

Tout ce qui vit DANS L'EAU, courante, stagnante ou salée.

Daniel Crabbé¹ & Marcel Lecomte

Introduction

Je devais avoir une dizaine d'années quand, comme beaucoup de gamins de cet âge (cela reste malheureusement une passion essentiellement masculine), j'ai reçu mon premier microscope. Comme beaucoup de petits garçons, j'ai également commencé par mettre un cheveu en dessous de l'objectif, mais il faut avouer qu'on s'en lasse très vite.

Vint ensuite la goutte d'eau, d'abord naïvement celle du robinet et ensuite celle du pot de fleur de maman. Et là, c'est l'émerveillement qui commence : un monde incroyable et grouillant se livre à nous. Malheureusement, faute d'un bon matériel et de connaissances suffisantes, l'exploration des gouttes d'eau se termine bien vite. Cette passion de jeunesse se terminant alors souvent par l'observation de l'éternel épiderme d'oignon.



M. Lecomte - 2014 ©

Si vous lisez ce texte aujourd'hui, cela signifie probablement que votre passion vous a repris ou ne vous a pas quitté. Vous possédez maintenant un microscope plus performant et vous désirez acquérir les connaissances utiles à l'exploration de la vie dans les gouttes d'eau. Eh bien, vous avez grandement raison et cela pour plusieurs raisons. Tout d'abord, le milieu aquatique est partout présent et disponible à toute saison. Cela va bien sûr de la rivière à l'étang, mais cela passe également par la flaque d'eau, par la gouttière un peu encrassée, le vase de fleurs, les mousses gorgées d'eau ; bref, un peu partout et n'importe quand. Ensuite, en plus d'être omniprésent, le milieu aquatique est très varié. Vous aurez l'occasion d'y observer une infinité d'espèces recouvrant une bonne partie de la systématique animale et

végétale. Si la nomenclature du vivant vous intéresse, vous trouverez là une source inépuisable de sujets à identifier.

Si c'est l'éthologie et l'écologie qui vous intéressent d'avantage, vous ne serez pas déçu non plus. Tout ce petit monde vit en communauté, et en perpétuel recherche d'équilibre dans un milieu qui de par sa nature peut rapidement évoluer. Le comportement de ces populations est souvent fascinant et il est parfois difficile de mettre de côté les projections anthropomorphiques. La vie microscopique de l'eau que l'on appelle communément le plancton, est également d'une importance environnementale capitale. Sont repris sous ce vocable de plancton tous les organismes aquatiques ayant une taille comprise entre moins de 1 μm (1/1.000ème de millimètre) et 2 mm.

Même si Ernst Haeckel le considérait à la fin du XIXe siècle comme enchanteur mais négligeable, celui-ci est d'une importance fondamentale à la vie sur terre. Pour vous donner une idée de son importance, le phytoplancton (celui capable de faire la photosynthèse) représente à lui seul 50 % de la biomasse produite sur terre et génère 75 % de l'oxygène planétaire. On se rend donc compte de son importance dans les chaînes alimentaires. Le plancton n'a pas attendu l'époque actuelle pour être important. En effet, ce sont probablement les cyanobactéries présentes il y a 3,8 milliards d'années dans l'océan primitif qui ont capté l'excès de CO_2 de l'atmosphère et l'ont enrichie en oxygène, la rendant ainsi respirable et permettant à la vie de s'affranchir du milieu aquatique. Le plancton à « squelette » est également responsable de la formation de nombreuses roches sédimentaires alors que le phytoplancton à l'origine du tant convoité pétrole.

A l'heure actuelle, le plancton continue à jouer ces différents rôles en consommant notamment une bonne partie du CO_2 qu'il transformera en matière organique, dont une partie sera stockée dans le fond des océans pour quelques millénaires. Le phytoplancton est une véritable pompe à gaz carbonique. De par sa capacité à produire énormément de matière organique, le phytoplancton n'allait pas mettre longtemps à intéresser le « génie » humain. De nombreuses études sont en cours pour produire du phytoplancton qui pourrait être utilisé comme complément alimentaire ou biocarburant.

J'espère vous en avoir dit assez pour vous donner l'envie d'aller plus loin et de plonger dans les gouttes d'eau, en compagnie de notre ami Marcel Lecomte.

La photo représente une daphnie (*Daphnia pulex*).

Daniel Crabbé, 15/03/2014

¹ Daniel Crabbé, Ham-sur-Heure (B.) - daniel.crabbe@village.uunet.be

Généralités



Ce que nous allons découvrir dans les quelques pages qui suivent ne constituera qu'une infime partie du monde qui s'ouvre à nos yeux, lorsqu'on plonge l'objectif du microscope dans l'eau de l'étang ou d'une simple mare.

Ce petit aperçu ne sera qu'une porte entrouverte sur ce microcosme, avec une seule idée en tête : « l'envie de vous donner envie ». Nous ne chercherons pas à classer ou donner des clés d'identification : il existe une littérature très abondante sur ces différents sujets.

Le végétal et l'animal vont se confondre, car nous allons rencontrer des algues qui se déplacent et des animalcules contenant de la chlorophylle.

1. LA RÉCOLTE

Elle est simple et se pratique de diverses manières :

++ Le flacon en verre attaché à un bâton et qui permet de prélever de l'eau à diverses profondeurs.

++ Un petit grappin (gros hameçon à trois branches) peut se substituer au bocal ci-dessus en permettant d'arracher de petites

quantités d'algues ou de plantes immergées.

++ Le godet avec lequel on va prélever le milieu benthique (boue et sédiments).

++ Récolter des feuilles de plantes aquatiques, des algues envahissantes ou des élodées, et les placer dans un cristalliseur avec un peu d'eau prélevée au même endroit.

++ Racler avec un canif la surface des tiges et feuilles des plantes aquatiques.

++ Laver les galets gluants dans un peu d'eau avec une brosse à dents.

++ Presser les algues filamenteuses pour en extraire l'eau et la récolter dans un bocal.

++ Ne pas négliger les « bêtes » flaques d'eau temporaires, les fonds de corniches, les murs suintants, l'eau des huîtres (ne pas oublier de manger l'huître !).

++ Déposer de la mousse dans un cristalliseur et l'arroser abondamment d'eau de pluie. Au bout de quelques temps vous y trouverez plein de choses intéressantes et notamment de magnifiques et captivants tardigrades.

++ Le filet à plancton (avec des mailles de l'ordre de 0,05 mm), qu'on va promener de gauche à droite dans le milieu à explorer. Celui-ci peut être bricolé de façon classique avec de la soie à bluter, qui est relativement onéreuse et peut être remplacée par de la soie pour sérigraphie (prendre une maille de 120T (300 US). Pour une dizaine d'euros, vous pouvez vous fabriquer deux filets de 20 cm de diamètre. Les méthodes de fabrication ne manquent pas sur internet.

++ Pour transporter vos prélèvements, privilégiez les récipients en verre à large col se fermant hermétiquement et relativement volumineux (pots à confiture, bouteilles de jus de fruit). Ne remplissez pas les bocaux au-delà de la moitié afin de laisser suffisamment d'oxygène à la population que vous aurez prélevée. De retour chez vous, pensez à ouvrir les bocaux.

2. LA CONSERVATION DES PRÉLÈVEMENTS

Nous les plaçons dans des flacons fermés, de 250 à 500 cc, au frigidaire, où ils vont se conserver assez longtemps (nous travaillons encore à ce jour sur des échantillons utilisés lors du séminaire de microscopie organisé en 2012, à Massembre). Il est préférable d'observer du matériel vivant, car après fixation, nombre d'organismes à cuticule molle et non siliceuse subissent des déformations qui rendent toute identification quasi impossible.

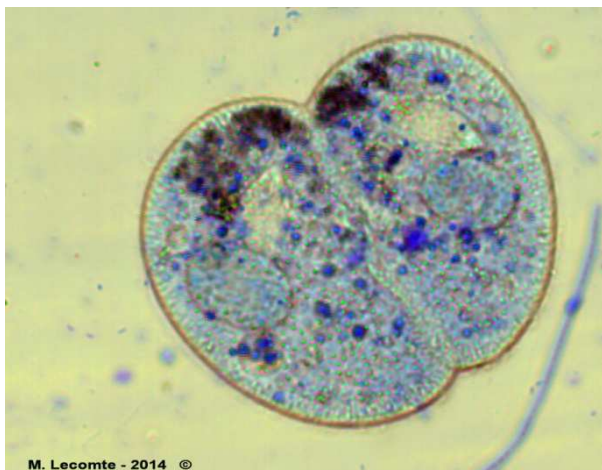


3. LA CULTURE

Elle est rendue possible grâce au développement de l'aquariophilie ; dans les milieux spécialisés, on peut se procurer sans difficulté des daphnies, des paramécies, des nauplies d'*Artemia*, différentes sortes d'algues ... Lancer des élevages est quasi un jeu d'enfant, avec ainsi à disposition, du matériel de travail à volonté.

On peut aussi initier des élevages plus personnels en remplissant des bocaux à demi avec de l'eau de pluie non filtrée, dans laquelle on va placer des tiges de fleurs, des débris végétaux ou du foin sec. Placer le tout à l'ombre, sans couvercle. Un voile bactérien va d'abord apparaître, et servira de nourriture aux Flagellés et aux Infusoires². Le nec plus ultra est la réalisation d'élevages purs. Ce type d'élevage devient utile lorsque l'on veut identifier avec précision certaines espèces, préparer des lames définitives, se livrer à différents types de colorations, observer les modes de reproduction, Pour y arriver, il suffit de prélever deux trois exemplaires de l'espèce que l'on veut élever à l'aide d'une pipette Pasteur sous une loupe binoculaire ou avec un microscope inversé. Même si cela paraît compliqué, on y arrive très bien avec un peu de patience et d'exercice.

Il faut ensuite nourrir l'animal, ou l'algue que l'on veut élever. Pour les algues, certaines se développent très bien en mettant dans l'eau une ou deux gouttes d'engrais liquide universel. Certaines sont très compliquées à élever car elles ont des conditions de croissance beaucoup plus strictes comme par exemple le pH de l'eau. Pour les animaux (Protozoaires y compris), il est utile de connaître un peu l'écologie de l'espèce que l'on veut élever. Certaines se contentent d'algues, d'autres se nourrissent de bactéries ou d'autres protozoaires. On en vient parfois à devoir élever certaines espèces pour en nourrir d'autres. Si vous voulez vous lancer dans l'élevage, la levure de boulanger est appréciée par de nombreux ciliés.



4. L'OBSERVATION DE PIÈCES VIVANTES

Fabrication d'une lame « aquarium » : l'idée est de reproduire un micro monde hermétique à l'abri du dessèchement, permettant l'observation répétée, durant plusieurs heures.

++ Prendre une LCO ronde ou carrée de 18 mm, et à l'aide d'une fine spatule, déposer un léger bourrelet de vaseline sur le pourtour (2 mm d'épaisseur).

++ Déposer une goutte du liquide à observer au centre d'une LPO.

++ Poser délicatement la LCO vaselinée sur la goutte et exercer une légère pression pour remplir d'eau tout l'espace sous la LCO ; vous obtenez ainsi un milieu

fermé, insensible à la dessiccation, où vous pourrez voir évoluer en toute liberté les occupants du lieu. Comme on travaille en général avec des objectifs faibles (x4 ou x10), l'épaisseur du montage réalisé ne constitue pas un désagrément.

++ Une telle lame peut être conservée plusieurs jours si on prend soin en dehors des observations de la poser dans un petit récipient clos dont on tapisse le fond de papier absorbant imbibé d'eau.

UNE VARIANTE PERSONNELLE : nous préférons utiliser une lame creuse, qui permet de maintenir la goutte au centre de la lame, dans la cavité existante, et nous lutons à la vaseline.

5. LA CONSERVATION DE TRACES

++ **LA PHOTOGRAPHIE** : nous allons rencontrer ici les pires difficultés car tout ce qui bouge dans la préparation, se déplace souvent très vite, rendant toute capture de photo quasi impossible. Il va falloir utiliser des techniques de narcose ou de ralentissement, que nous développerons plus loin.

++ **LA BANDE VIDÉO** : c'est la solution idéale si vous disposez de matériel photographique (reflex ou caméra) disposant de cette option. Une pause effectuée au bon moment permet une capture d'écran.

++ **LA PRÉPARATION DÉFINITIVE** : nous n'aborderons pas ce chapitre, car les résultats sont souvent décevants, voire nuls, du fait que nombre de fixateurs désagrègent les parties molles des éléments observés. Arriver à des résultats probants nécessite l'utilisation de produits et de matériel relevant de laboratoires spécialisés, et inaccessibles à des amateurs, même passionnés.

Deflandre (1923) préconise une technique qui donne parfois des résultats corrects : mélanger intimement une goutte de liquide à observer et une goutte de nigrosine à 5 % ; réaliser un frottis ; faire sécher rapidement sur une

² Les anciens auteurs utilisaient ce nom parce que ces organismes apparaissent en grand nombre dans toute infusion de débris végétaux.

surface bien horizontale, sans chauffer (éventer) ; poser une goutte de BC et une LCO ; certaines espèces vont éclater, mais d'autres se préparent ainsi de manière admirable.

6. LA TECHNIQUE DU RALENTISSEMENT

Nous en avons expérimentées plusieurs.

++ Séguy préconise les fibres de coton hydrophile dilacéré, qui vont gêner le déplacement des pièces observées ; c'est assez efficace, mais guère esthétique pour la photographie.

++ Le même auteur recommande une solution +/- épaisse de gomme arabique.

++ La glycérine donne les mêmes résultats : en mélanger une goutte avec une goutte d'eau prélevée.

++ D. Crabbé utilise la colle à tapisser, si possible sans antifongique ; préparer une solution à 10 % dans de l'eau non chlorée, puis en mélanger une goutte avec une goutte d'eau prélevée.

Tout produit de consistance +/- épaisse, gélifiée, est susceptible de convenir, s'il ne comprend pas de composés mortels pour les organismes.

++ Il est également possible de ralentir les individus par compression. Pour ce faire, placer une petite quantité de vaseline aux quatre coins d'une LCO et la placer sur une goutte de la préparation. La technique consiste ensuite à écraser très délicatement la lamelle à l'aide d'une aiguille montée tout en observant au microscope pour évaluer le résultat. Il faut y aller très délicatement et progressivement pour éviter que l'objet de votre curiosité n'explode. Si la température est supérieure à 22 °C, la vaseline peut être remplacée par de la lanoline.

7. LA NARCOSE

Elle consiste à « endormir » les sujets, jusqu'à la mort.

La littérature spécialisée nous parle de la liqueur de Rousselet (3 cc de chlorhydrate de cocaïne à 2 %, 1 cc de méthanol pur & 6 cc d'eau), ou de la formule modifiée par De Beauchamp (0,5 g de chlorhydrate de cocaïne à 2 %, 5 cc de méthanol absolu & 5 cc d'eau) ... mais vous imaginez qu'un des composants n'est guère facile à trouver. Ajouter 1 goutte d'anesthésique dans 1 cc d'échantillon, et répéter toutes les 5' jusqu'à narcose.



H. Taylor recommande la mercaine (ou bupivacaine), utilisée par les dentistes, en solution à 0,5 %.

Au su de ses propriétés sédative et léthargiques, nous avons expérimenté l'hydrate de chloral à 5 et 10 %, mais sans succès valable.

Grâce à un ami médecin, nous avons pu nous procurer de la xylocaïne à 1 % (chlorhydrate de lidocaïne), un anesthésique à usage local ; les résultats très efficaces, après avoir trouvé le bon dosage 2 cc de xylocaïne dans 5 cc de sérum physiologique. La solution pure s'avère trop radicale car, après essai, elle a « explosé » tous les spécimens traités.

M.F. Canella préconise le chlorure de magnésium en solution aqueuse à 1 % ; en ayant retrouvé dans nos tiroirs, nous l'avons expérimenté d'abord à 10 % (suite à une erreur de manipulation) : les résultats sont très valables, et quasi instantanés, voire même trop rapides, car il se produit un phénomène presque immédiat de plasmolyse, qui fait littéralement exploser les organismes et les détruit en moins d'une minute. Le retour à une solution à 1 % est moins radical. Nous pensons que nous obtiendrions le même résultat avec du chlorure de sodium.

Dans la solution de Corri, les composants sont plus faciles à trouver : 10 cc de méthanol à 96 %, 0,15 cc de chloroforme et 90 cc d'eau distillée. Comme pour toutes les narcoses, il est conseillé d'ajouter progressivement la solution et d'observer le résultat avant de réaliser le montage.

Le bleu de méthylène et la fuchsine acide en solution classique jouent bien leur rôle de colorant, avec une finalisation létale.

Organismes aquatiques.

475. — *Méthodes d'examen.* — Les collections d'eau où poussent des plantes aquatiques contiennent toujours des organismes errants, Infusoires, Rotifères, Crustacés, Acariens, etc., dont la transparence facilite l'étude. Pour se procurer des matériaux d'étude, il suffit de pêcher avec un filet à mailles assez fines et de laver le filet dans un seau ou dans un bocal. On peut encore attirer une touffe d'herbes submergées et l'emporter telle quelle dans un linge mouillé ou dans une boîte de fer blanc. Ces herbes, placées dans un aquarium, délivreront les organismes qu'elles ont retenus au moment de leur sortie de l'eau.

476. — Il est encore facile de se procurer des Infusoires et des Amibes (716, 766). Un bocal à large ouverture est rempli d'eau. Quelques feuilles fraîches froissées de laitue ou de mâche, ou une pincée de foin sec, seront placées dans l'eau. Au bout de deux ou trois jours, les Infusoires apparaissent en grand nombre. Ces organismes pourront être étudiés à l'état vivant. Une goutte de cette macération est puisée avec une pipette à la surface et déposée sur une lame.

477. — L'observation peut se faire telle quelle avec un objectif faible. Elle sera facilitée si la goutte d'eau est recouverte d'une lamelle. Si cette goutte est trop épaisse,

CLXXVI

les organismes seront entraînés sur les bords ; dans le cas contraire, s'il y a trop peu d'eau, ils risquent d'être écrasés par l'adhérence de la lamelle sur le porte-objet.

Une lamelle, essuyée avec précaution au moyen d'un chiffon de toile usée, sera saisie par une pince douce à mors plat. On la déposera obliquement sur la goutte d'eau, convenablement disposée. Le surplus de l'eau peut être absorbé avec précaution au moyen d'une pipette effilée ou avec une languette de buvard.

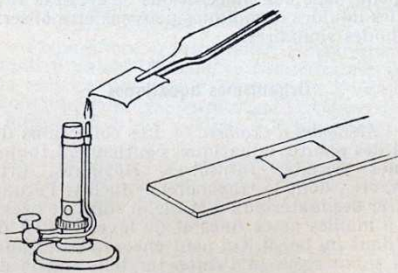


Fig. 45. — Préparation de la cellule de Legendre (Langeron).

478. — Pour empêcher l'écrasement des objets en suspension, on peut placer sous la lamelle de petites languettes de papier ou des petits fragments de coton hydrophile, de moelle de sureau, des petits morceaux de lamelle, des cheveux, etc... M. Legendre déforme les quatre coins de la lamelle dans la flamme de la veilleuse d'un bec Bunsen ; l'épaisseur ainsi provoquée permet l'examen d'objets très délicats sans risque d'écrasement.

Pour immobiliser, comprimer légèrement ou éviter l'écrasement des petits animaux (Daphnies, Copépodes) le Dr M. Langeron utilise la composition suivante :

Cire blanche	2 parties en poids
Térébenthine de Venise	1 partie en poids

4 pages extraites de Ségué, tome I (1949), pour ceux qui n'ont pas la chance de posséder cet ouvrage ; il y explique nombre de techniques à expérimenter à l'occasion.

CLXXVII

fondue sur un feu très doux. Le mélange refroidi doit s'amollir facilement entre les doigts, on l'utilisera avec avantage de la manière suivante :

Placer au niveau des angles de la lamelle quatre petites boules de cire pétrie entre les doigts. L'animal est posé dans une goutte d'eau entre les boules. On recouvre avec la lamelle. On exerce une pression graduée sous le microscope jusqu'à obtention du résultat cherché. L'excès de liquide est absorbé par un petit morceau de papier buvard ou à la pipette.

479. — Les préparations qui nécessitent un examen prolongé seront bordées pour éviter le dessèchement. Les bords seront recouverts d'un peu de paraffine appliquée au fer chaud ou de vaseline ou de lanoline étalées au pinceau. Pour que les substances ainsi appliquées puissent adhérer à la surface du verre, il est nécessaire que la lame et le couvre-objet soient parfaitement propres et que le liquide examiné n'ait pas débordé.

Les Infusoires circulent dans la goutte d'eau ; les Amibes, relativement peu mobiles, se reconnaîtront à leur forme et à l'absence de cils.

480. — Les grosses espèces seront étudiées sans lamelle, dans une goutte d'eau que l'on aspire peu à peu avec un petit triangle de papier buvard jusqu'au moment où les mouvements sont impossibles. Il faut maintenir cependant assez d'eau pour que l'animal ne périsse pas et rende, par sa déformation, toute observation impossible.

Le microaquarium peut se confectionner en collant sur une lame, avec du baume du Canada, des bandes de verre découpées dans une autre lame. L'ensemble est recouvert d'une lamelle. Quelques fragments de Spirogyres placés dans l'eau avec les animaux favoriseront l'aération.

481. — *Chambre humide.* — L'examen en goutte pendante ou chambre humide est supérieur à celui entre lame et lamelle. On prépare une lame creuse ou à défaut une lame portant un disque de verre collé au baume du Canada, ou une lame garnie d'une cellule en carton. Une petite goutte du liquide à examiner est placée sur une

E. P. N. XXXIII

7

CLXXVIII

lamelle qui est retournée sur la cellule ainsi disposée. La goutte de liquide doit être très petite pour ne pas toucher le fond de la cellule et éviter que les organismes ne tombent, ce qui interdit l'emploi d'objectifs forts. Les bords des cellules peuvent être enduits de vaseline pour empêcher l'évaporation (99, 100).

Les examens en goutte pendante ou en chambre humide présentent plusieurs inconvénients. Leur épaisseur et le manque de fixité des objets ne permettent pas les fortes amplifications. Il est difficile d'éviter complètement l'évaporation et la formation d'une buée gênante sur les parois non recouvertes de liquide. Les préparations sous l'huile de paraffine réduisent ces inconvénients. Grâce à l'inactivité chimique de cette huile et à sa perméabilité suffisante aux gaz, les organismes vivants peuvent se conserver et se multiplier dans les préparations qu'elle protège.

482. — a. *Préparation sous l'huile.* — Une goutte d'huile de paraffine ou de vaseline médicinale est déposée au centre d'une lamelle maintenue horizontalement au moyen d'un support. Une petite quantité du liquide renfermant les microorganismes à étudier est aspirée au moyen d'une fine pipette. La pointe de la pipette est dirigée au centre de la goutte d'huile. En soufflant légèrement, une gouttelette de liquide sort de la pipette, et s'étale sous l'huile contre la surface du verre. L'excès d'eau peut être aspiré jusqu'à ce que les organismes soient légèrement comprimés entre la lamelle et la couche d'huile. Surveiller l'opération sous le microscope. L'étude s'effectuera à travers la lamelle retournée (144).

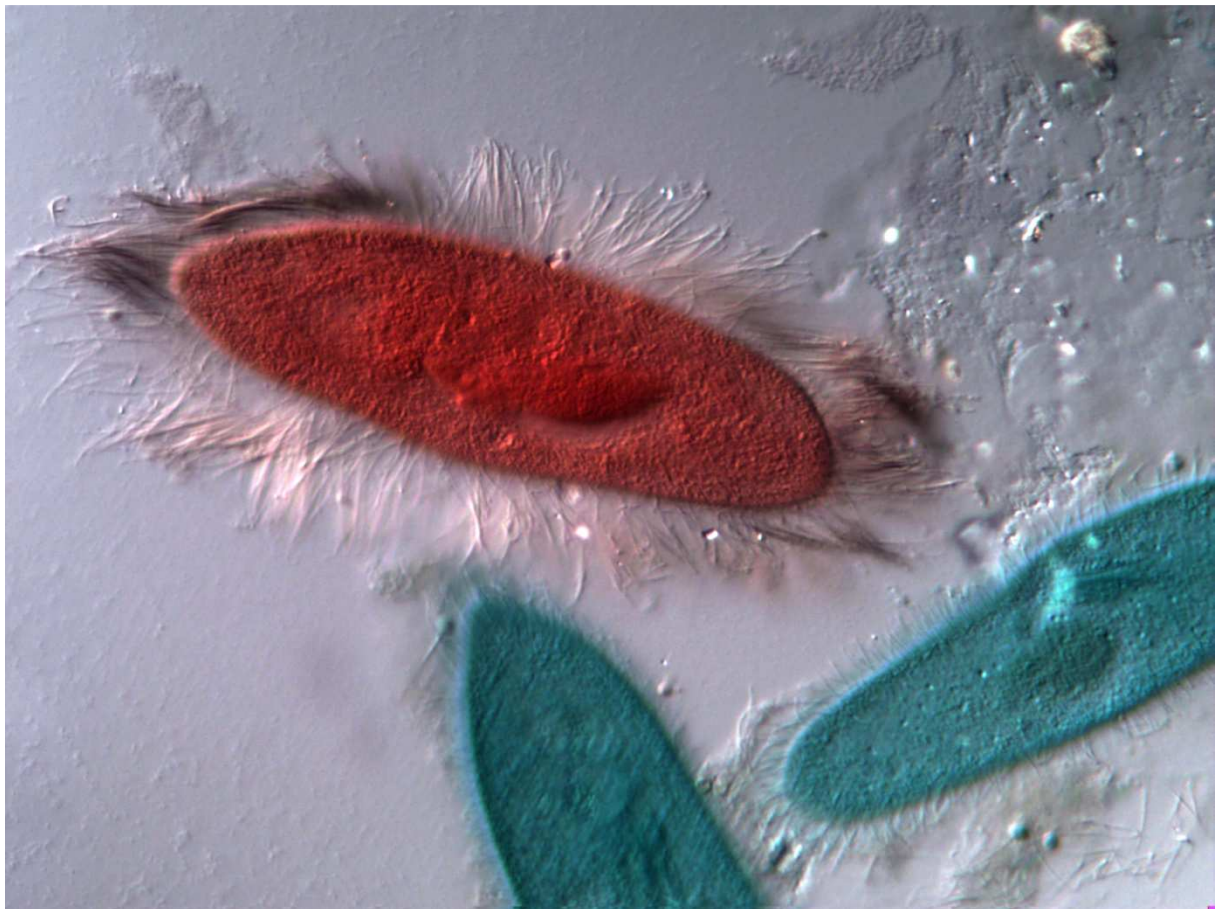
Les liquides aqueux adhèrent au verre plus fortement que l'huile et ne s'en détachent pas, même en couche très mince. Ils sont protégés de l'évaporation par l'huile qui les recouvre. Les gouttes pendantes ainsi enrobées se conservent bien à l'air libre et la chambre humide extérieure est inutile (624 d).

Les Protozoaires

Dans vos différentes infusions ou récoltes, vous aurez l'occasion d'observer de nombreux protozoaires. On regroupait anciennement sous ce nom tous les organismes unicellulaires à caractère animal. Du fait que la différence entre le règne végétal et animal n'est pas toujours évidente, on a regroupé tous ces êtres vivants sous le vocable de protistes. Comme les algues sont traitées dans un autre paragraphe, nous ne parlerons donc ici que des protistes à caractère animal sans rentrer dans la systématique de ces derniers, qui nécessite une bonne documentation, si on veut se lancer dans l'identification.

Dans nos prélèvements, nous aurons l'occasion de rencontrer trois grands types de protozoaires, les Flagellés (munis de 1 ou deux flagelles pour se déplacer → euglènes), les Ciliés, munis de cils pour se déplacer et se nourrir ; ils peuvent être mobiles (paramécies) ou fixés (vorticelles) et les Rhizopodes qui se nourrissent et se déplacent à l'aide de déformations du cytoplasme (amibes).

Les protozoaires ne sont pas faciles à observer et à identifier. La première raison est leur mobilité (surtout les ciliés et flagellés), et la deuxième est leur relative transparence qui complique l'observation de leur structure en lumière transmise. C'est pour cette raison qu'il est intéressant de les observer en lumière oblique, en contraste de phase ou en contraste interférentiel. Malheureusement ces deux dernières techniques ne sont pas à la portée de tout le monde, contrairement aux techniques de coloration que nous allons aborder ici.



Paramecium caudatum, observées en DIC ; les cils vibratiles périphériques sont remarquablement visibles (photo D. Crabbé).

Mise en évidence des vacuoles digestives (coloration vitale)

Ces vacuoles se forment à l'intérieur du cytoplasme autour des particules ingérées par les protozoaires. Pour les observer, on utilise une solution aqueuse de rouge neutre à 1/1000. A une goutte de prélèvement, ajoutez une **très petite quantité** de la solution colorante et observez ensuite avec l'objectif 4X jusqu'à ce que les vacuoles soient colorées. Ce n'est que quand les vacuoles seront bien apparentes que vous pourrez déposer la LCO et poursuivre votre observation. Celle-ci vous permettra de voir le cheminement des vacuoles dans le cytoplasme. La teinte de ces dernières évoluera au cours de la digestion : rouge si le pH est supérieur à 7 et jaune orangé si le pH devient acide.

Mise en évidence des vacuoles pulsatiles (coloration vitale médiocre)

Chez les ciliés, les vacuoles pulsatiles sont des organites destinés à réguler la teneur en eau de la cellule. Elles sont particulièrement visibles chez certaines paramécies. Pour les mettre en évidence, on utilisera une solution aqueuse de bleu de méthylène à 1/1000. Le bleu de méthylène n'est malheureusement pas un bon colorant vital et il tuera les individus en quelques minutes. Il colore également le macronucléus (beaucoup de ciliés possèdent deux noyaux, un macro et un micronucléus)

M. Lecomte - 2014 ©



Mise en évidence de l'ingestion alimentaire et des mouvements d'eau générés par les cils (vital)

La manipulation est très simple, il suffit d'ajouter quelques gouttes d'encre de chine très diluée à la préparation.

Mise en évidence du (ou des) noyau(x) (coloration létale)

Pour observer le ou les noyaux des protozoaires, ajouter à la préparation un peu d'une solution de vert de méthyle acétique (100 cc d'eau distillée, 1 cc d'acide acétique et 1 gr de vert de méthyle). Observer à l'objectif 4x sans LCO (les individus sont morts) et attendre que le noyau (ou le macronucléus) soit coloré. A partir de ce moment on peut déposer la LCO et passer à des grossissements supérieurs pour observer l'appareil nucléaire.

Observation des cils vibratiles (coloration létale)

Chez les ciliés, la structure et la disposition de la ciliature est également un élément important pour leur détermination.

Pour ce faire, on utilisera un réactif iodo-ioduré en proportion 1/1 avec le prélèvement (1 gr d'iode, 10 gr d'iodure de potassium et 100 ml).

Non seulement la ciliature sera rendue visible, mais vous pourrez également observer le noyau et différentes inclusions cellulaires en brun foncé.

Observation des trichocystes (coloration létale)

Les trichocystes sont des petites structures fréquentes chez les ciliés, situées entre les cils vibratiles. Au contact d'autres organismes ou de prédateurs, ils émettent un liquide qui va coaguler et qui a pour effet d'éloigner des prédateurs éventuels. Pour les mettre évidence, ajouter à la préparation un mélange de bleu coton à 1 % et de potasse à 3 %. Leur éclatement est instantané.

Les paramécies



◀ Paramécie soumise au bleu de méthylène, ce dernier ayant rapidement une action létale ; 2 grandes vacuoles visibles.

Au même titre que la drosophile ou que la souris blanche, la paramécie est une véritable bête de laboratoire ; les expériences menées autour de cette dernière sont nombreuses et ont permis de découvrir beaucoup de choses sur les protozoaires en général, et sur les ciliés en particulier.

Les manipulations du paragraphe précédent sont bien sûr applicables aux paramécies, mais elles peuvent également être utilisées pour étudier les différents tropismes. C'est ainsi que vous aurez probablement l'occasion d'observer l'affinité de ces dernières pour les bulles d'air présentes dans votre préparation (bulles d'air que d'habitude, on essaie d'éviter !).

Nous avons expérimenté au départ d'une souche achetée dans le commerce spécialisé (Aqualiment).

L'élevage s'avère très simple : verser 0,75 litre d'eau de Volvic³ à 16-20° dans une bouteille à col large (jus de fruit), y placer la souche, ainsi que 10 gouttes de lait, qui vont servir de nourriture. Placer dans un endroit éclairé et ensoleillé. Les paramécies vont se regrouper près de

la surface où elles sont bien visibles. Cela fonctionne bien, car après 8 jours, il y avait des milliers de sujets, bien identifiables par transparence. Lorsque l'eau redevient claire (une semaine en général), apporter quelques gouttes de lait ; après 2 ou 3 semaines, initier une ou deux nouvelles cultures dans de nouveaux flacons.

Le milieu de culture n'est pas exclusif et nous y avons rencontré nombres d'autres organismes dont certains que nous n'avons pu identifier, faute de connaissances dans ce domaine.

La photographie n'est guère facile car, même après narcose, la frange de cils périphériques continue de vibrer, rendant le contour +/- flou.

UNE EXPÉRIENCE INTÉRESSANTE :

- ++ Préparer une solution de levure naturelle.
- ++ Colorer quelques gouttes de levure (avec du rouge Congo aqueux).
- ++ Prélever quelques gouttes du milieu d'élevage des paramécies et placer au contact de la levure colorée.
- ++ Observer après quelques minutes : les paramécies ingèrent les levures colorées en rouge ; sous l'action des sucs digestifs, celles-ci vont virer au bleu noirâtre (car le congo est un indicateur d'acidité).

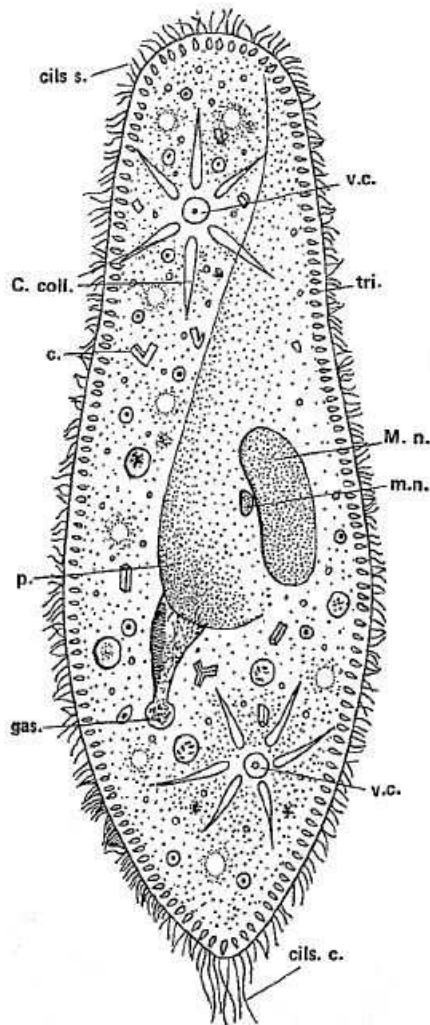


► Paramécie colorée à la fuchsine acide lactique, puis endormie à la xylocaïne

³ Il ne s'agit pas ici d'une publicité gratuite, mais d'un conseil de spécialistes des Infusoires, qui après avoir testé tout ce que nous procure le marché, en ont fait le maître-conseil ; l'eau de distribution est à proscrire vu la présence de chlore. On peut aussi utiliser une eau de citerne, de source, d'aquarium ou d'étang ; mais dans ces derniers cas, il est très difficile d'obtenir une souche pure, car l'eau est occupée par d'autres protozoaires qui prennent très vite le dessus sur les paramécies.

Beaucoup de Ciliés ont la capacité de former un kyste⁴ lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables ;

◀ Schéma structural d'une paramécie, selon Dragesco



c. = **cristaux** : on peut aussi rencontrer des concrétions calcaires ; leur présence ne s'explique guère.

C. coll. = **canaux collecteurs** : ils servent à amener l'eau du cytoplasme vers les vacuoles contractiles.

cils c. = **cils caudaux** : ils permettent l'orientation du déplacement et des changements brusques de direction.

cils s. = **cils somatiques** : ils battent de manière synchrone et permettent à l'organisme de se déplacer.

gas. = **gastroïle** : c'est la vacuole alimentaire où sont conduits les aliments absorbés, et où a lieu la digestion.

Les déchets digestifs sont éliminés à un endroit déterminé de la paroi, appelé **cytoprocte**.

M. n. = **macro noyau** : il gère le quotidien vital cellulaire et s'occupe de la reproduction asexuée.

m. n. = **micro noyau** : il assure les fonctions sexuelles de reproduction avec échange génétique.

p = **péristome** : invagination ventrale vers laquelle la nourriture (surtout des bactéries) est envoyée par le mouvement des cils qui la bordent. Dans le fond se trouve la bouche, ou **cytostome**, qui ouvre sur un canal appelé **cytopharynx**, conduisant à la gastroïle.

tri. = **trichocystes** : ce sont des organites situés sous la cuticule, qui peuvent projeter au dehors de longs filaments rigides (moyen de défense ?).

v.c. = **vacuoles contractiles** ou **pulsatiles** : elles ont la capacité d'évacuer l'excès d'eau qui se trouve dans le cytoplasme, et qui y pénètre par osmose.

⁴ Le kyste est une forme de survie et de résistance, entourée d'une membrane double ou triple, quasi imperméable, qui assure la propagation d'une espèce ; il est le siège d'une vie ralentie, pouvant persister très longtemps (plusieurs années dans certains cas).