b>03</b>
<b>LE LABO POUR QUI ?</b>	<b>05</b>
<b>LES PRELEVEMENTS</b>	<b>06</b>
- Réglementation	06
- Quelques sujets d'intérêts	07
o Débutants	07
o Plongeurs initiés	07
- <b>Conseils et astuces</b>	<b>07</b>
Conseils de conservation	
- Le filet à papillon	08
- le filet à plancton	08
<b>PREMIER APERCU SUR LE MATERIEL</b>	<b>11</b>
o Les Loupes	11
o La Loupe binoculaire	11
o Le Microscope	12
o Calculer les grossissements	12
o <b>Conseils et astuces</b>	<b>13</b>
Un matériel sensible	
Une séance réussie	
<b>LA MALLETTE DU PLONGEUR EN LABORATOIRE</b>	<b>14</b>
o Matériel complémentaire et consommables	14
o Produits	15
o <b>Conseils et astuces</b>	<b>15</b>
S'équiper à petit prix	
<b>ORGANISER SON LABORATOIRE</b>	<b>16</b>
o Le choix du lieu	16
o Les zones	16
o Les consignes	18
o <b>Conseils et astuces</b>	<b>18</b>
Le rangement fonctionnel du matériel	
<b>UTILISER LE MATERIEL OPTIQUE</b>	<b>19</b>
o La loupe binoculaire	19
o Le microscope	20
<b>QUELQUES TECHNIQUES GENERALES DE PREPARATION</b>	<b>21</b>
o Isoler des organismes sans les léser	21
o Immobiliser les organismes	21

○ Préparer des lames	21
○ Colorer et révéler	22
○ Conserver ses préparations	22
○ L'aquarium	23
○ <b>Conseils et astuces</b>	<b>23</b>
<b>FICHES TECHNIQUES DE MANIPULATIONS SIMPLES</b>	<b>24</b>
○ 1 - Radula de patelle	24
○ 2 - Observation des hydraires	25
○ 3 - Observation des bryozoaires	26
○ 4 - Spicules d'éponge	27
○ 5 - Algues, cellules et pigments	28
○ 6 - Chromatographie de pigments chlorophylliens	29
○ 7 - Observation des oursins	30
○ 8 - Reproduction des oursins	31
○ 9 - Observation du sable	32
○ 10 - Branchies de moule ou d'huitre	33
○ 11 - Organismes planctoniques	34
○ 12 – Foraminifères	35
○ 13 - Ecailles de poissons et otolithes	36
<b>LES TECHNIQUES DERIVEES DU LABORATOIRE</b>	<b>37</b>
- Prendre des photographies et les traiter	37
- Prendre des vidéo et les traiter	38
- Et si tout le monde participait ?	39
- Mesurer des organismes ou des échantillons	40
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>42</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>43</b>
- Exemple de fiche d'inventaire de caisse de rangement	44
- Consignes pour une séance de laboratoire	45
- Fiche d'utilisation d'une loupe binoculaire	46
- Fiche d'utilisation d'un microscope	48
- Liste des produits et de leur utilisation	50
- Tutoriel de traitement de vidéo (VIRTUAL DUB)	53
- Tutoriel de mesure d'échantillons (IMAGEJ)	57
<b>REMERCIEMENTS</b>	

## LE LABORATOIRE POUR QUOI ?

Quoi de plus contradictoire qu'un plongeur enfermé dans une salle ? Lui qui rêve de bateau fendant les vagues, de descentes dans le grand bleu, d'explorations dans l'immensité des dimensions marines. Alors il doit falloir être bien motivé (ou méritant) pour accepter d'aller s'enfermer dans des salles pour des journées entières. Mais qu'est-ce qui peut transformer notre *Aqua palmicus* en étudiant studieux ?

Voilà quelques bonnes raisons qui peuvent pousser un plongeur à déposer son sac pour aller s'enfermer entre 4 murs .



C'est l'hiver, morte saison pour la plupart des clubs. Toutefois certains passionnés veulent faire vivre le club, promouvoir la vie sous-marine. Alors, après avoir écumé les aquariums, arpenté les plages en quête de « laisses de mer », on se laisse convaincre que même sans combinaison on pourra découvrir des secrets de la vie sous-marine

Week-end à l'eau, la météo nous boude, on avait prévu les plongées, le bateau reste à quai, pas un site de repli en vue, et cela ne sert à rien de se pencher sur les prévisions des jours à venir.  
Nous n'avons pas fait tout ce chemin pour rien, nous ne sommes pas plongeur pour rien, nous forcerons le destin en plongeant dans le laboratoire



Overdose de technique, certains nous ont parlé de plonger « intelligent ». Sur les bateaux de plongée, je vois des plongeurs qui remontent toujours avec de grands sourires et qui ont toujours vu des tas de chose. Même dans les plongées les plus « nulles », là où tout le monde refait surface la mine défaite : « bof ça valait vraiment pas le coup, de l'herbe à faucher, du sable à ratisser .. », certains auraient-ils la baraka ou tout simplement un autre regard ?

Le premier pas est franchi, me voilà inscrit dans un stage de formation en environnement et biologie subaquatiques. Le monde végétal et animal marins commence doucement à s'ouvrir à moi avec ses multiples facettes et ses logiques toute particulières. On me parle embranchements, organisation de la vie marine, classification des petites bestioles...  
Approchons nous pour mieux comprendre.



J'ai sauté le pas, de curieux je veux comprendre comment tout cela fonctionne, attention la passion n'est pas loin qui nous guette et nous entrainera dieu sait où... Je pousse les portes des week-end à thèmes (végétaux, spongiaires, cnidaires, Mollusques, Coralligène...). Les Commissions Environnement et Biologie Subaquatiques déploient leurs charmes ou font résonner leurs services marketing. Trop tard ! je suis inscrit sur les listes de diffusion et les propositions s'enchainent sur le département, la région, le national...

Là carrément je me demande si je ne me suis pas loupé. Un temps radieux, une mer à se pâmer, et je viens juste de m'inscrire à un stage plancton !

2 malheureuses plongées pour le week-end, et le reste du temps penché sur le microscope.

Tiens, il ya tant de monde que ça dans une goutte d'eau, et ça ce sont les larves dont j'entends si souvent parler ? mais c'est que ça grouille, et on avale tout ça quand on boit une tasse ? moi qui complétais un régime minceur en plongeant dans les eaux fraîches !



*Et voilà aussi comment on se retrouve à écrire un guide pour le petit laboratoire nomade des plongeurs*

## LE LABO POUR QUI ?

***L'intérêt du laboratoire, c'est l'étude du monde vivant à une échelle réduite.***

### ***Nous les plongeurs***

Si on y réfléchit bien, le laboratoire est finalement capable d'intéresser tous les plongeurs curieux de la vie sous-marine : Les sujets d'intérêt sont nombreux, d'étonnement et de curiosité encore plus.

- Comprendre la notion de colonies d'animaux chez les gorgones ou les alcyons, la vision des polypes, la morphologie de l'oursin avec ses podia et ses pédicellaires, les crustacés tels les caprelles....
- On pourra y observer la balane en train de chasser à l'aide de ses cirrhes, les polypes des hydroides pulser, les lophophores des bryozoaires.
- Avec plus de chance et un animateur plus expérimenté, les plongeurs pourront même comprendre le phénomène de filtration par les branchies des bivalves, suivre la reproduction chez les oursins.

De simple curieux, le plongeur se retrouve en train de s'interroger sur tous ces organismes qui constituent la chaîne alimentaire indispensable au bon équilibre du milieu marin.

Le laboratoire peut compléter un week-end en développant le sujet abordé sous une approche originale du monde du petit, bref contribuer à enrichir un week-end à thème, ou faire partie intégrante d'un module de formation.

Enfin, il peut constituer un objectif en soi pour des passionnés qui voudraient développer cette approche oh combien passionnante.



### **Et nous les encadrants et organisateurs?**

Pendant longtemps, j'ai pensé, comme nombre d'entre vous, que le laboratoire était affaire de spécialistes. Réservé aux anciens biologistes ou ex étudiants en sciences, à défaut s'abstenir !

Outre les compétences nécessaires que je surestimaient, il y avait tout l'aspect technique et matériel de l'équipement d'un laboratoire (aridité des techniques, difficulté d'approvisionnement, coût..)

J'espère que ce document vous convaincra que tout ceci est à la portée de n'importe quel encadrant en biologie manifestant un peu de curiosité !

# LES PRELEVEMENTS

## 1 - Réglementation

### ***Rappelons que la pêche en plongée scaphandre est interdite.***

Ceci sous-entend que des autorisations administratives devront être obtenues avant d'effectuer en bouteilles des prélèvements dans le milieu naturel.

- Soit vous avez la caution d'un scientifique présent sur le bateau et apte à répondre à tout contrôle, et à présenter tout papier conforme,
- Sinon sachez que les autorisations sont très difficiles à obtenir, inutile de perdre du temps de ce côté-là.

Il faudra donc se débrouiller pour que les échantillons soient effectués en dehors des plongées. Nous relèverons dans ce cadre des activités répondant à la réglementation sur la pêche ou la collecte.

### **Quelques moyens pour collecter des échantillons**

- Une simple ballade à pied le long de l'estran pourra apporter déjà beaucoup de sujets d'observation, avec un peu de connaissances et de curiosité.
- Rien n'empêche sinon de prélever en PMT et en apnée, le long d'enrochements ou de piliers, tout en respectant les réglementations locales en vigueur (canal, sortie de port...)
- On peut collecter du matériel dans les « laisses de mer »
- On peut solliciter des pêcheurs (vers...)
- Rien n'empêche de faire un tour chez le poissonnier (moules, huitres, poissons...)



### ***Rappelons qu'il existe des espèces protégées, menacées ou en voie d'extinction, qu'il faudra s'interdire de collecter***

Enfin, il existe des réglementations nationales ou locales sur certaines espèces autorisées à la pêche (taille autorisée, périodes, quantités autorisées, permis, marquage...). De toute façon, dans notre cas, la plupart du temps, il ne s'agit pas de prélever des espèces commercialisables, ni de revendre le produit de notre récolte ! Vous choisirez de préférence des espèces abondantes et à fort pouvoir de régénération, et prélèverez des échantillonnages raisonnables.

**Soyez raisonnables dans vos prélèvements**, ne gaspillez pas la ressource, ne rapportez au laboratoire que la quantité strictement nécessaire ; les produits de la mer se conservent mal, surtout en cas de fortes chaleurs.

## QUEQUES SUJETS D'INTERETS

### *Avec des débutants*

**On privilégiera les sujets observables à la loupe et à la loupe binoculaire** tels :

- les végétaux : les cellules, la mise en évidence des chloroplastes, les articulations calcaires, les colonisateurs des végétaux
- les spongiaires et leurs oscules, voire la texture de certains
- Les hydraires et les cnidaires (gorgone, alcyon...), leurs différents polypes, les colonies, les soles pédieuses
- Les oursins, articulations des piquants, podia, pédicellaires, leur anatomie
- les mollusques fixés, leurs opercules, les modes de reptation, les radula, leur anatomie...
- Planaires, annélides et nudibranches
- les arthropodes et leurs mues, les petits arthropodes tels caprelles, idothées, nymphons, pycnogonides, ...
- Les balanes et leurs techniques de capture de proie
- Les bryozoaires et leurs lophophores
- Les ascidies et leurs stolons, les ascidies coloniales
- Chez les poissons, les écailles et les otolithes

### *Avec des plongeurs initiés*

**On pourra utiliser soit la loupe binoculaire, soit le microscope**

- Le sable et ses composants, tels les foraminifères, les piquants d'oursin...
- Les différents vers
- La circulation intracellulaire chez les végétaux, les organismes translucides
- La circulation dans les branchies des bivalves
- Les spicules chez les éponges, et autres organismes
- Le plancton avec phytoplancton et zooplancton, et les diverses larves
- La reproduction chez les oursins ...

### **CONSEILS ET ASTUCES**

#### **Conseils de conservation**

Les produits de la mer sont très sensibles à la chaleur, et à l'assèchement. On veillera donc à emporter des contenants relativement importants pour que nos prélèvements aient suffisamment d'eau de mer. L'excédent d'eau de mer permettra de les reconditionner si nécessaire.

Enfin, il peut être utile de disposer d'une glacière qui permettra de les mettre à l'abri de la chaleur (et de la lumière) durant le temps du transport.

Un passage par la case réfrigérateur peut s'avérer pertinent, surtout si l'on n'utilise pas les échantillons immédiatement.

La conservation courte en eau de mer :

On peut aussi prévoir la mise en eau d'un aquarium afin d'observer des espèces, les conserver un temps (48h maximum) tout en les oxygénant (cf. rubrique aquarium).

## LE FILET A PAPILLON – L'ÉPUISETTE DE COMMERCE

Une solution peu onéreuse consiste en l'utilisation d'un filet à papillon à maille fine.

- Utilisé dans un fond d'eau peu profonde, il pourra peut-être permettre la capture de petits organismes de type crustacés, mollusques...
- Utilisé de nuit avec un faisceau de lampe, il permettra la capture d'espèces planctoniques nocturnes.
- Utilisé en plongée au dessus de l'herbier de posidonie, vous capturerez les espèces vivants dans l'herbier, surtout des juvéniles qui vous permettront de mettre en évidence la fonction de nurserie de l'herbier. (faire une soixantaine de passages et récupérer soigneusement le contenu du filet en le vidant dans un bocal avant le retour au bateau. Trier les débris des organismes à sélectionner.
- Une épuisette (de préférence à bord plat) dont le fond sera doublé d'un voile de rideaux, passée en raclant un fond sableux, vous permettra la capture de crustacés et peut-être même d'amphioxus si la granulométrie du sable favorise son habitat. A tester de jour et de nuit.

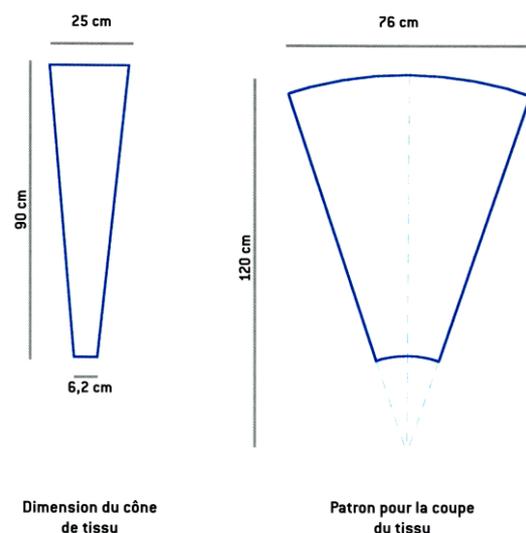


## LE FILET A PLANCTON

Il peut être fabriqué à peu de frais, simplement avec un cône de tissu.

### Matériel nécessaire :

- Mousseline de rideau, (tissu synthétique, maille de l'ordre de 20 à 30 micromètres) ou toile à bluter N° 17 (plus difficile à se procurer)
- De la colle cyanolithe pour coller les bords du filet entre eux
- Un cerclage soit en PVC soit en fer suffisamment rigide
- Des cordelettes de nylon (diamètre 2 mm ou plus selon la grosseur du filet)
- Un plomb pour alourdir le filet
- Un récipient pour l'extrémité inférieure : bouteille plastique coupée, système fabriqué en PVC avec ouverture pour vider le filet



## Fabrication

- Découper un cône dans le tissu
- Coller les bords du cône sur la longueur
- En haut retourner le filet et le coller sur le cerclage
- Fixer sur le cercle en 3 points espacés régulièrement 3 cordelettes
- Fixer un plomb sur un des bords du filet, soit à l'extrémité de la cordelette
- A l'extrémité inférieure, fixer un réservoir que l'on peut soit désolidariser (clippage), soit muni d'une ouverture à l'extrémité inférieure (bouchon ou tuyau d'évacuation (cf. Illustration ci-dessous)
- fixer un bout pour tracter le filet (environ 15 à 20m)



## Exemples de divers dispositifs de fixation inférieure (bricolage fait maison)



Système simplissime



Bricolage en PVC



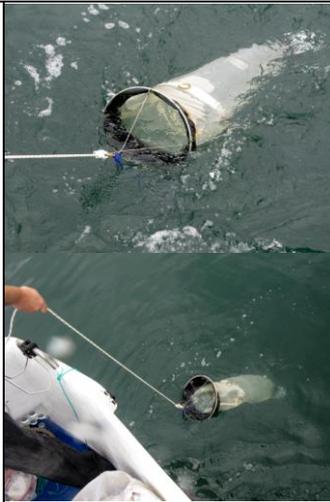
Flacon avec collier de serrage



bricolage d'un robinet sur flacon plastique

### Récolte du Plancton

- Lancer le filet à l'eau (attention à l'hélice du moteur)
  - Le laisser s'immerger grâce au poids
  - Le tracter durant 10 à 15 mn selon la richesse des eaux (vérifier l'immersion)
  - Conserver une vitesse modérée durant la durée du tractage (1 à 2 nœuds)
  - Le récupérer par le haut du filet (moteur au point mort)



- Sur le pont, rincer le filet à l'aide d'une pissette pour faire couler tous les organismes dans le réservoir du fond
- Transvaser dans un flacon bien bouché complété d'eau de mer
- Etiqueter les échantillons (date, lieu, type de filet et maille..)



## CONSEILS ET ASTUCES

### Récolte du plancton

- Le plancton remonte la nuit et redescend le jour → la nécessité d'immerger le filet suffisamment en le lestant suffisamment et en adaptant la vitesse de tractage (lente de 1 à 2 nœuds).
- Une récolte de jour donnera des résultats très différents d'une récolte de nuit.
- Les récoltes sont aussi très différentes selon les saisons et les gradients de température.
- N'oubliez pas que les nuits de pleine lune permettront des récoltes particulièrement surprenantes et intéressantes.
- N'oubliez pas de rincer soigneusement le filet à l'eau douce dès le retour et le mettre à sécher sous peine de senteurs nauséabondes

**Sécurité** : durant le tractage, le bateau n'est plus manœuvrant, pensez à la signalisation si vous circulez dans une zone très fréquentée.

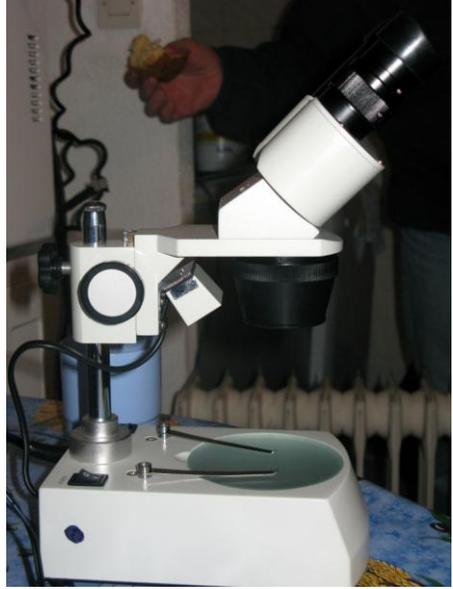
## PREMIER APERÇU SUR LE MATERIEL

L'intérêt du laboratoire, c'est l'étude du monde vivant à une échelle réduite. Après la photo macro qui permet de visionner plus aisément les détails, il est intéressant de pouvoir observer calmement et collectivement les détails des organismes, en profitant des explications d'un animateur chevronné. C'est le premier pas vers une compréhension générale : éléments de morphologie, stratégies biologiques de chasse, de respiration, de nutrition, de reproduction...

### La loupe

<p><b>Avantages</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>Faible coût</li><li>Peu encombrant, se prête bien à une observation directe sur site, se glisse facilement dans une poche.</li><li>Accessoire de complément au laboratoire pour rechercher les sujets parmi sa pêche du jour.</li><li>Peut disposer de plusieurs lentilles superposables permettant divers types de grossissements (→ X9)</li></ul>	
<p><b>Ses limites :</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>La faiblesse de son grossissement.</li><li>Vérifier si vous l'emmenez sous l'eau sa composition (présence d'éléments oxydables) et sa résistance à la pression.</li></ul>	
<p>On pourra bien observer des détails de l'ordre du cm</p>	

### La Loupe Binoculaire

<p><b>Avantages</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>Coût modéré</li><li>Eclairage incorporé permettant un éclairage par dessus ou traversant par en dessous, voir latéral avec une lampe d'appoint</li><li>Grossissement intermédiaire (→ x 10, 20 et 40)</li><li>N'exige pas de préparation particulière, et donc peu de matériel complémentaire : coupelles remplies d'eau de mer dans lesquelles sont immergés les organismes)</li><li>Permet l'observation de petits organismes en relief (copépodes, polypes d'hydriaires, lophophores, radula..)</li></ul>	
<p><b>Ses limites :</b> s'utilise en salle</p> <ul style="list-style-type: none"><li>Champ d'observation non modifiable (large)</li></ul>	
<p>On pourra bien observer des détails de l'ordre du mm (&gt; 0,5mm, 500 microns)</p>	

## Le Microscope

### Avantages

Eclairage incorporé et parfois même système de prise de photos ou de vidéos intégré

Grossissement fort ( x 50 – 100 – 400 et 1000)

Observations s'effectuant par transparence (*L'objet est traversé par la lumière*)

Observations très fines

### Ses limites :

- Coût plus important
- S'utilise en salle uniquement , matériel fragile
- Demande une maîtrise de son utilisation, de son entretien
- Demande une maîtrise des préparations (lames, produits...)
- On pourra observer des détails de l'ordre du  $1/10^{\text{ème}}$  de mm et inférieur – (*Grossissement de 50 à 1000*)
- La distance entre l'objectif et la préparation est faible : d'où un risque de casse ou d'immersion de l'objectif.



Il permet l'observation d'organismes microscopiques ou d'éléments anatomiques de 5 à 500 microns (0,005 à 0,5 mm)

### CALCULER LE GROSSISSEMENT

Afin de calculer le grossissement d'un appareil, on multiplie le grossissement de l'oculaire (généralement X10) par le grossissement de l'objectif.



oculaire



objectif

Ex : Loupe binoculaire :

Pour un Oculaire (X 10)	Objectif X1	Objectif X2	Objectif x4
<b>Grossissement</b>	<b>X 10</b>	<b>X 20</b>	<b>X 40</b>
<b>Taille réelle : 1mm</b>	Taille apparente 1 cm	Taille apparente 2 cm	Taille apparente 4 cm
<b>Taille réelle : 5mm</b>	Taille apparente 5 cm	Taille apparente 10 cm	Taille apparente 20 cm

**N.B. :** On peut se procurer dans le commerce des oculaires de différents grossissements. Vérifier si les oculaires sont amovibles et bien noter le diamètre du porte-oculaire

## CONSEILS et ASTUCES

***Tout le matériel d'observation est sensible à l'eau, et à l'oxydation liée à la présence d'eau salée. Un nettoyage quotidien avec rinçage à l'eau douce sera impératif.***

Il faudra non seulement se montrer très soigneux dans l'utilisation du matériel, comme dans son nettoyage et son rangement. Il est conseillé de créer **plusieurs zones dans la salle** de laboratoire :

- Une zone humide de décantation et de manipulation, avec présence de serpillières et de torchons. Généralement près d'un évier ou d'une prise d'eau.
- Une zone intermédiaire de préparation
- Une zone strictement sèche avec présence de chiffons et de papier absorbant pour éliminer toute trace d'humidité et où seront disposés les appareils

Enfin **le matériel optique est toujours sensible à la poussière**. On veillera toujours à le recouvrir de sa housse (généralement livrées avec) ou d'un tissu, lors d'interruptions de séances longues, ou carrément le ranger dans ses boîtes de rangement.

### **Une séance de laboratoire réussie :**

***Une séance de laboratoire comprend plusieurs temps qu'il s'agit d'intégrer au planning :***

- Récolte de matériel
- Installation du laboratoire
- Consignes d'utilisation du laboratoire et de son matériel
- Manipulations, préparations, démonstrations si nécessaires
- Observations
- Lavage et Nettoyage du matériel et de la salle
- Rangement du matériel et de la salle

Par expérience, ce sont les 2 dernières étapes qui sont souvent la cause de perte ou de casse de matériel, car souvent faite dans la précipitation ou par un trop plein de bonnes volontés.

***Une séance réussie :*** c'est une séance où il y a **suffisamment de matériel** pour que chacun s'occupe à son rythme. Rien de pire que 12 stagiaires qui font la queue derrière un appareil : prévoir une binoculaire ou un microscope pour 2 stagiaires. Avec un écran LCD, on peut encore mieux faire partager ses découvertes, et avec un dispositif de capture d'image ou webcam + ordinateur + vidéoprojecteur, alors c'est carrément du collectif !

# LA MALLETTE DU PLONGEUR en LABORATOIRE

## 1 - LES ACCESSOIRES et CONSOMMABLES ( Liste indicative )

### Pour les échantillons récoltés

- Des seaux, des bacs de décantations (cuvettes en plastique...)
- Des boîtes de prélèvements (cf. exemplaires de laboratoire) pouvant se fermer de façon étanche, des bocaux, des récipients pouvant contenir et transporter de l'eau de mer
- Une glacière pour le transport
- Des feutres pour annoter les prélèvements



### Pour les préparations

- Des coupelles en verre ou en plastique (binoculaires)
- Des pissettes
- Des pipettes
- Des seringues
- Des lames et lamelles, plates ou incurvées
- Une trousse de dissection : spatules, stylets et aiguilles, scalpels, bistouris
- Des pinceaux
- Des étiquettes et des feutres



### Pour le nettoyage pendant et après

- Des nappes en plastique pour couvrir les tables
- Un point d'eau, de préférence un évier
- Des serpillères
- Des torchons, des éponges
- Du papier absorbant en quantité



### Pour l'installation du matériel

- Multiprises + rallonges
- Eclairages d'appoints
- Des tables et des sièges bien stables



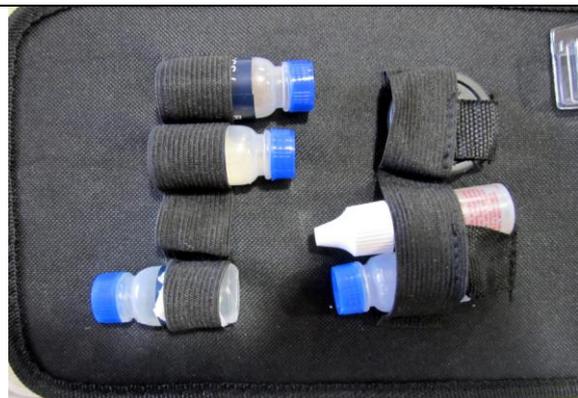
## Pour le rangement et le transport

Des caisses et des malles de rangement avec leurs inventaires



## 2 – LES PRODUITS

- Eau du robinet ou eau distillée
- Eau de mer
- Eau de javel (dans le commerce)
- Alcool à 70° ou 90° (en parapharmacie ou dans le commerce)
- Formol (dilué à 5% ou 10%) *de moins en moins utilisé du fait de sa toxicité*
- Menthol en cristaux (anesthésiant)



## CONSEILS ET ASTUCES

### S'équiper à petit prix

Qui ne connaît pas au sein de son club un médecin, un pharmacien, un laborantin, un vétérinaire.... qui permettra de se constituer un premier équipement que l'on pourra compléter ensuite. On peut aussi faire le tour de laboratoires (collèges, lycées, écoles supérieures, laboratoires de biologie ou scientifiques, laboratoires vétérinaires...) qui renouvellent leur matériel.

On pourra parfois faire des découvertes lors de vide-greniers, ou avec plus de patience (voir parfois des surprises ) sur des sites internet de vente de matériel d'occasion...

Ensuite, on peut se tourner pour un achat collectif vers son club, sa commission départementale de biologie, ou régionale... qui peuvent proposer de subventionner les achats.

**Pour un équipement neuf**, de base suffisant pour se faire plaisir, nous vous recommandons (sans exclusivité)

- *Le laborantin* [www.lelaborantin.fr/](http://www.lelaborantin.fr/) matériel, consommables,
- *Nature et Découverte* <http://www.natureetdecouvertes.com/> microscopes et binoculaires pour un rapport qualité/prix inégalé.(binoculaire X20 pour 80€ et sa trousse de dissection, microscope Bresser à écran LCD et prise de vue intégrée pour 199€...)
- *Naturoptic* [www.naturoptic.com/](http://www.naturoptic.com/) Et parfois quelques découvertes chez LIDL

***Un budget de 300€ permet de constituer un premier fond.***

# ORGANISER SON LABORATOIRE

Quoi de mieux qu'un laboratoire fixe, équipé de tables carrelées, d'éviers, de robinets, de prises électriques à bonne hauteur. Ne rêvons pas, dans les commissions environnement et biologie nous sommes définitivement abonnés au mode nomade, alors je vous livre quelques conseils issus de mon expérience qui ne seront pas superflus.

## LE CHOIX DU LIEU

**Un lieu calme**, sans passage; suffisamment éclairé, vaste, avec un point d'eau, de préférence de type évier avec de l'eau chaude (c'est mieux l'hiver quand il faut faire une grande vaisselle !). Fuyez les locaux de club pendant les entraînements, le passage vers le bar, ou la possibilité d'intrusions de curieux sans relation avec votre stage. Le local devra être facile à nettoyer (éviter les moquettes) et veillez à ce qu'il soit équipé de prises électriques fonctionnelles en nombre suffisant.

L'équipement devra comprendre des tables et des chaises. Eviter d'installer les tables en contact les unes des autres, ou d'utiliser des tables branlantes (surtout avec les microscopes) car les moindres mouvements ou vibrations font « danser » les préparations au fond des coupelles. Ambiance crispée assurée !

**SECURITE** : Assurez vous que rallonges et fils électriques n'empiètent pas sur les zones de déplacement des stagiaires et ne courent pas dans les zones humides.

## LES ZONES

Généralement si l'on ne dispose pas de plusieurs salles séparées, on partagera la pièce en 3 zones, voire 4 si l'on a assez d'espace:

**La zone humide**, généralement installée près de l'évier : bacs ou bassines de décantation pour les récoltes, la réserve d'eau de mer, les premiers tris et les transferts vers les coupelles.

Cette zone servira à la vaisselle de fin de séance.



**La zone semi-humide pour les préparations** nécessitant davantage de calme, avec une table recouverte d'un tissu éponge, et les outils et produits nécessaires : tubes pour spicules, lames et trousse de dissection, pipettes et pissettes, seringues.... Etiquettes et feutres pour étiqueter. Cette zone servira aussi au stockage des préparations. Cette zone peut être encore délimitée en plusieurs sous-zones selon les thèmes étudiés



<p><b>La zone sèche d'observation et d'étude</b>, qui comprend un certain nombre d'appareils branchés sur des tables bien calées, avec des sièges à disposition. On veillera à ce que du papier absorbant en quantité suffisante soit à la disposition des stagiaires.</p> <p>On rappellera la sensibilité des appareils à l'oxydation par l'eau de mer, à la poussière et aux manipulations inadéquates.</p> <p><i>On pourra installer dans cette zone la documentation pertinente, mise à la disposition des stagiaires.</i></p>	
<p><b>La zone de ressources documentaires</b>, qui comprendra tous les livres, revues, ordinateurs équipés de bases de données ou reliés à internet si l'on en a la possibilité...</p>	

## LES CONSIGNES D'UTILISATION du LABORATOIRE

Vous veillerez à donner et expliquer les consignes collectivement et oralement. Laissez en une trace écrite, sur un tableau par exemple, pour les étourdis habituels.

Voici un exemple de consignes que vous devrez rappeler, surtout si vous vous adressez à des stagiaires novices dans cette activité. Cette liste figure en annexe.

<b>CONSIGNES DE LABORATOIRE</b>
<p><b>Respecter les différentes zones :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Zone humide (décantation, lavage, rinçage)</li> <li>- Zone de préparation (produits, matériel de préparation et d'observation..)</li> <li>- Zones sèches <ul style="list-style-type: none"> <li>Zone d'étude (instruments, ordinateurs ...)</li> <li>Zone de bibliographie (livres, revues, ordinateurs et bases de données...)</li> </ul> </li> </ul> <p><b><i>L'eau de mer est corrosive</i></b> : dans les zones sèches toujours vérifier l'absence d'eau sur les appareils (se munir systématiquement de papier absorbant),</p> <p><i>Essuyer systématiquement toute préparation avant de les déposer sur les platines,</i></p> <p><i>Eviter tout contact avec les objectifs (laver rapidement avec de l'alcool)</i></p>

## Règles strictes d'entretien :

Chaque jour :

- Nettoyer l'espace,
- laver le petit matériel scrupuleusement (évite de contaminer le travail des autres..)
- fixer les prélèvements
- les rejeter dans le milieu ou les jeter selon leur état (cf. environnement)

## Espace partagé :

- respecter le travail des autres utilisateurs (préparations, matériels...)
- la zone de préparation est gérée par thèmes
- Etiqueter les préparations (Nom, date, heure, provenance, type et N° de prélèvement)

**Fixer les prélèvements utiles** : addition de javel ou d'alcool selon le cas.

**Tenir un carnet de bord** (dessins, photos, notes d'observations).

## CONSEILS ET ASTUCES

### Le rangement fonctionnel du matériel

Pour nous qui fonctionnons en mode nomade pour la plupart du temps, il nous est indispensable d'avoir un laboratoire portable avec des caisses de transport. Il s'avèrera efficace que chaque caisse soit organisée par fonctionnalité : prélèvements, préparations, observation. Il est intéressant de s'équiper en boîte avec couvercle, et pour celles qui contiendront le petit matériel et les produits, une boîte de rangement style caisse à outil permettra un rangement fonctionnel et vous permettra de repérer du premier coup les éléments manquant. Ainsi lors de la préparation et l'aménagement de la séance, nous gagnerons beaucoup de temps, et nous pourrons nous faire aider efficacement.

Et si vous ne voulez pas effectuer le rangement seul en fin de séance, l'astuce consiste à dresser **un inventaire** par caisse, scotchée sur sa boîte de rangement ! (cf. annexe°



*Caisse de prélèvements*



*Matériel de préparation*



*Matériel d'observation*

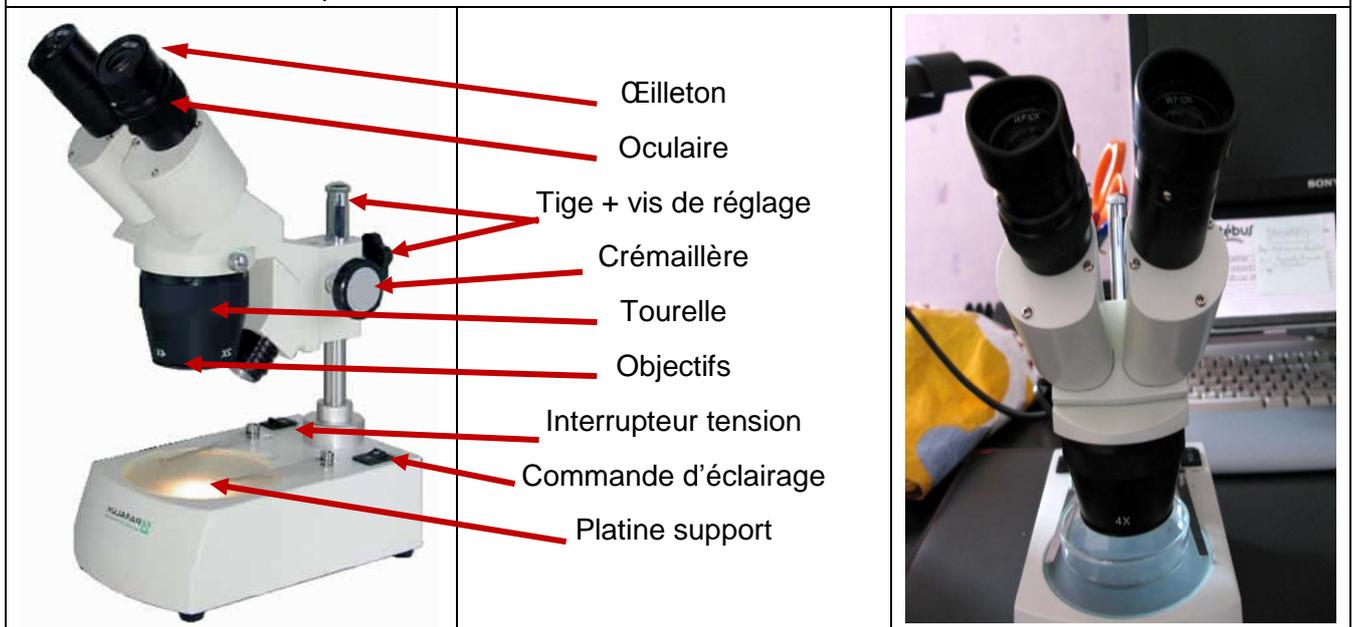
# UTILISATION DU MATERIEL

## LA LOUPE BINOCULAIRE

### Description

Une loupe binoculaire permet une vision stéréoscopique en relief d'éléments épais ou minces, opaques ou transparents. Elle est composée de :

- 2 oculaires réglables où on appliquera l'œil. Les œillets en caoutchouc amortissent le contact avec la peau. Les oculaires comprennent un système de lentilles grossissantes.
- Ils se prolongent par le corps de la loupe, composé de 2 pièces dont l'écartement est réglable pour s'adapter à l'écart entre les yeux de l'observateur
- Le tout se termine par une tourelle sur laquelle sont montés 2, 3 ou 4 objectifs
- La mise au point s'effectuera en variant la distance entre l'objectif et le sujet à observer.
- La mise sous tension permet l'utilisation d'un éclairage,
  - o par le haut, en éclairage direct permettant l'observation du relief et des couleurs
  - o par le bas, par effet de transparence pour les sujets suffisamment minces
  - o ou les 2 pour combiner ces 2 effets



### Mode d'emploi

- o S'installer confortablement, sur un siège réglable de préférence
- o Mettre sous tension la loupe binoculaire, et régler l'éclairage direct
- o Placer le sujet dans une coupelle ou sur une lame sous l'objectif en prenant soin de ne pas renverser d'eau sur la platine
- o Commencer la recherche du sujet par le plus petit grossissement
- o Régler l'écartement des oculaires puis la position des œillets
- o Régler la distance par la vis de réglage de la tige pour une mise au point grossière
- o Affiner en réglant la mise au point à l'aide de la crémaillère
- o Varier le grossissement en tournant la tourelle
- o Varier l'éclairage : par le haut, le bas, les 2
- o Déplacer doucement la coupelle sur le support pour suivre son sujet

### CONSEILS ET ASTUCES

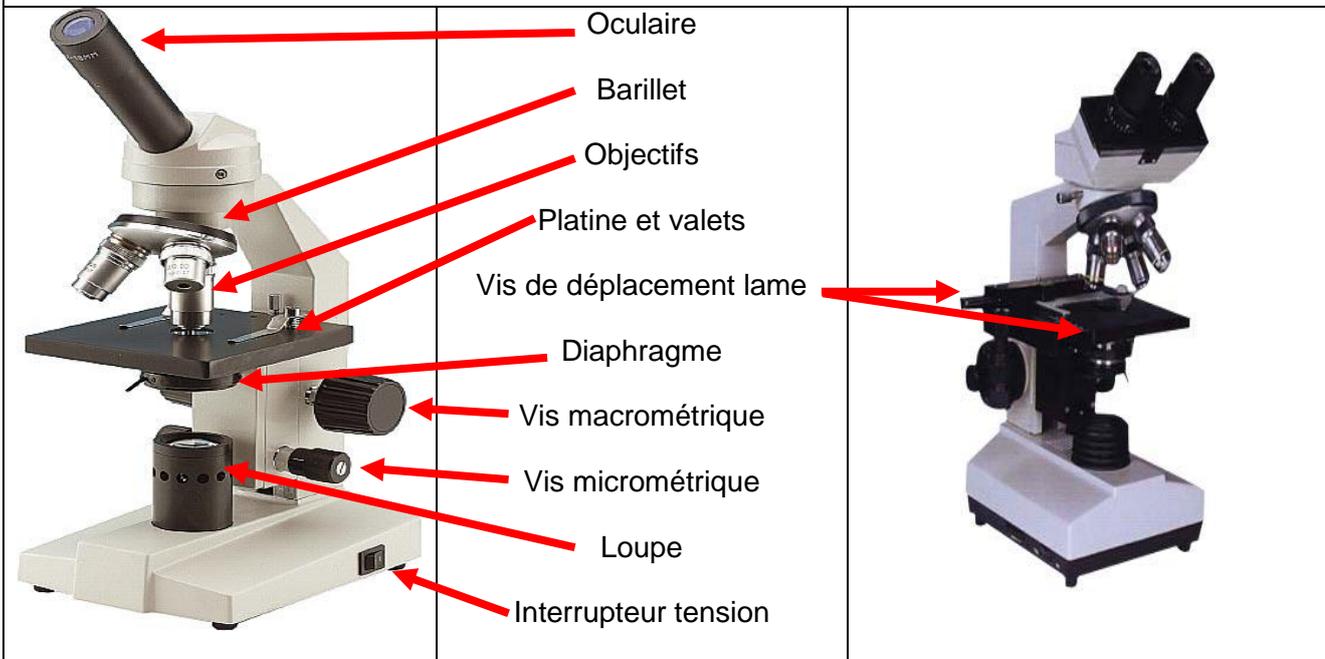
Prévoir des rondelles de couleurs différentes pour le support platine. Certains éléments s'observent mieux sur fond noir ou coloré. Du papier canson ou plastifié fera l'affaire. Dans cette configuration, seul l'éclairage direct sera utilisable.

# LE MICROSCOPE

## Description

Un microscope est composé de plusieurs oculaires et objectifs de grossissement important. Les observations s'effectuent toujours par transparence, au moyen d'une loupe fixée à sa base. Il nécessite des préparations méticuleuses. Les grossissements dépendent du microscope. Contrairement à la loupe binoculaire, l'apport de lumière sera déterminant, et les réglages seront affinés par 2 vis permettant un déplacement latéral ainsi que d'avant en arrière de la platine porte-lame.

Ils existent en version monoculaire ou binoculaire.



## Mode d'emploi

- Baissez la platine porte-objets au maximum. Placez sur la platine la lame à observer et fixez-la avec les valets.
- Sélectionnez le plus petit objectif en tournant la tourelle porte objectifs.
- **Montez** la platine porte objets **sans regarder dans l'oculaire** pour vérifier que l'objectif ne casse pas la lame. Les objectifs  $\times 4$ ;  $\times 10$ ;  $\times 20$ , ne touchent jamais la lame, mais les objectifs plus gros nécessitent de monter, avec précaution, la lame au contact de l'objectif **avant la mise au point**.
- Regardez dans l'oculaire, puis faites **toujours la mise au point en descendant la platine** ainsi vous ne casserez pas de lames !
- Réalisez une mise au point grossière avec la vis macrométrique, puis affinez avec la vis micrométrique.
- Centrez correctement l'objet étudié dans le champ de vision.
- Réglez l'intensité lumineuse en tournant le bouton du potentiomètre au maximum de sa puissance pour obtenir une **lumière parfaitement blanche**.
- Réglez la quantité de lumière avec le diaphragme, puis utilisez le condenseur pour affiner la qualité de l'éclairage. L'utilisation correcte du condenseur est indispensable pour obtenir une mise au point parfaitement nette.
- Pour changer le grossissement, commencez par descendre la platine, puis recommencez à partir de l'étape 3.
- Choisissez le grossissement le mieux adapté à l'objet observé.

## CONSEILS ET ASTUCES

**Les prix d'un microscope sont très variables** : ils dépendent de sa puissance et de la qualité de ses optiques. Un microscope entre 200 et 300€ vous permettra de démarrer et de vous faire plaisir.

**En annexe, vous trouverez 2 fiches** pour l'utilisation du microscope et de la loupe binoculaire. A adapter, imprimer et plastifier pour laisser à la disposition des stagiaires à côté des appareils.

# QUELQUES TECHNIQUES GENERALES DE PREPARATION

## Isoler des organismes sans les léser

- Après décantation dans une cuvette, nous pourrions examiner notre récolte. Soit nos sujets nagent ou se déplacent, soit ils sont fixes (par nature – végétaux, hydraires... ou par instinct – caprelles, mollusques..)
- On commencera par faire un premier tri à l'aide de pinces. On peut soulever ou écarter les organismes avec la pointe d'une aiguille ou d'un stylet. Enfin on pourra utiliser délicatement le scalpel pour réduire et n'observer qu'un morceau de notre sujet.
- La loupe pourra s'avérer intéressante pour affiner notre préparation.
- Bien étaler les organismes (végétaux, hydraires..) dans suffisamment d'eau en évitant de les mettre sur plusieurs couches.
- On pourra aussi aspirer les petits organismes à l'aide d'une pipette et les déposer dans une coupelle ou sur une lame.

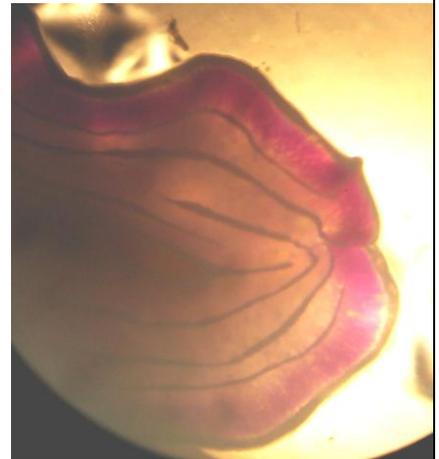


*Polypes d'hydraires et caprelle*

## Immobiliser les organismes

*Il passe et repasse sans cesse dans le champs de l'objectif, et n'arrête pas de frétiller !*

- On peut réduire le volume d'eau afin de limiter le champ de déplacement à quelques gouttes, en aspirant le trop plein à l'aide d'une pipette. Attention moins il y a d'eau, moins il y a d'oxygène et notre sujet succombera plus vite. Il « cuira » aussi plus vite à la chaleur dégagée par la lumière.
- Cette frénésie peut être liée à la chaleur. Un peu de froid devrait ralentir notre sujet (réfrigérateur).
- Un ajout de chlorure de magnésium peut calmer les animaux marins – dilution 30g/litre
- Enfin vous pouvez lui administrer un anesthésiant (alcool, menthol dilué ou MS 222). Attention à la dose ! Procédez par petites doses que vous renouvellez



*Planaire rose*

## Préparer des lames et des lamelles

### Matériel nécessaire

- Pipette
- Lame
- Sur lame ou lamelle
- Papier absorbant
- 1 pointe en acier



## Fabrication

Prélever une goutte de liquide contenant l'échantillon à observer

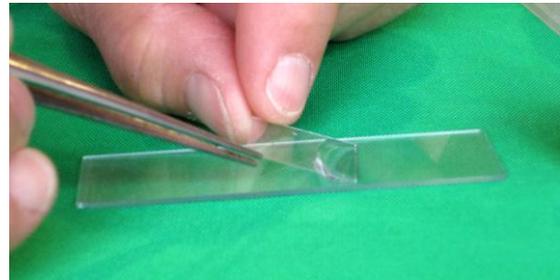
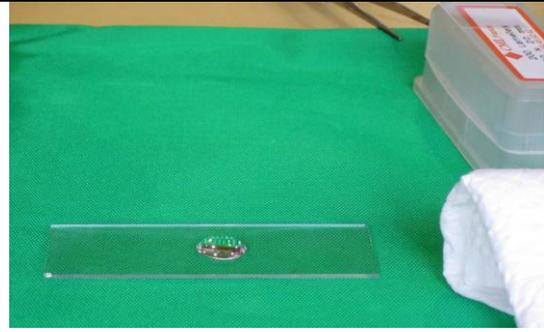
La déposer au centre de la lame

Prendre la lamelle et la déposer obliquement sur un côté

Laisser la goutte d'eau monter par osmose sur la lamelle.

A l'aide de la pointe en acier laisser retomber doucement la lamelle sur la lame

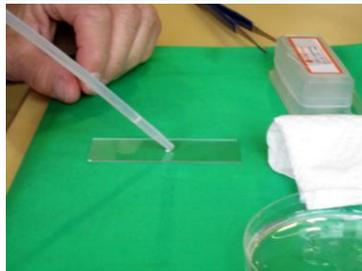
***Vous éviterez ainsi d'emprisonner des bulles d'air***



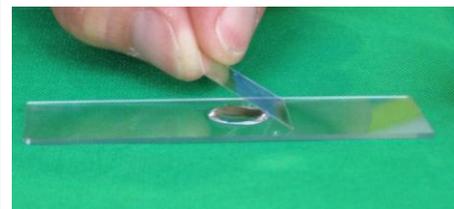
## Le film de la préparation de lames



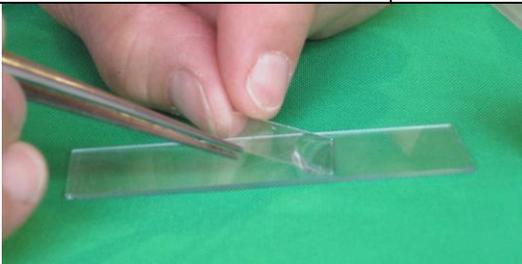
Rassembler le matériel



déposer une goutte sur la lame



Positionner obliquement la lamelle



Laisser monter l'eau sur la lamelle en abaissant doucement la lamelle à l'aide d'une pointe



Essuyer soigneusement l'eau superflue

## Colorer et révéler des spécificités

Les colorants servent essentiellement à mettre en évidence les cellules et leurs composants.

Les noyaux de cellule sont transparents, on pourra donc les observer par contraste avec un environnement coloré (rouge neutre, bleu de méthylène,

## Conserver ses préparations

La dégradation des tissus se produit dès la mort d'un organisme. Il s'agit de la dénaturation des protéines (ce qui s'accompagne d'un dégagement d'odeur indésirable). Les méthodes de conservation ont pour but d'éviter l'entrée d'air et de bactéries, et pour les tissus mous devra

empêcher la dessiccation. La conservation sera donc fonction de la nature et de la constitution des tissus que l'on veut conserver

- Tous les organismes dont on veut conserver le squelette calcaire ou siliceux pourront être conservés par dessiccation (radula de patelle, foraminifères, otolithes, lanterne d'Aristote...)
- Les autres organismes devront être conservés dans une solution additionnée d'alcool 5 à 10% (ou de formol 5 %) qui permettra la conservation des tissus (plancton, larves...) et que l'on sortira de son flacon au moment de l'observation (permettra de conserver les tissus).
- Enfin, les lames préparées que l'on désirera conserver pour une utilisation future devront être scellées (à l'aide de vernis à ongle, vernis pour maquette, ou avec baume du Canada à conserver liquide ou à mettre à température dans un bain marie). La paraffine ou une bougie peut aussi dépanner pour sceller une préparation fraîche



Lamelle scellée au baume du canada

plancton conservé dans un flacon alcoolisé

## L'aquarium

L'aquarium permettra d'observer durant plusieurs jours des sujets suffisamment grands pour être visibles à l'œil nu. La vitre transparente permettra de mettre en valeur certains mode de locomotion ou de nutrition. Tous les animaux ne supportent pas l'aquarium, soit parce que leur durée de vie est très courte, soit parce que leur régime alimentaire est trop spécifique. Enfin, rien ne nous dit que nous d'avons pas introduit dans l'aquarium les prédateurs et leurs proies !

Il faudra veiller à la température de l'eau, à son renouvellement en évitant les chocs thermiques, ainsi qu'à son oxygénation.

## CONSEILS ET ASTUCES

### Tri et conservation

Nous vous conseillons de trier vos prélèvements dès la récolte.

Les algues et les éponges pourront être conservées de 5 à 10 jours dans une solution javellisée à 1 %

Le plancton et les animaux se conserveront mieux dans une solution d'eau de mer alcoolisée à 1%

Les espèces conservées en aquarium simple ne pourront se conserver plus de 48heures.

### Fixation

Dans une solution d'alcool à 10% ou de formol à 3%. L'alcool remplace l'eau au sein des organismes. Le formol permet de garder les organismes plus rigides.

L'eau de javel permet de dissoudre les tissus mous (ex : pour les éponges dans la recherche de spicules, pour les bryozoaires quand on cherche à observer le squelette...)

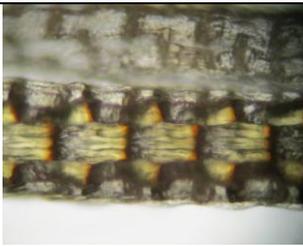
<b>FICHE TECHNIQUE N° 1</b>	<h1 style="margin: 0;">LA RADULA DE PATELLE</h1>	<b>Binoculaire Microscope</b>
	<b>Temps de préparation : 5 mn</b>	

<p><b>Une patelle</b></p> 	<p><b>Matériel nécessaire</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Une paire de ciseaux bien coupants</li> <li>• Une pince</li> <li>• Une lame</li> </ul> <p><b>Produits</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• De l'eau pour rincer</li> </ul>
---	---

<p><b>Préparation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Inciser soigneusement la patelle de la bouche jusqu'à l'arrière de la bestiole.</li> <li>• Presser légèrement pour faire sortir la radula qui se présente comme un ligament rouge-orangé relativement rigide</li> <li>• A l'aide d'une pince tirer sur la radula pour la sortir entièrement</li> <li>• Rincer la radula à l'eau</li> <li>• La déposer sur une lamelle en l'étirant soigneusement.</li> </ul>	
---	--

<p><b>Observation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Observer les rangées de dents (lumière rasante recommandée)</li> <li>• Différencier les dents actives des dents en formation</li> </ul>	
--	---

**Le Film de la préparation et des observations**

 <p>Repérez la tête de la patelle</p>	 <p>Inciser délicatement sur toute la longueur de la patelle en partant de la bouche</p>	 <p>Extraire la radula, La rincer à l'eau, La disposer délicatement à l'aide d'une pointe</p>	 <p>Observation à la binoculaire d'une radula de profil</p>
 <p>Dents actives</p>	 <p>Dents en formation</p>	 <p>Extrémité de radula</p>	

<b>FICHE TECHNIQUE N° 2</b>	<b>OBSERVATION D'HYDRAIRES</b>	Binoculaire
		Temps de préparation : 5 mn

Des échantillons d'hydreaies 	<b>Matériel nécessaire :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Un filet et des boites de prélèvement</li> <li>- Un couteau</li> <li>- Une coupelle</li> </ul> <b>Produits</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Eau de mer</li> </ul>
---	---

<b>Préparation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bien étaler l'hydreaire dans une coupelle remplie d'un peu d'eau de mer afin qu'ils restent immergés</li> <li>• Ecarter doucement les différentes « branches » avec une pointe</li> </ul> <p><i>Les hydreaies sont des organismes fragiles qui doivent se manipuler avec soin sous peine de léser les polypes. Par ailleurs ils résistent mal au stress, leur observation doit suivre rapidement leur prélèvement.</i></p>	
--	--

<b>Observation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• On pourra observer les polypes en activités (varier l'éclairage, ou tapoter légèrement les bords de la coupelle)</li> <li>• On pourra observer les polypes différenciés : gonothèques, polypes nourriciers...</li> <li>• Avec un peu de chance, on pourra aussi observer les organismes vivants sur les polypes (caprelles, limaces, pontes...)</li> </ul>	
--	---

<b>Le Film de la préparation</b>			
 petit plumulaire	 Polype déplié	 Polypes à différents stade et stolon	 Gonothèques
 Doto sur plumulaire	 caprelle et polype d'hydreaire		

<b>FICHE TECHNIQUE N° 3</b>	<b>OBSERVATION DE BRYOZOAIRE</b>	<b>Binoculaire Microscope</b>
		<b>Temps de préparation : 5 mn</b>

**Des échantillons de bryozoaires**



*Les bryozoaires mous se conservent mieux vivants et facilitent l'observation des lophophores ainsi que de leurs organes internes*

**Matériel nécessaire :**

- Un filet et des boîtes de prélèvement
- Un couteau
- Une coupelle

**Produits**

- De l'eau de javel (si l'on désire observer le squelette après dissolution des tissus).

**Préparation**

- Disposer l'échantillon de bryozoaire dans une coupelle
- Observer à la loupe binoculaire
- On pourra observer les logettes, leur disposition, les aviculaires, et avec un peu de chance les lophophores en activité.

*Les espèces les plus intéressantes sont l'Electra posidonia, et le Beania magellanica que l'on trouvera sur les posidonies aux logettes bien distinctes, l'adenoelle, le bryozoaire corne de cerf, le Zoobothryon et la dentelle de neptune.*

*Les bryozoaires résistent mal au stress, l'observation de ces organismes doit se faire rapidement*

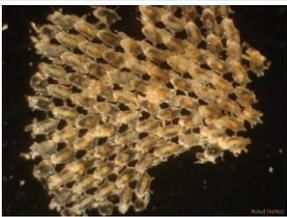


**Observation**

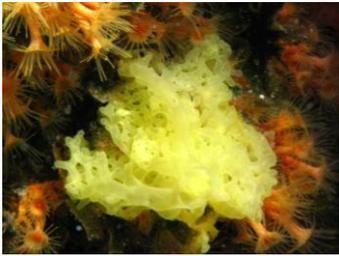
- On pourra observer les logettes et leur disposition, ainsi que les logettes en formation
- Chez certaines espèces, on pourra observer les aviculaires, les oécies, les corps bruns (espèces transparentes)
- Sur les espèces vivantes, on pourra observer les lophophores en activité



**Le Film de la préparation et des observations**

 adeonelle calveti	 adenoelle calveti	 Beania magellanica	 Beania magellanica
 Zoobothryon verticillatum	 Zoobothryon verticillatum	 Lophophores (Bugula)	

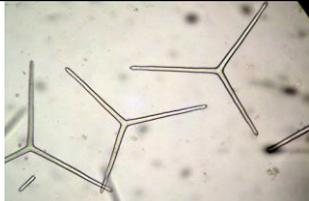
<b>FICHE TECHNIQUE N° 4</b>	<h1 style="margin: 0;">SPICULES D'EPONGES</h1>	<b>Microscope</b>
	<b>Temps de préparation : 25 mn</b>	

<p><b>1 échantillon d'éponge</b></p>  <p><i>Pour démarrer, on préférera la clathrine ou le sycon. Attention : de nombreux démosponges ne contiennent pas de spicules</i></p>	<p><b>Matériel nécessaire :</b></p> <p><b>Prélèvements</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flacons de prélèvements</li> <li>• 1 couteau, des ciseaux ou 1 scalpel</li> </ul> <p><b>Préparation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Lames et lamelles</li> <li>• Une pipette ou une seringue</li> <li>• Tubes de préparation</li> </ul> <p><b>Produits :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Eau de javel (du commerce)</li> <li>• Eau distillée pour le rinçage</li> </ul>
---	---

<p><b>Préparation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dissocier un échantillon d'éponge (grosueur d'un grain de blé au maximum)</li> <li>• Le mettre à dissoudre dans de l'eau de javel au fond d'un tube à essai</li> <li>• Attendre environ 15mn que les tissus soient complètement dissous. Les spicules sont visibles sous forme blanchâtre au fond du tube.</li> <li>• Rincer à l'eau distillée en aspirant le haut du liquide sans remuer.</li> <li>• Aspirer une demi-goutte du fond de la préparation et l'étaler largement sur une lame</li> </ul>	
--	--

<p><b>Observation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Au microscope on pourra observer les différents types de spicules.</li> <li>• De nombreux ouvrages bibliographiques permettront d'identifier les éponges</li> <li>• Des photos de l'échantillon sur site aidera à la détermination.</li> </ul>	
---	---

**Le Film de la préparation et des observations**

 <p>Matériel d'échantillonnage à emmener en plongée</p>	 <p>retour des échantillons et étiquetage</p>	 <p>décantation dans l'eau de javel</p>	 <p>Mise sous lames et étiquetage</p>
 <p>spicule de type oxe</p>	 <p>spicules de type triactine</p>	 <p>spicule de type chiaster</p>	

**Des échantillons de différentes algues**



*Algues intéressantes : ulves, entéromorphes, dictyotes, codium, coraline, algues filamenteuses rouges ou vertes, algue à crochets, spiruline...*

**Matériel nécessaire**

- Lames et lamelles
- Epingles pour dilacérer
- Possibilité de faire bouillir de l'eau

**Produits**

- aucun

**Préparation**

- Observer directement les cellules des algues à la loupe binoculaire et au microscope
- Révéler les pigments chlorophylliens des algues en versant dessus de l'eau bouillante
- Dilacérer les algues → cellules et organes de reproduction
- Effectuer des coupes (codium)



**Observation**

- Les cellules des algues, les chloroplastes
- Les siphons internes des codium après coupe ou dilacération (en forme de grain de blé)
- Les sommités avec les cellules apicales (dictyotes) en forme de mamelles
- Les organes de reproduction (gamétophytes ou sporophytes)
- Les animaux colonisant les algues



**Le Film de la préparation et des observations**



algue de départ



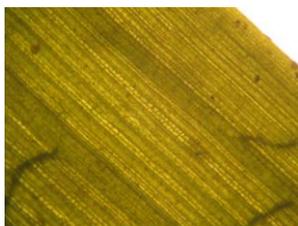
algue ébouillantée



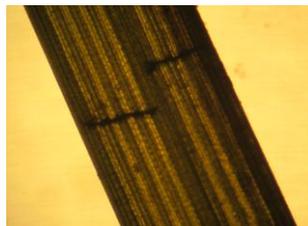
articulation des algues



anémone juvénile



zostère



cymodocée



caprelle

<b>FICHE TECHNIQUE N° 6</b>	<b>CHROMATOGRAPHIE des PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS</b>	<b>Binoculaire</b>
	<b>Temps de préparation : 2h</b>	

### Des échantillons de différentes algues



Algues intéressantes : ulves, entéromorphes, dictyotes, codium, chrysophycées, corraline... ..

### Matériel nécessaire

- Lames et lamelles
- 1 pipette
- Papier absorbant (papier canson)
- Un mortier, ou mixeur

### Produits

- Alcool à 90%
- Acétone ou dissolvant pour vernis à ongle
- solvant organique (2/3 alcool, 1/4 acétone, eau)

### Préparation

Les pigments solubles dans le solvant migrent par capillarité sur le papier de chromatographie suivant leurs propriétés physico-chimiques

1 – Broyer les algues – préparer les bandelettes de papier absorbant

2 – avec la pipette, aspirer une goutte du broyat

3 - La déposer sur la base du papier absorbant

4 - Suspendre la bandelette dans le flacon en prenant soin que le bas trempe dans le solvant – reboucher le flacon

5 - Attendre et observer la migration des pigments (au moins 1 à 2 heures)

6 - Comparer différentes algues : vertes, brunes, rouges..

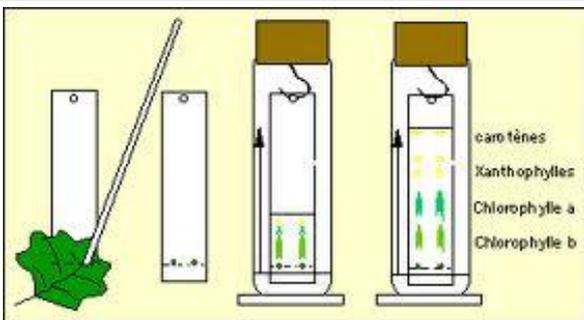


### Observation

- Le broyat des algues, les cellules
- La séparation des différents pigments



### Le Film de la préparation et des observations



### Résultats de la chromatographie

- **caroténoïdes (orangé)**
- **xanthophylle (jaune)**
- **chlorophylle a (vert bleuté)**
- **Chlorophylle b (vert jaune)**

<b>FICHE TECHNIQUE N° 7</b>	<b>OBSERVATION D'OURSIN</b>	<b>Binoculaire</b>
	<b>Temps de préparation : 5 mn</b>	

**1 oursin**



*on pourra prélever 2 types d'oursins différents afin de noter les critères de différenciation (ex. oursin commun et oursin noir)*

**Matériel nécessaire**

- Une coupelle haute pour y déposer l'oursin

**Produits**

- Aucun



**Préparation**

- Déposer l'oursin sur une coupelle avec un peu d'eau
- Le retourner ou lui retirer de l'eau va stresser l'animal qui agitera piquants, podia et pédicellaires



**Observation**

- les articulations des piquants
- les podia
- les pédicellaires
- les dents



**Le Film de la préparation et des observations**

 <p>articulation des piquants</p>	 <p>Les dents brouteuses de l'oursin</p>	 <p>piquants et podia</p>	 <p>pédicellaires</p>
 <p>Test et dents</p>	 <p>Anatomie interne de l'oursin</p>		

<b>FICHE TECHNIQUE N° 8</b>	<b>REPRODUCTION CHEZ L'OURSIN</b>	Microscope
		Temps de préparation : 15 mn

**Plusieurs oursins (mâles et femelles)**



*les oursins doivent être à maturité sexuelle et il n'existe pas de dimorphisme sexuel*

**Matériel nécessaire**

- Des coupelles ou récipients à bord élevés
- Une pipette
- Des lames et lamelles

**Produits**

- de l'alcool ou chlorure de potassium



**Préparation**

- placer l'oursin au dessus d'un récipient étroit contenant un peu d'eau de mer inaccessible. Après avoir pris conscience du danger, l'oursin lâchera ses gamètes dans le récipient. Eventuellement lui administrer à l'aide d'une seringue du chlorure de potassium
- Autre technique : ouvrir plusieurs oursins, leur prélever directement leurs gamètes à l'aide d'une pipette
- Jaunes orangés pour l'oursin femelle, blanchâtres pour l'oursin mâle
- Recueillir une goutte de chaque flacon à l'aide d'une pipette et en déposer une goutte de chaque sur une lame, séparées par un espace (observer les différents gamètes)
- A l'aide d'un stylet, établir un pont d'eau entre les 2 gouttes

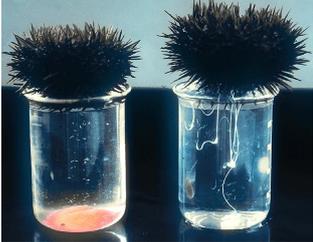
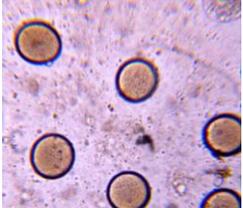
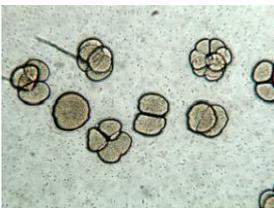


**Observation**

- La distinction entre gamètes mâles et des gamètes femelles
- La course des spermatozoïdes vers les ovules (chimiotactisme) → l'œuf qui s'entoure d'une gaine
- Les différentes phases de la division cellulaire



**Le Film de la préparation et des observations**

	 femelle et mâle	 Préparation de la lame	 Gamètes femelles
 Œuf et 1 <sup>ère</sup> division	 œuf à différents stades	 stade 8	

<b>FICHE TECHNIQUE N° 9</b>	<b>OBSERVATION DE SABLE</b>	<b>Binoculaire</b>
		<b>Temps de préparation : 5 mn</b>

**Du sable prélevé à différents endroits**



*De préférence dans des parties semi-immergées ou après une tempête. Tamiser et récupérer plusieurs granulométries, à différents endroits, même vaseux.*

**Matériel nécessaire**

- Des boîtes de prélèvement
- Des passoirs et filtres de différents mailles
- Des coupelles
- Un stylet pour trier le sable
- Une loupe

**Produits**

- Aucun

**Préparation**

- Etaler dans une coupelle le sable récolté
- Utiliser une loupe pour repérer les éléments intéressants
- Trier délicatement à l'aide d'une pointe, d'un stylet ou d'un pinceau



**Observation**

- Des piquants d'oursin
- Des débris divers d'origine coquillier, verre, autres roches
- Des organismes de type vers, Bernard l'ermite, mollusques...
- Des déchets plastiques



**Le Film de la préparation et des observations**



tamissage du sable



tamisages variés



piquant d'oursin



éléments de composition



Bernard l'ermite !



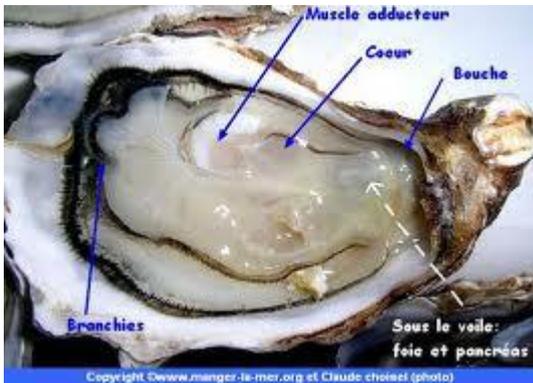
annélide



Oh des balanes juvéniles!

<b>FICHE TECHNIQUE N° 10</b>	<b>BRANCHIES DE MOULE ou D'HUITRE</b>	<b>Binoculaire</b>
	<b>Temps de préparation : 10 mn</b>	

### Un bivalve (moule ou huitre)



### Matériel nécessaire

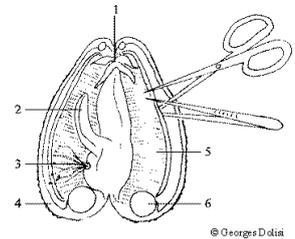
- Un couteau pour ouvrir l'animal
- Un scalpel ou 1 paire de ciseaux
- Une lame
- Stylet ou épingle

### Produits

- De l'encre de chine ou tout autre produit colorant (grenadine, menthe...)

### Préparation

- Ouvrir le bivalve
- Découper une partie des branchies à l'aide d'un scalpel
- Etaler soigneusement sur une lame (sans épaisseur)
- Ajouter une goutte d'encre de chine à une extrémité



### Observation

- Les battements des cils vibratoires
- La structure des branchies
- Le courant de filtration



### Le Film de la préparation et des observations


cils vibratiles en mouvement

<b>FICHE TECHNIQUE N° 11</b>	<b>ORGANISMES PLANCTONIQUES</b>	<b>Microscope</b>
		<b>Temps de préparation : 5 mn</b>

Des prélèvements de plancton



*Il s'avère intéressant de comparer des prélèvements effectués à différentes périodes (jour, nuit) et à différentes grosseurs de filets à plancton*

**Matériel nécessaire**

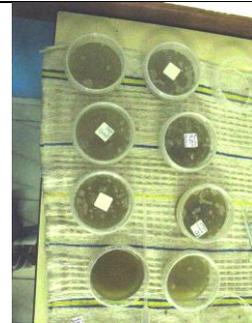
- Matériel de prélèvement
- Filet à plancton
- Glacière
- coupelles
- Lames et lamelles
- Pipette
- Un manuel ou des planches de planctonologie

**Produits**

- Alcool à 95% pour fixer les préparations

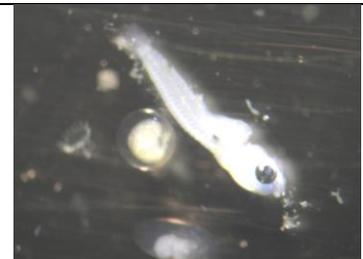
**Préparation**

- Repérer les spécimens dans les coupelles à l'aide d'une loupe
- Aspirer les plus gros spécimen à l'aide d'une pipette et les disposer sur une lame
- Déposer une goutte de soupe de plancton entre une lame et une lamelle
- Fixer rapidement à l'alcool toute préparation (*la durée de vie du plancton est courte, les odeurs nauséabondes se dégagent rapidement*)



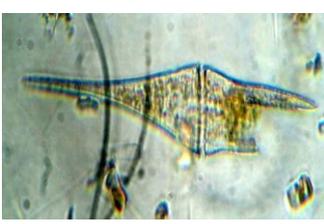
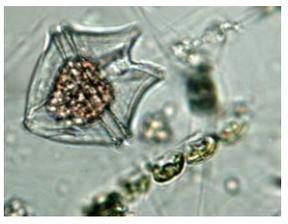
**Observation**

- Observation du phytoplancton
- Observation de zooplancton
- Observation des larves
- Observations des alevins



*alevin et œuf de poisson*

**Le Film de la préparation**

 <i>recueil du plancton</i>	 diatomées	 dinophyte	 Protoptéridium
 larve de gastéropode	 tintinnide	 larve velligère	 larve nauplius

<b>FICHE TECHNIQUE N° 12</b>	<h1 style="margin: 0;">FORAMINIFERES</h1>	<b>Binoculaire</b>
		<b>Temps de préparation : 5 mn</b>

### Des extraits de sable



Varier les lieux de prélèvements, par ex récolter la couche superficielle du sable sur la plage, à faible profondeur et au pied des posidonies.

### Matériel nécessaire

- Des récipients pour les prélèvements
- Des coupelles
- Une pointe ou un pinceau fin pour le tri

### Produits

- aucun

### Préparation

- laisser reposer le prélèvement dans un récipient . (Si l'échantillon est conservé à température ambiante, on pourra observer les foraminifères vivants)
- disposer les grains dans une coupelle
- à l'aide d'une pointe trier et séparer les différents éléments



### Observation

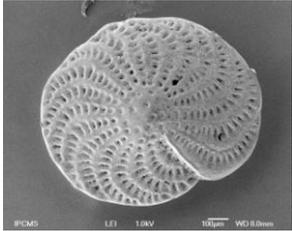
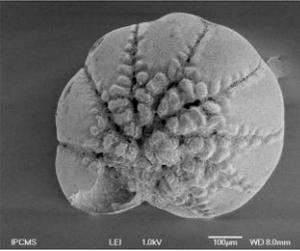
- les différentes formes de tests des foraminifères
- les orifices symétriques (foramen = trou) permettant le passage des filaments locomoteurs

Observer de préférence en lumière réfléchi sur fond noir



En provenance du japon

### Le Film de la préparation et des observations

			 <small>microscope électronique</small>
			

<b>FICHE TECHNIQUE N° 13</b>	<b>ÉCAILLES DE POISSON et OTOLITHES</b>	Binoculaire
		Temps de préparation : 10 mn

**Plusieurs poissons** (chez le poissonnier)



*Varié les poissons : Rascasses, rougets (écailles cténoïdes), poissons gris (écailles cycloïdes), et pour les otolithes, Daurades, Merlans, Tacauds*

**Matériel nécessaire**

- scalpel
- couteau à racler ou à écailler
- une paire de ciseaux

**Produits**

- Aucun

**Préparation**

- Racler les écailles
- Les humidifier pour l'examen à la loupe
- Prélever très délicatement les otolithes en ouvrant à l'arrière des yeux
- Les extraire, les rincer

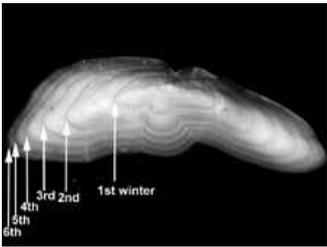
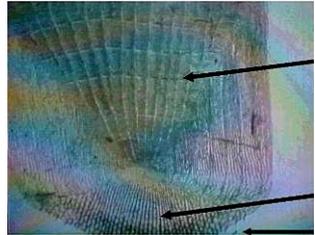


**Observation**

- Distinguer les différents types d'écailles
- Les stries de croissance sur les écailles et les otolithes
- Dans l'estomac, observation de vers



**Le Film de la préparation et des observations**

 <p>otolithes de daurade</p>	 <p>otolithe de baudroie</p>	 <p>otolithe - extraction</p>	 <p>Otolithe - comptage</p>
 <p>stries de croissance sur écaille</p>	 <p>écaille vue au microscope</p>		

# LES TECHNIQUES DERIVEES DU LABORATOIRE

## PRENDRE DES PHOTOS ET LES TRAITER

- Vous avez réussi des prélèvements particulièrement riches,
- Votre préparation s'avère extrêmement intéressante pour illustrer vos propos
- Vous désirez conserver une trace de vos découvertes

Alors n'hésitez pas, à défaut d'une conservation mal conditionnée, mieux vaut s'offrir des souvenirs numériques, aptes à illustrer vos prochains cours ou faire partager vos découvertes. La plupart des APN compacts permettent de faire de très bonnes photos, sous réserve de respecter quelques conditions :

- **Une stabilité parfaite**
- **Un éclairage réussi**
- **Une mise au point maîtrisée**

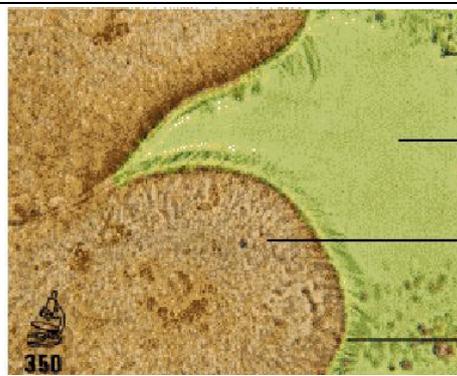
<p><b>Pour la stabilité</b>, vous devrez veiller à disposer de tables séparées et bien stables pour poser vos loupes binoculaires et microscopes – 1 par table espacée (<i>ça paraît évident comme ça, mais dans le monde nomade...</i>). Pour solidariser votre APN à son optique, vous devrez faire l'achat d'un <b>adaptateur à platine</b> à fixer sur l'appareil (entre 40 et 70 €). <i>Repérer le diamètre de l'oculaire avant l'achat.</i></p>	
<p><b>Procédure d'utilisation</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Oter l'ocillon de la loupe binoculaire ou du microscope</li><li>- Ajuster l'adaptateur et le serrer</li><li>- Monter l'appareil photo sur la platine</li><li>- Ajuster les champs (<b>Soyez très prudent : l'objectif de l'appareil photo ne doit pas heurter l'oculaire à l'ouverture, ou lors du zoom sous peine de dégrader gravement votre APN</b>)</li><li>- Faire la mise au point et faire le cliché sans bouger l'ensemble</li></ul>	
<p><b>Pour la lumière</b>, il sera peut-être nécessaire d'utiliser un éclairage d'appoint, en lumière rasante éventuellement (une lampe de plongée peut être la bienvenue). Pour capter suffisamment de lumière, votre APN (en position automatique) utilisera une vitesse très lente. Tout « bougé » (de votre part ou de la part de l'élément à photographier) s'avèrera alors rédhibitoire pour la réussite de vos photos.</p> <p><b>La mise au point</b> se fera de façon simple : vous mettez au point visuellement votre sujet par la vis de mise au point de la binoculaire en vous aidant de l'écran LCD. Vous effectuez une mise au point en pressant à moitié sur le bouton de prise de vue, vous pouvez finir d'ajuster avec la vis, puis vous prenez plusieurs clichés par précaution. Attention en pressant le bouton de mise au point de ne pas faire bouger votre préparation.</p>	 <p><i>radula de patelle Canon Ixus avec adaptateur sur loupe binoculaire</i></p>

**Traiter ses photos** : qui ne connaît pas Photoshop ou un logiciel de retouche type paintshop. On peut ainsi améliorer ses photos en les recadrant, en améliorant le contraste, en isolant un détail...  
*Par contre, une photo floue ne se récupère jamais.*

**Pour mettre en évidence certains détails**, ou faciliter le comptage, vous pouvez sélectionner les parties intéressantes avec la baguette magique, et utiliser la variation de la balance des couleurs.



*branchies de moule avant retouche*



*branchies de moule après retouche*

## CONSEILS ET ASTUCES

**Pour ménager son appareil photo en le fixant à l'adaptateur**, ajuster d'abord l'appareil photo sur la platine, centrer le tout, vérifier avant serrage, qu'à l'ouverture l'objectif ne rentre pas à l'intérieur de la partie à fixer sur l'oculaire. Zoomer légèrement et fixer alors le compact sur la platine, puis l'ensemble sur l'instrument optique. Vous êtes ainsi certain que l'objectif sera préservé.

**Pour une photo réussie**, n'hésitez pas à varier les fonds de couleur sous binoculaire : noir, rouge, blanc, selon les détails à mettre en relief. Tout ce qui est translucide ressortira mieux sur un fond foncé.

**Petit site internet utile** : [www.astronome.fr](http://www.astronome.fr) vend des adaptateurs pour appareils photo et instruments d'optiques à prix raisonnables.

## PRENDRE DES VIDEO ET LES TRAITER

La plupart des appareils photos numériques actuels APN permettent maintenant de réaliser des petites vidéos. La vidéo s'avère particulièrement intéressante pour mettre en évidence la nutrition, la locomotion, la reproduction.... Mais si vous êtes déjà équipé d'un caméscope, pourquoi ne pas l'utiliser, surtout si vous le maîtrisez (l'adaptateur sera ici aussi nécessaire).

**Ex de sujets** : *la rétractation des polypes des hydraires, les pulsations des cils vibratiles, les déplacements de vers, la filtration des branchies, les mouvements de capture des balanes...*

Comme pour la photographie, la clé de la réussite réside dans

- Une stabilité parfaite
- Un éclairage réussi
- Une mise au point maîtrisée

Les mêmes conseils que pour la photographie s'avèreront donc utiles.

Toutefois si prendre des séquences vidéo s'avère simple, les traiter pour les utiliser s'avère plus complexe. Qui n'a pas subi l'énervement public d'une séquence vidéo que l'on désire lancer et qui s'obstine à ne pas vouloir s'ouvrir ?

### CONSEILS ET ASTUCES

Il existe des logiciels gratuits permettant de traiter (couper des séquences, regrouper des prises, commenter...) et surtout enregistrer sous un format universel.

*Par expérience, j'utilise toujours les logiciels gratuits VLC pour visionner mes vidéo, et VIRTUAL DUB pour les traiter. Les formats d'enregistrement varieront selon le niveau de compression que l'on acceptera, les plus courants restant .avi, wav, .mp4, .wmv....(Cf. tutoriel de VIRTUAL DUB en annexe).*

## ET SI TOUT LE MONDE PARTICIPAIT ?

**Objectif** : Exploiter collectivement des préparations.

Loupe binoculaire comme microscope s'avèrent très intéressants pour un travail individuel. Mais dès lors que l'on souhaite faire partager des observations, des explications communes, des méthodes, il faut trouver des astuces techniques de mise en commun des observations. Avec les progrès techniques actuels, plusieurs solutions s'offrent à nous.

### Situations

- On dispose de peu de matériel
- Une préparation s'avère particulièrement intéressante à exploiter collectivement.
- La découverte du siècle !

#### 1ère solution : l'écran LCD :

Cette solution permet de commenter à plusieurs stagiaires réunis ce que l'on observe. Maximum 3-4 personnes.

Certains matériels en sont équipés de base (avec souvent la possibilité conjointe de prises de vues)

*Le microscope en vente chez Nature et Découverte en est équipé ainsi qu'un dispositif de capture d'images.*

A défaut on peut utiliser l'écran LCD de l'appareil photo si l'on dispose d'un adaptateur (cf. ci-dessus le paragraphe prendre des photos avec un APN)



*microscope équipé d'un LCD*

## 2<sup>ème</sup> solution : l'appareil photo + écran TV

Vous reliez votre APN à un écran TV par le câble Vidéo fourni avec tout appareil photo en vente. En position prise de vue, vous utilisez le capteur de votre APN et visualisez en direct sur l'écran TV.

Seule la capacité de la batterie de votre APN limitera votre séance.

## Appareil Photo + ordinateur + vidéoprojecteur

Vous disposez déjà d'un ordinateur et d'un vidéo projecteur, ainsi que d'un APN et d'un adaptateur. Reste à transformer votre APN en webcam. Vous trouverez dans le commerce des solutions peu onéreuses (autour de 40 €)



## 3<sup>ème</sup> solution : la webcam + ordinateur + vidéoprojecteur

Utiliser un APN pose le problème de la durée de sa batterie. Aussi une solution intéressante et peu onéreuse, qui réunit plusieurs avantages, selon les capacités de la webcam et de son logiciel d'exploitation, consiste à le remplacer par une webcam : prise de vue, séquences vidéo, stockage de fichiers numériques sur l'ordinateur seront ainsi facilités. Les Webcam sont connectées au port USB de votre ordinateur. *Une des plus performantes en microscopie optique est la Philips ToUcam Pro*

Il faudra toutefois faire l'achat d'un adaptateur pour solidariser la webcam à l'oculaire, relier la webcam à l'ordinateur, et bien évidemment disposer sur son ordinateur du pilote de la webcam !

Si l'ordinateur est relié à un vidéo projecteur, la vision de la préparation sera ainsi aisément partagée sur l'écran pour l'ensemble du groupe de stagiaires et dynamisera votre séance.



webcam + adaptateur

# MESURER DES ECHANTILLONS

Vous commencez à prendre le virus du laborantin, vous voudriez bien pouvoir mesurer les bestioles ou les détails que vous explorez (cela nous aide parfois pour la détermination).

**1 – Lecture directe** : placer directement sous la lame une languette de papier millimétré. La lecture de la grandeur du sujet sous binoculaire pourra se faire directement.

## 2 – Utiliser un logiciel

Un petit logiciel gratuit va résoudre cette question : **ImageJ** que vous téléchargerez (394 Ko)

L'inconvénient de ce logiciel, c'est qu'il ne parle qu'anglais. Aussi vous trouverez un mode d'emploi ci-après (cf. annexe pour plus de détails).

Procédure à suivre :

### A – étalonnage :

disposer sous l'objectif une règle finement graduée ou une bande de papier millimétré.

Prendre ensuite la photo de son sujet sous la même focale et le même grossissement (en restant en automatique, ne pas toucher au zoom)

Télécharger ses photos en les renommant « xobjectifx focale »

Ex grossissement 40 focale appareil photo 8 « x4\_x8\_échelle »

« x4\_x8\_sujet »

Pour trouver la focale de son appareil photo,

*sous Microsoft Office Picture Manager  
de l'appareil photo numérique à droite de l'écran.*

*Fichier → propriétés → « Plus » pour propriétés*

### B – Mesure

- Ouvrir ImageJ
- Ouvrir ses 2 photos (échelle et sujet), et les juxtaposer sur votre écran (fichier → open)

#### 1 - sur la photo de l'échelle : définir échelle et unité

Sélectionner l'outil trait (« straight »)

Analyse → set scale + renseigner la distance connue et l'unité Known distance et unit of length (cocher la case Global)

dans notre exemple Known distance 2.00 est la longueur connue et unit of length (l'unité) le mm

**2 - mesure du sujet** : sur la photo du sujet pointer directement le segment à mesurer, la longueur s'affiche directement en haut (length) dans l'unité définie précédemment

#### 3 – étalonner visuellement sa photo

On peut poser une échelle pour renseigner le lecteur  
Analyse → Tools → Scale bar



**C- enregistrer :sauvegarder** si on le désire, sa photo avec la mesure File → save as

## BIBLIOGRAPHIE et RESSOURCES DOCUMENTAIRES

Guide des diatomées            Maurice LOIR

    Guides du Naturaliste – Delachaux Niestlé – Paris 2004

Kit de survie de la CNEBS

Guide pratique des techniques de laboratoire            Patrice PETIT de VOICE

Rapport de stage MFB1 – Marion CORNU

Marc FLOURY : la préparation de spicules

### Sites internet

[www.microscopie.com](http://www.microscopie.com)

[www.lamap.fr/](http://www.lamap.fr/)            la main à la pâte

<http://www.microscopies.com/>

[www.cyberaqua.org](http://www.cyberaqua.org)

[cybernetique.info/trans-science/fr/micro.htm](http://cybernetique.info/trans-science/fr/micro.htm)

<http://biodidac.bio.uottawa.ca/>            un site canadien de ressources

[www.science.gouv.fr/fr/ressources-web/bdd/t/46/web/biologie-moleculaire](http://www.science.gouv.fr/fr/ressources-web/bdd/t/46/web/biologie-moleculaire)

<http://www.virtualdub-fr.org/> pou le logiciel Virtual Dub

<http://rsb.info.nih.gov/ij/> pour le logiciel ImageJ

### QUELQUES ADRESSES

#### Matériel

Nature et Découverte

[www.astronome.fr](http://www.astronome.fr)

[www.laborantin.fr](http://www.laborantin.fr)

#### Logiciels

<http://www.virtualdub-fr.org/> pou le logiciel Virtual Dub

<http://rsb.info.nih.gov/ij/> pour le logiciel ImageJ

### Ressources Pédagogiques

La station de Roscoff

Mare Nostrum

Nausica

# ANNEXES

1. Exemple de fiche d'inventaire de caisse de rangement
2. Consignes pour une séance de laboratoire
3. Fiche d'utilisation d'une loupe binoculaire
4. Fiche d'utilisation d'un microscope
5. Liste des produits et de leur utilisation
6. Tutoriel de traitement de vidéo (VIRTUAL DUB)
7. Tutoriel de mesure d'échantillons (IMAGEJ)



## INVENTAIRE DE CAISSE DE RANGEMENT

**ANNEXE 1**

Propriétaire :

Date emprunt :

Caisse N°

Emprunteur :

Vérifiée le :

Date de retour :

Par :

A remplacer :

Commentaires :



# CONSIGNES POUR UNE SEANCE DE LABORATOIRE

ANNEXE 2

## Respecter les différentes zones :

- Zone humide (décantation, lavage, rinçage)
- Zone de préparation (produits, matériel de préparation et d'observation..)
- Zones sèches

Zone d'étude (instruments, ordinateurs ...)

Zone de bibliographie (livres, revues, ordinateurs et bases de données...)

**L'eau de mer est corrosive** : dans les zones sèches toujours vérifier l'absence d'eau sur les appareils (se munir systématiquement de papier absorbant),

Essuyer systématiquement toute préparation avant de les déposer sur les platines,

Eviter tout contact avec les objectifs (laver rapidement avec de l'alcool)

## Règles strictes d'entretien :

Chaque jour :

- o Nettoyer l'espace,
- o laver le petit matériel scrupuleusement (évite de contaminer le travail des autres..)
- o fixer les prélèvements
- o les rejeter dans le milieu ou les jeter selon leur état (cf. environnement)

## Espace partagé :

- respecter le travail des autres utilisateurs (préparations, matériels...)
- la zone de préparation est gérée par thèmes
- Etiqueter les préparations (Nom, date, heure, provenance, type et N° de prélèvement)

**Fixer les prélèvements utiles** : addition de javel ou d'alcool selon le cas.

**Tenir un carnet de bord** (dessins, photos, notes d'observations).

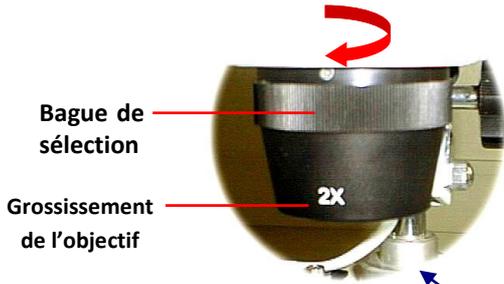


# FICHE d'UTILISATION LOUPE BINOCULAIRE

ANNEXE 3

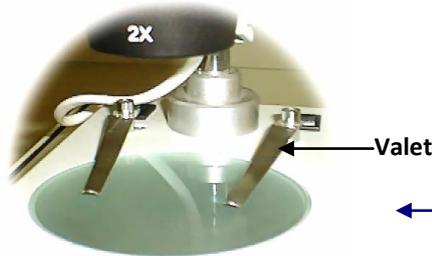
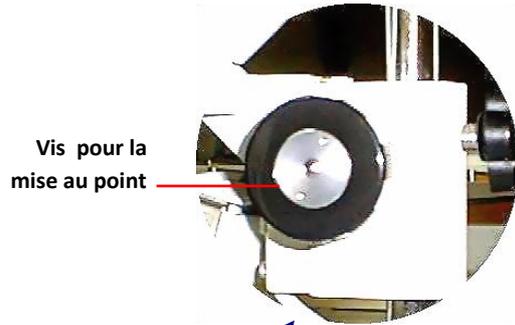
## Grossissement

Sélectionnez un grossissement adapté à l'objet observé en tournant la bague de l'objectif



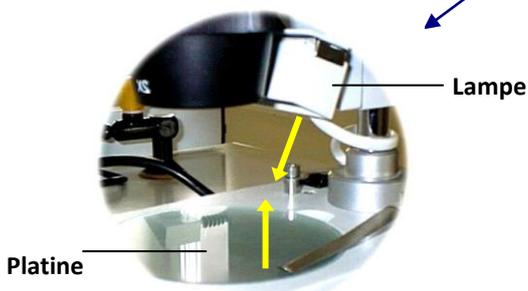
## Mise au point

Utilisez les vis situées de chaque côté de la potence



## Centrer l'objet

Placez l'objet au centre du champ de vision et fixez-le éventuellement avec les valets



## Couleur de la platine

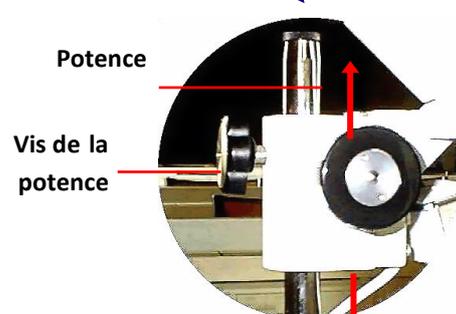
Choisissez la couleur de la platine (translucide, blanche, noire) adaptée à l'objet observé

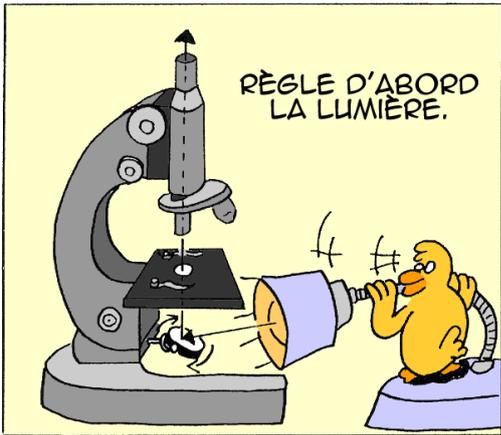
## Éclairage

Utilisez le bouton situé près de la potence pour éclairer l'objet par-dessus ou par-dessous

## Hauteur de la loupe

Utilisez la vis de la potence pour ajuster la hauteur de la loupe à la taille de l'objet observé



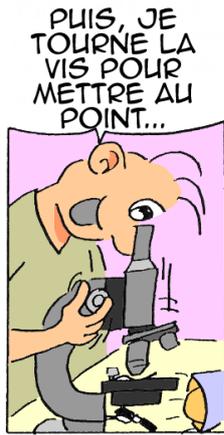


RÈGLE D'ABORD LA LUMIÈRE.

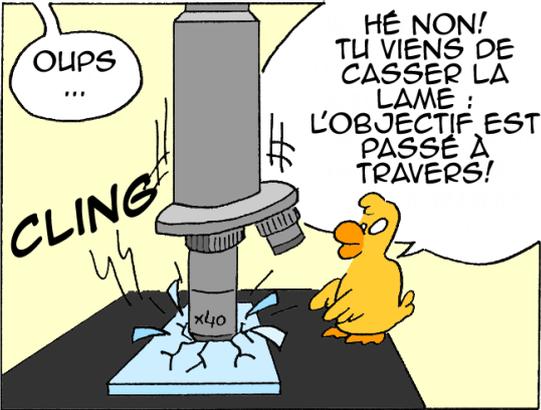


ENSUITE, JE SAIS! JE PLACE LA LAME SUR LA PLATINE, AU-DESSUS DU TROU!

OUI



PUIS, JE TOURNE LA VIS POUR METTRE AU POINT...



OUUPS ...

HÉ NON! TU VIENS DE CASSER LA LAME: L'OBJECTIF EST PASSÉ À TRAVERS!



POUR EVITER CA, IL FAUT RESPECTER 5 RÈGLES!



1-COMMENCE PAR LE PLUS PETIT OBJECTIF.

TOURNE LE BARILLET. TU DOIS ENTENDRE UN

CLIC



2-DESCENDS LE TUBE OPTIQUE AU MAXIMUM.

REGARDE SUR LE CÔTÉ POUR NE PAS DESCENDRE TROP BAS!



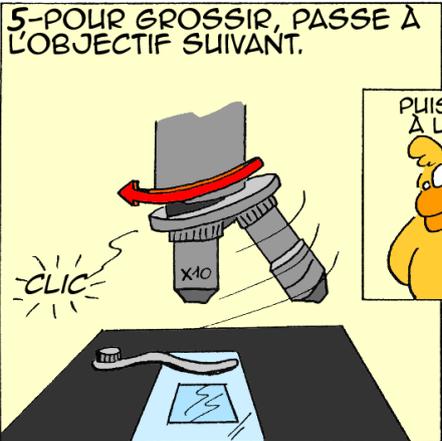
3- REGARDE DANS L'OCULAIRE ET METS AU POINT EN REMONTANT DOUCEMENT LE TUBE OPTIQUE.

ARRÊTE QUAND TU VOIS QUELQUE-CHOSE



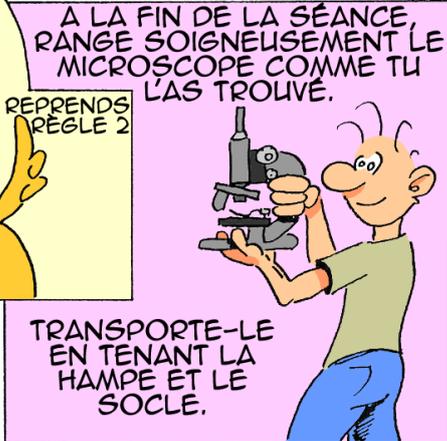
4-CENTRE L'OBJET QUE TU VEUX OBSERVER ET MET AU POINT AVEC LA PETITE VIS.

SUPER!



5-POUR GROSSIR, PASSE À L'OBJECTIF SUIVANT.

PLUS, REPRENDS À LA RÈGLE 2



A LA FIN DE LA SÉANCE, RANGE SOIGNEUSEMENT LE MICROSCOPE COMME TU L'AS TROUVÉ.

TRANSPORTE-LE EN TENANT LA HAMPE ET LE SOCLE.



A BIENTÔT POUR DE NOUVELLES AVENTURES!

J'SUIS UN AS DU MICROSCOPE, MAINTENANT!

COIN!

Michnik



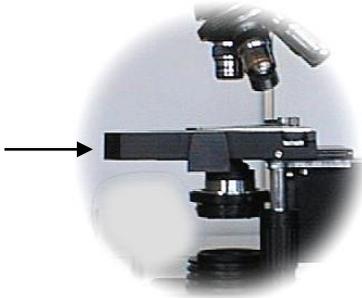
# FICHE d'UTILISATION MICROSCOPE

ANNEXE 4

## Centrer l'objet

Déplacez la lame sur la platine pour placer l'objet observé au centre du champ de vision

Platine



## Choix de l'objectif

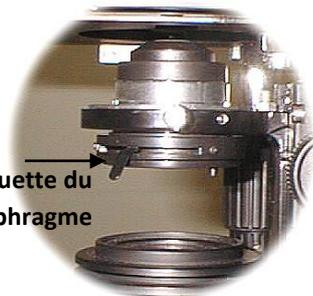
Tournez la tourelle porte objectifs dans l'ordre croissant des grossissements

Grossissement



Oculaire X

Languette du diaphragme



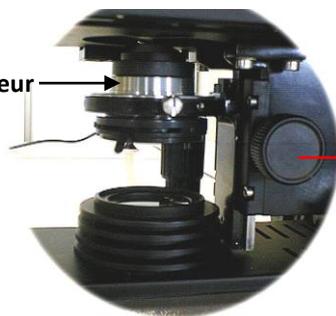
## Diaphragme

Utilisez la languette pour ouvrir ou fermer plus ou moins le diaphragme



Microscope  
binoculaire

Condenseur



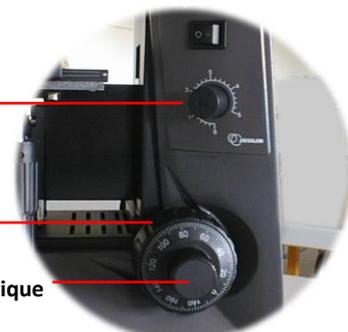
Vis de  
réglage

## Condenseur

Utilisez la vis pour monter ou descendre le condenseur et concentrer plus ou moins la lumière

Bouton du  
potentiomètre

Vis  
macrométrique  
Vis  
micrométrique



## Potentiomètre

Tournez le bouton du potentiomètre de façon à obtenir le maximum de lumière

## Mise au point

Utilisez la vis macrométrique pour la mise au point grossière, affinez avec la vis micrométrique

# UTILISER UN MICROSCOPE



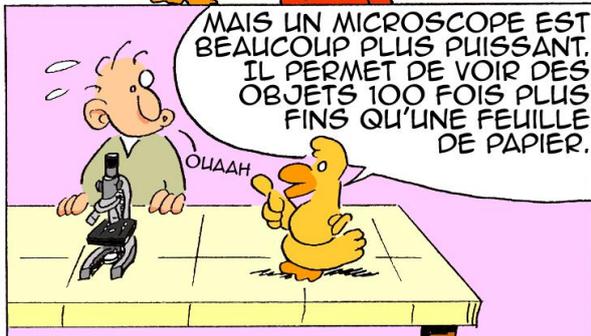
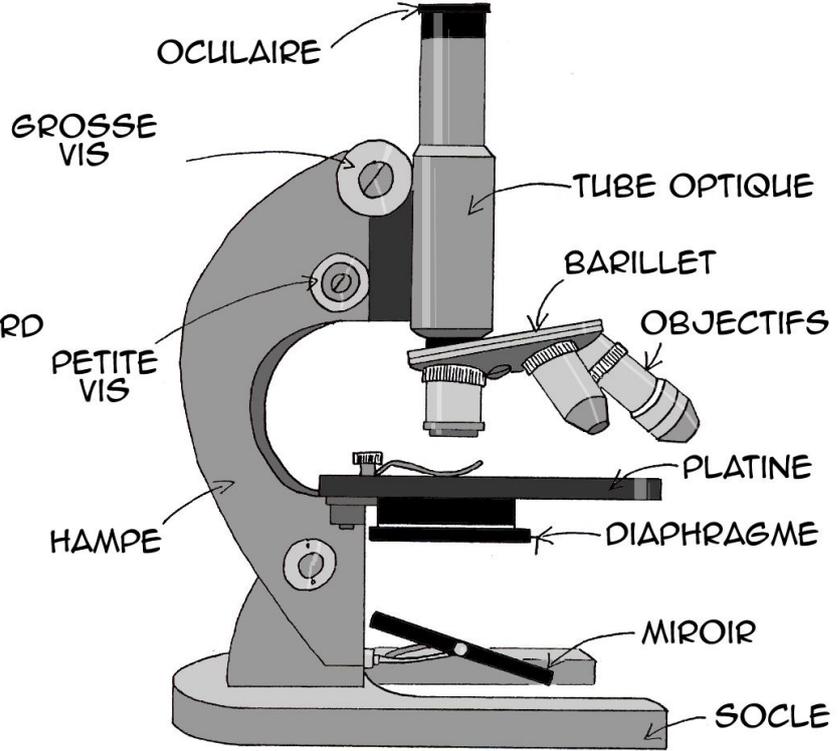
C'EST PARTI POUR UNE NOUVELLE AVENTURE!

AVEC ANATIDE LE CANARD

HÉÉ! LE MICROSCOPE RESSEMBLE UN PEU À UNE LOUPE BINOCLULAIRE!



OUI, LES RÈGLES DE TRANSPORT ET DE RANGEMENT SONT LES MÊMES.



MAIS UN MICROSCOPE EST BEAUCOUP PLUS PUISSANT. IL PERMET DE VOIR DES OBJETS 100 FOIS PLUS FINS QU'UNE FEUILLE DE PAPIER.

OHAHAH



POUR CELA, L'OBJET DOIT ÊTRE TRAVERSÉ PAR LA LUMIÈRE : IL FAUT LE PLACER ENTRE UNE LAME ET UNE LAMELLE.

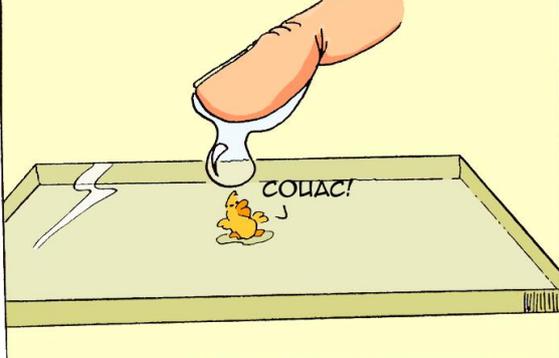
LAMELLE (TRÈS FINE)

LAME PORTE-OBJET (ÉPAISSE)

OBJET À OBSERVER

C'EST MOI!

PLACE-MOI SUR LA LAME ET DÉPOSE UNE GOUTTE D'EAU OU DE COLORANT.



COUAC!

ENSUITE, POSE UN CÔTÉ DE LA LAMELLE SUR LE BORD DE LA GOUTTE.



ENFIN, BAISSÉ LA LAMELLE COMME UN CAPOT DE VOITURE.



ET N'OUBLIE PAS D'ÉPONGER LE LIQUIDE QUI DÉBORDE!

1



## LISTE DES PRODUITS et LEUR UTILISATION

ANNEXE 5



<b>Conservation et Fixation</b>	Eau de mer	Pour la conservation courte des animaux marins vivants
	Alcool à 70° ou 90°	Dilué dans l'eau de mer (5 à 10 %) – sert à la fixation et remplace l'eau des cellules – peut s'utiliser jusqu'à 90 %
	Formol	Produit toxique à l'inhalation – Dilution à 5% ou 10 %
	Alcool acétique	1/3 acide acétique (ou vinaigre blanc) + 2/3 alcool à 90°
	Liquide glycéricé	50% alcool + 50% glycérine
<b>Produits de Préparation</b>	Eau de Javel	Produit toxique au contact – sert à dissoudre les tissus mous – s'emploie généralement pure – rinçage de la préparation nécessaire (eau) –sert aussi de désodorisant et détruit les germes bactériologiques
	Soude caustique	Produit toxique au contact – sert à dissoudre les tissus mous – s'emploie généralement à 20% – peut se remplacer par du produit à déboucher les éviers – on doit rincer les préparations avec une solution acide (vinaigre)
	Potasse	Sert à dissoudre les tissus mous
	Eau du robinet ou eau distillée	Pour la préparation : rincer et éviter la dessiccation des tissus.
	acétone	Employé à 50 % avec de l'alcool, sert de solvant pour effectuer des chromatographies
<b>Colorants</b>	Encre de chine	Colorant noir -
	Rouge neutre	un bon colorant pour l'observation vitale des protozoaires et pénètre dans la cellule végétale sans lui être toxique.
	Eosine	En cytologie, elle colore le cytoplasme en rose. Achat en pharmacie.
	Bleu de méthylène	colorant extrêmement pratique pour étudier les cellules en milieu aqueux – vendu en pharmacie sous le nom de « collubleu » - utilisation en dilution à 5%
	Lugol ou solution iodée	Le lugol colore les membranes cellulaires et les noyaux en brun, le cytoplasme en jaune, les amidons en bleu -(Iode : 8 g - Iodure de potassium : 12 g - Eau distillée : 200 cm <sup>3</sup> )
<b>Produits Divers</b>	Menthol en cristaux	Sert à anesthésier les animaux – pur ou dilué dans de l'alcool
	Chlorure de magnésium	Sert à calmer les animaux marins
	MS 222	tricaine methanesulfonate Anesthésiant pour poissons (aquariophilie)
	Chlorure de potassium	Sert à stresser les animaux vivants (ex reproduction des oursins)
	Vernis incolore	Vernis à maquette ou vernis à ongle transparent – sert à sceller les préparation de lames
	Baume du canada	sert à sceller les préparation de lames – se conserve assez mal – doit être préchauffé



### 1 - Télécharger Virtual Dub 1.9.11

Téléchargement <http://www.virtualdub-fr.org/>  
(Ce site contient de nombreux didacticiels en français)

#### Installation

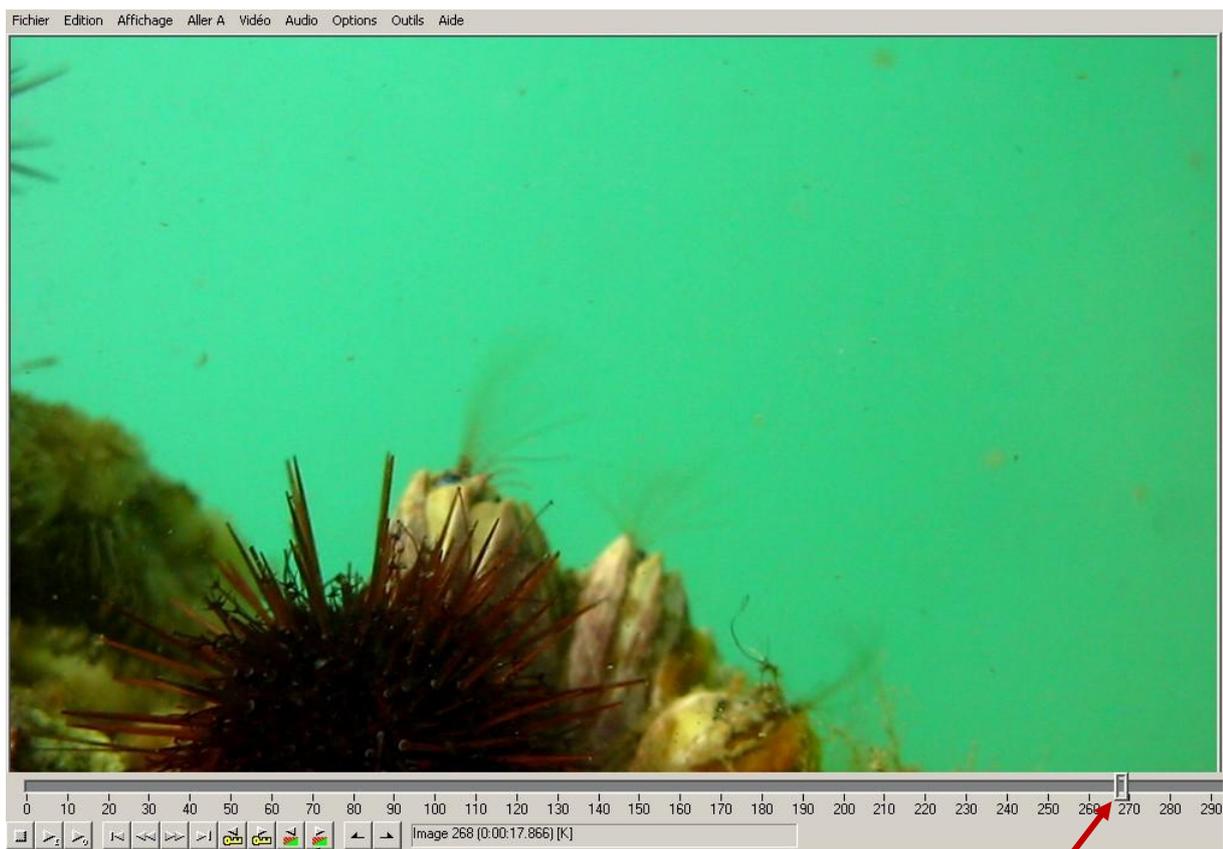
- Sélectionner le langage : français et accepter les termes de la licence
- Sélectionner les plugs in nécessaires (AVI et Quick time)

### 2 - Couper une vidéo

Ouvrir Virtual Dub

Ouvrir la vidéo à travailler (fichier → ouvrir)

Faire défiler la vidéo pour déterminer les endroits à sélectionner (lecture, stop ou barre de défilement)



Lecture Stop Marqueur Début Fin

Barre de défilement

Poser les marques de sélection (marqueur Début et Fin) qui se positionneront sur la barre de défilement

## Encoder et Sauvegarder la vidéo

Vérifier que l'option copie de flux direct est bien sélectionnée

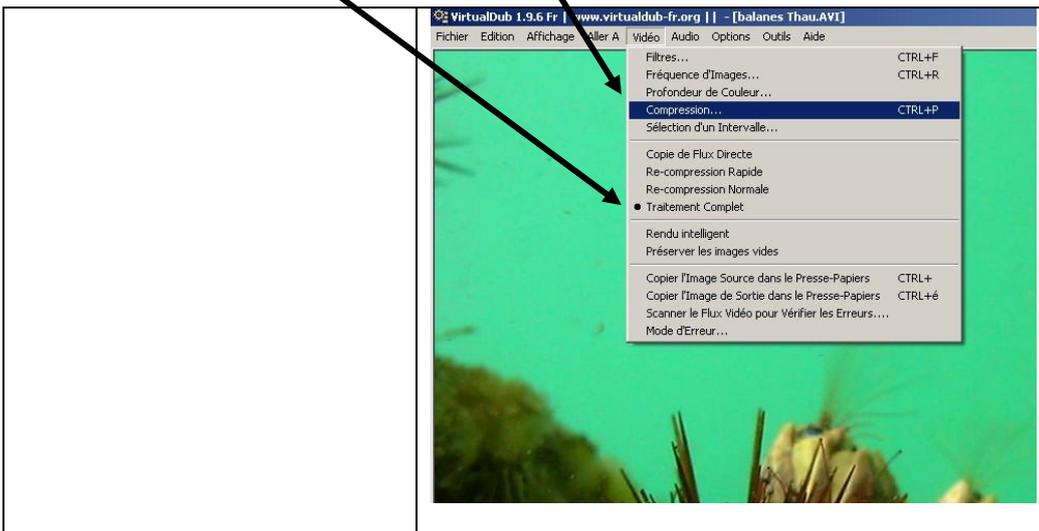
Vidéo → Copie de Flux direct

Vous pouvez déconnecter le son : Audio → Sans audio

Sélectionner l'encodage

1 - Vidéo → Traitement complet

2 - Vidéo → Compression



Sélectionner l'encodage : de préférence DivX 6.9. 2 Codec)

(Autre solution : sauvegarder directement en fichier .avi ou .wav)



## Convertir des vidéos

Ouvrir les fichiers vidéo

Comprimez au format choisi en suivant la même

Sauvegarder la vidéo traitée de préférence en la renommant : fichier → enregistrer

Pour les autres tutoriels, on se reportera utilement au site <http://www.virtualdub-fr.org/>



# TUTORIEL IMAGEJ

# ANNEXE 7

Développé initialement pour des applications biomédicales, ImageJ est un éditeur d'images libre, en anglais, écrit en java, ce qui permet de nombreux scripts. Il permet d'appliquer de nombreux calques et macros et de sauvegarder en de nombreux formats.

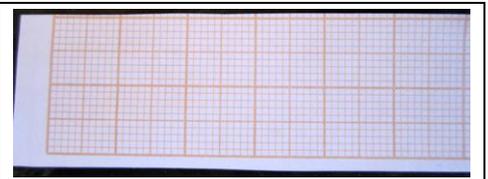
## 1 - Télécharger ImageJ

Téléchargement <http://rsb.info.nih.gov/ij/>  
(Ce site contient de nombreux tutoriels en anglais)

Installation  
Accepter les termes de la licence

## 2 – Prendre les photos et échantillonner

On pourra utiliser toute sorte d'étalon, par exemple du papier millimétré, dont on aura coupé une bande équivalente à une lame. L'APN en mode automatique, on prendra 2 clichés, 1 de l'échantillon de mesure, l'autre du sujet d'observation, avec le même rapport de grossissement de l'appareil optique.



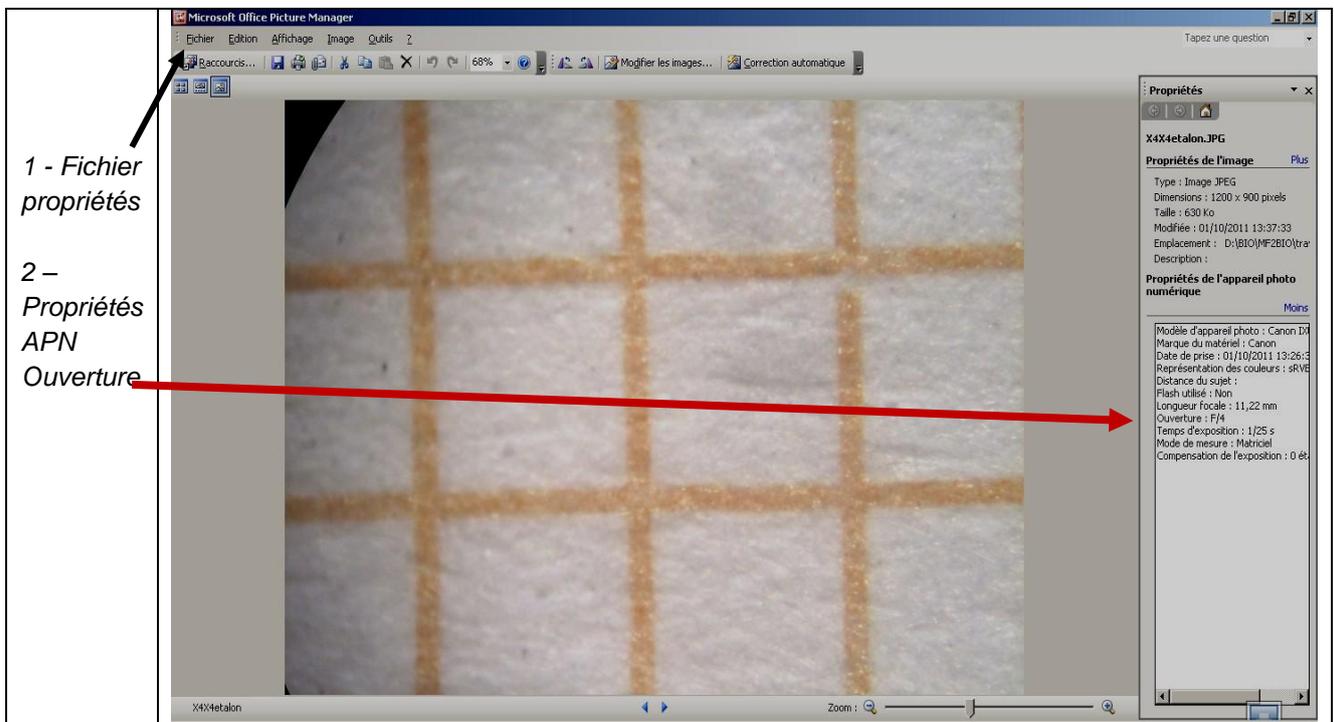
Renommer soigneusement ses clichés : de type « xobjectifx focale nom »

L'objectif est celui du binoculaire et la focale celle de l'APN

Pour trouver la focale de son appareil photo,

Clic Droit sur la photo → Ouvrir avec [Microsoft Office Picture Manager](#)

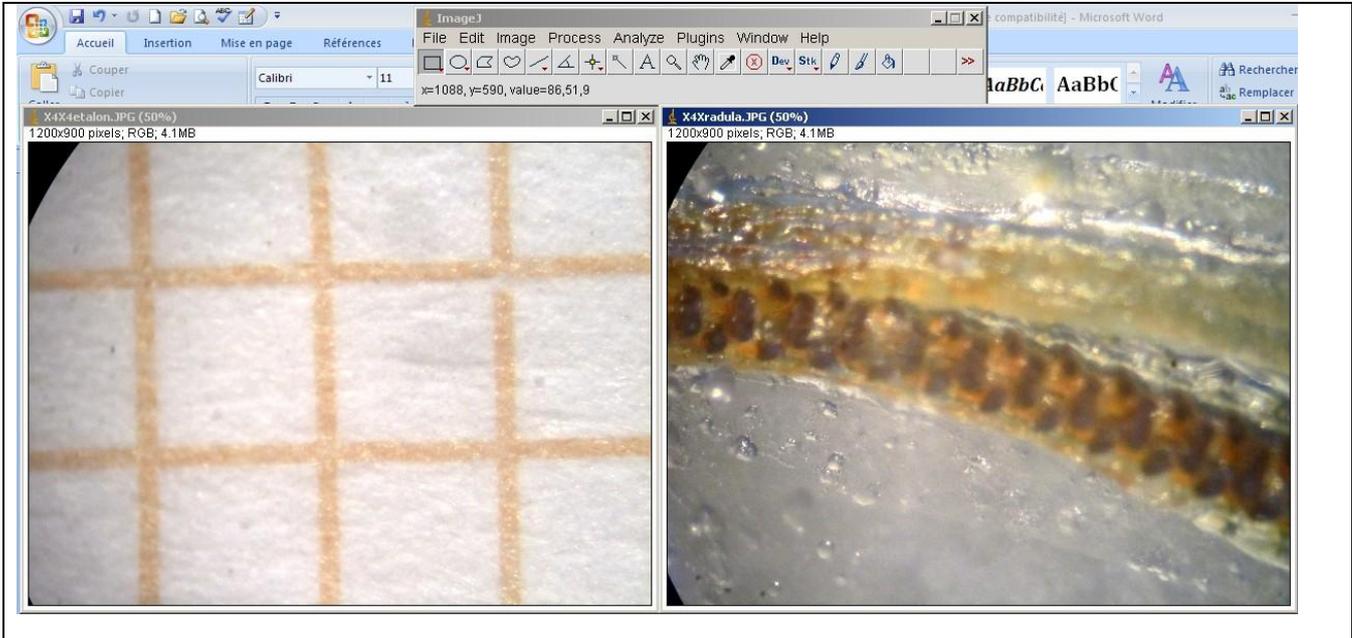
Fichier → propriétés → « Plus » pour propriétés de l'appareil photo numérique à droite de l'écran.



Ex dans notre cas : X4\_X4\_Etalon  
X4\_X4\_Radula

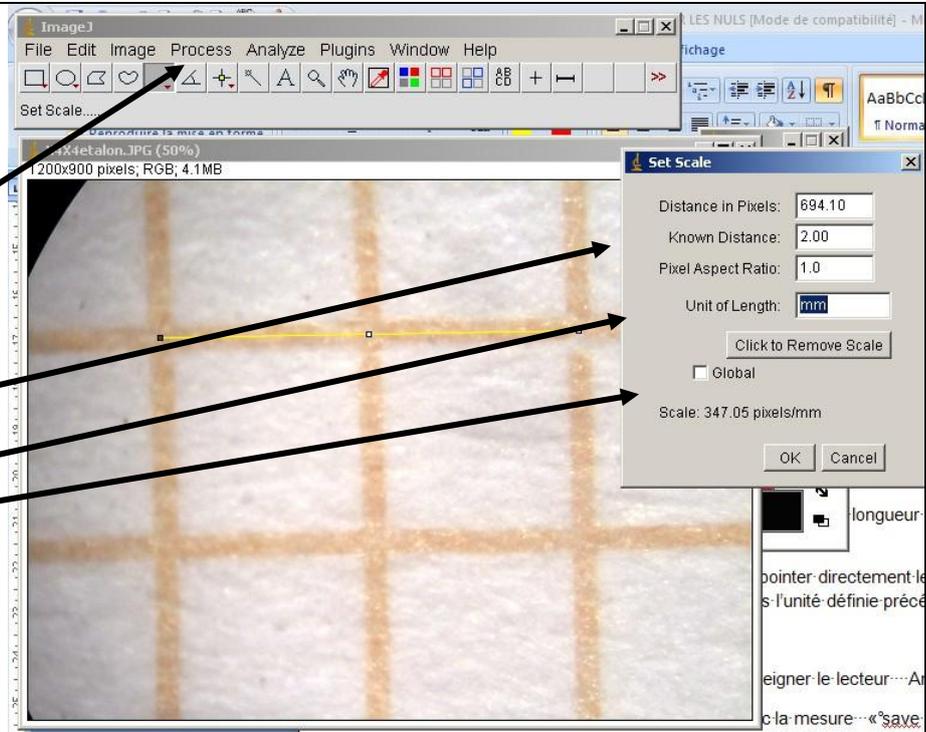
### 3 – Effectuer une mesure

- Ouvrir ImageJ
- Ouvrir les 2 images et les positionner côte à côte
- File → Open



#### Etalonner la 1<sup>ère</sup> image

- Etalonner la 1<sup>ère</sup> image, celle du papier millimétré en définissant l'échelle et l'unité
- Sélectionner l'outil trait (« straight »)
- Analyse → set scale
- renseigner la distance connue  
Known distance
- Et l'unité unit of length (cocher la case  Global)
- dans notre exemple Known distance 2.00 est la longueur connue et unit of length (l'unité) le mm



#### Mesure du sujet

Passer sur la fenêtre de la photo du sujet à mesurer

Pointer directement le segment sur le détail à mesurer, la longueur s'affiche directement en haut (length) dans l'unité définie précédemment

Ex : Ici l'écartement de 5 dents de la radula d'une patelle = 1,35 mm

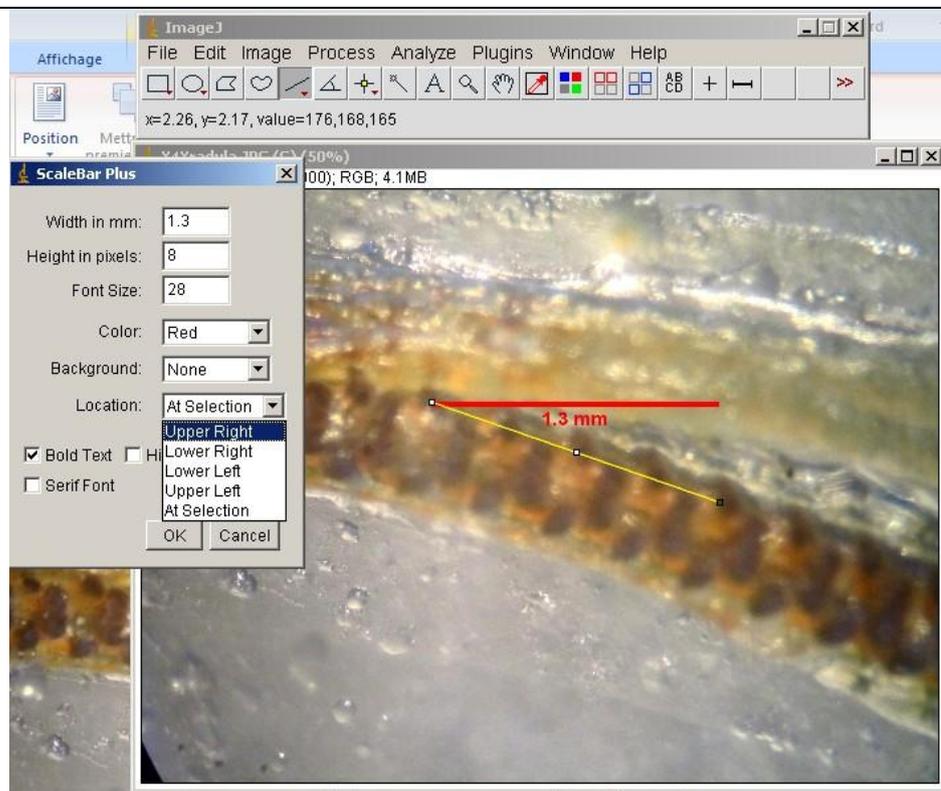
### Afficher une échelle de mesure sur sa photo

On peut poser une échelle pour renseigner le lecteur

Analyse → Tools → Scale bar

Définir les modalités de la légende

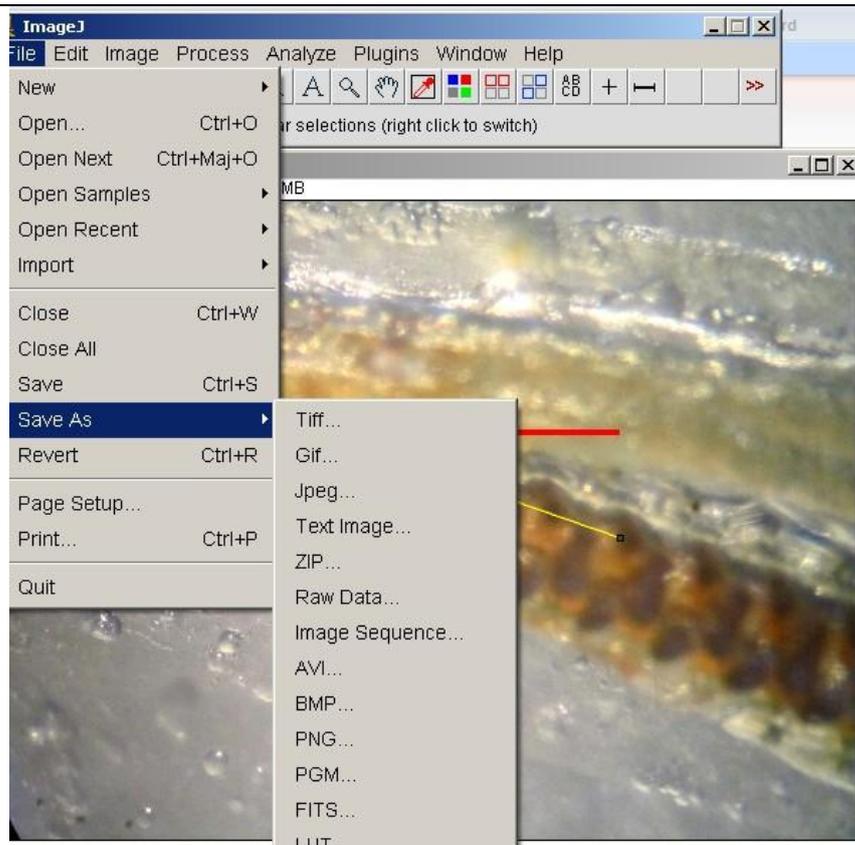
Couleur de la légende, position, mesure, police...



### Sauvegarder les photos annotées

Penser à sauvegarder la photo légendée

File → Save as



# REMERCIEMENTS

*Je tiens à remercier tous les plongeurs biologistes qui ont partagé avec moi la passion des découvertes, des raretés sur lesquelles on s'interroge, des défis biologiques qui nous font tous progresser.*

*Merci à mes maîtres en la matière, toujours présents, toujours soucieux de mettre à notre portée leurs connaissances aussi vastes soient-elles. Leur patience m'aura beaucoup appris et beaucoup fait progresser.*

*C'est pour rendre hommage à ces amitiés et dans la continuité de l'esprit fédéral de transfert que je me suis plongée dans l'élaboration de ce petit fascicule, qui n'a pour autre ambition que de mettre à la portée de tout un chacun ces petites bribes de savoir que l'on accumule au cours du temps, après bien des ratages et des erreurs. Puisse cette expérience aider les timorés à franchir le pas de la microscopie et partir à la découverte d'un monde encore plus vaste que celui que nous côtoyons avec notre scaphandre.*

*Merci à mes initiateurs en la matière, Annie Lafourcade, Jean Pierre Castillo, Frédéric Boue, Pascal Zani, Claude et Josiane Wacquant...et tous les compagnons de route que j'ai eu l'occasion de côtoyer au cours des nombreux stages de biologie effectués dans le cadre fédéral.*