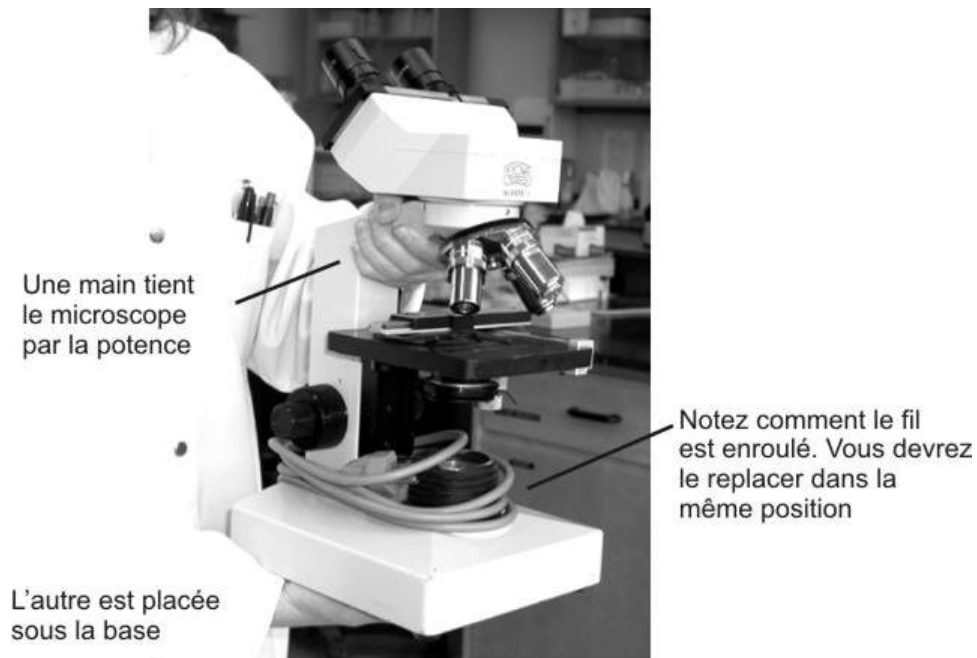


---

# LE MICROSCOPE

---



Toujours tenir le microscope en position VERTICALE

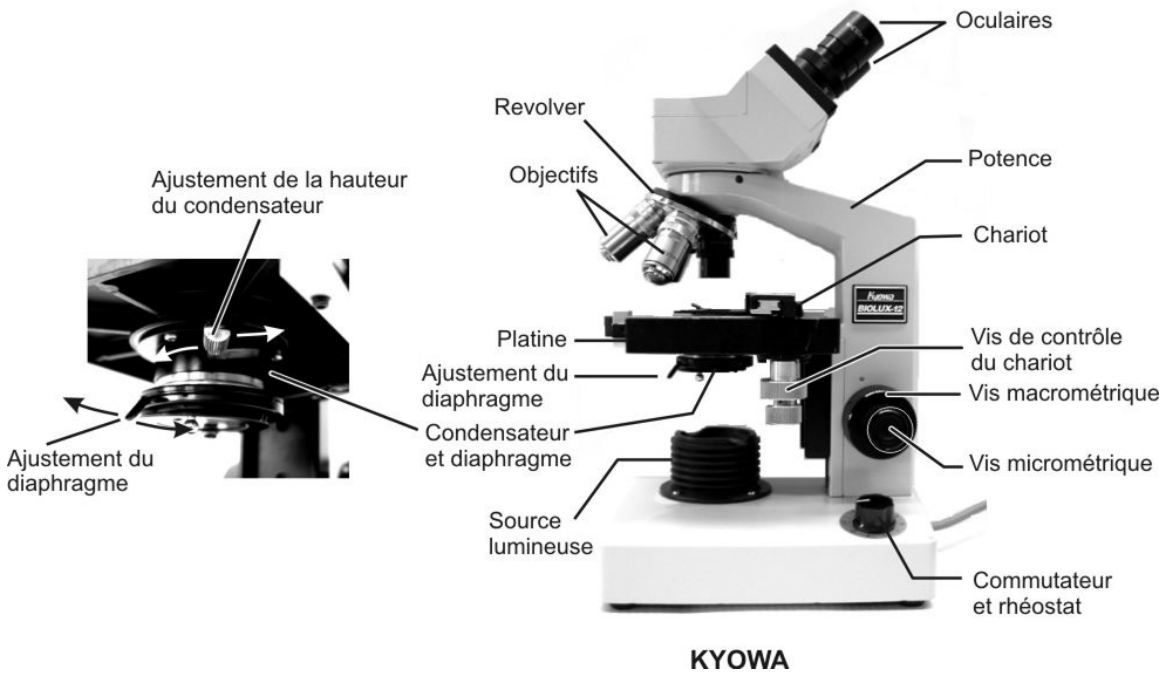
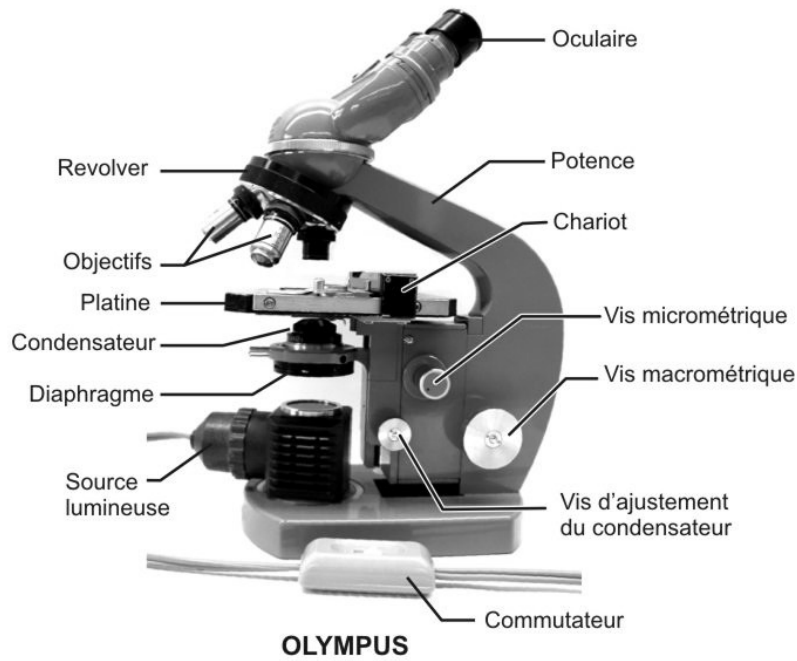
**La bonne façon de tenir et de transporter un microscope**

## LABORATOIRE 1

Gilles Bourbonnais  
Département de biologie  
Cégep de Sainte-Foy



# 1. Les parties du microscope



## L'optique

Notez qu'on peut ajuster l'écartement des deux **oculaires**. N'oubliez jamais de le faire au début de chaque séance de laboratoire ou lorsque vous regardez dans un autre microscope.

Nos microscopes disposent de quatre **objectifs** montés sur une pièce tournante, le **revolver**. Le chiffre inscrit sur chaque objectif indique le grossissement de celui-ci.

Le grossissement total se calcule en multipliant le grossissement de l'oculaire (10X) par celui de l'objectif. Nous disposons donc de quatre grossissements :

Oculaire	Objectif	Grossissement
10X	4X	<b>40X</b>
10X	10X	<b>100X</b>
10X	40X	<b>400X</b>
10X	100X	<b>1000X</b>

### NETTOYER LES LENTILLES

C'est la première chose à faire au début de chaque séance de laboratoire. L'image se dégrade beaucoup si les lentilles sont sales.

Utilisez toujours **le papier spécial pour lentilles** et le liquide nettoyant qui vous sont fournis.

Humectez un bout du papier avec le nettoyant (ne vaporisez jamais le nettoyant directement sur les lentilles). Frottez délicatement chaque lentille (objectifs et oculaires) avec la partie humectée du papier et asséchez avec la partie sèche.

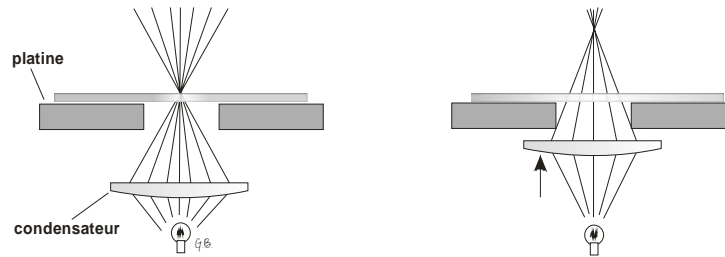
## L'éclairage

L'ajustement de l'éclairage est primordial. La netteté de l'image et son contraste en dépendent.

Localisez d'abord le commutateur permettant d'allumer l'ampoule à la base du microscope. Si votre microscope est un *Kyowa*, réglez le rhéostat pour avoir l'éclairage maximum.

L'éclairage peut se régler par le **diaphragme** et par le **condensateur**.

Le **condensateur**, c'est cette partie de l'optique située sous la **platine**. Comme son nom l'indique, il permet de condenser plus ou moins la lumière sur l'échantillon observé.



On peut faire varier la hauteur du condensateur ce qui permet de faire varier l'intensité de l'éclairage.

Localisez sur votre microscope **la manette ou la vis de contrôle** permettant d'ajuster la hauteur du condensateur (voir votre modèle de microscope sur la première page).

En pratique, on règle le condensateur de façon à ce que sa distance à la platine soit la même que celle séparant l'objectif de la platine.

Le **diaphragme** est un ensemble de lamelles métalliques situé sous le condensateur permettant de régler l'ouverture de la source lumineuse et donc la quantité de lumière atteignant l'échantillon. Repérez la manette permettant d'ajuster le diaphragme de votre microscope (voir votre modèle sur la première page).



Plus le diaphragme est fermé, plus l'image est sombre, mais plus elle est contrastée. Le réglage du diaphragme fait toute la différence entre une image où on ne voit rien et une image où tous les détails sont visibles.

Vous devez modifier le réglage du diaphragme **chaque fois que vous changez d'objectif**. En effet, plus l'objectif est puissant, plus son ouverture est petite. Il faut donc augmenter l'éclairage au fur et à mesure qu'on augmente le grossissement.

### La mise au point

La mise au point de l'image se fait par les **vis macrométrique et micrométrique**. Ces deux contrôles permettent de faire varier la distance entre l'échantillon sur la platine et l'objectif. Localisez, sur votre microscope, l'emplacement de la vis macrométrique et celui de la vis micrométrique. Vous pouvez constater que le mouvement occasionné par la rotation de la vis micrométrique est tellement fin qu'on ne peut pas le distinguer à l'œil nu.

**N'UTILISEZ LA VIS MACROMÉTRIQUE QU'AU GROSSISSEMENT LE PLUS FAIBLE (40X). AU-DELÀ DE 40X, N'UTILISEZ QUE LA VIS MICROMÉTRIQUE.**

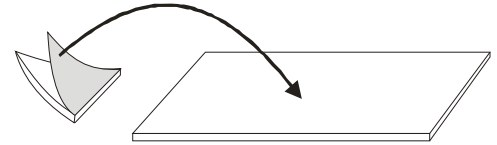
## 2. Première observation : les cellules d'oignon

La partie **concave** des écailles formant un oignon est tapissée d'une mince membrane formée d'une seule couche de cellules.

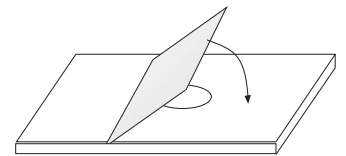


1. Nettoyez soigneusement vos lentilles si vous ne l'avez pas encore fait.

2. Prélevez délicatement avec vos doigts ou avec une pince cette petite membrane sur un morceau d'oignon et placez-la sur une lame de microscope. Ajoutez une petite goutte d'eau.



Recouvrez le tout d'une lamelle; attention, afin d'éviter la formation de bulles d'air, ne pas déposer la lamelle en la laissant tomber "à plat" sur la préparation mais la rabattre progressivement après en avoir appuyé un côté sur la lame.



3. Allumez la lumière. Placez l'objectif **4X (le plus petit)** dans l'axe du tube optique. À l'aide de la vis macrométrique, remontez la platine le plus possible (le plus près possible de l'objectif).

**ON COMMENCE TOUJOURS UNE OBSERVATION EN UTILISANT LE PLUS FAIBLE OBJECTIF (4X)**

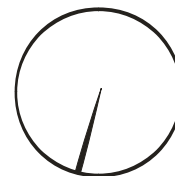
4. Placez la préparation sur la platine et centrez-la sous l'objectif à l'aide des **vis du chariot**.

5. Fermez complètement le **diaphragme**.

6. Tout en regardant dans l'oculaire, abaissez lentement la platine (vis macrométrique) jusqu'à ce que l'image apparaisse. Précisez votre mise au point (vis macro et micrométriques) et recentrez, si nécessaire votre image à l'aide des vis de contrôle du chariot.

7. Modifiez la position du condensateur et l'ouverture du diaphragme jusqu'à ce que l'image soit bien claire et bien contrastée. Explorez la surface de votre échantillon et centrez l'image sur la zone qui vous semble la plus nette.

Notez le pointeur visible dans l'image. Il s'agit d'une aiguille placée dans un des deux oculaires. Elle apparaît dans l'image et sert à pointer un détail de l'image (très pratique pour montrer quelque chose à quelqu'un d'autre). Vous pouvez la faire tourner en faisant tourner l'oculaire dans lequel elle est placée.



8. Pour passer à un grossissement supérieur : **SANS TOUCHER À RIEN D'AUTRE**, faites pivoter le revolver de façon à amener dans l'axe l'objectif suivant (10X). **NE TOUCHEZ PAS À LA VIS MACROMÉTRIQUE**. Refaites la mise au point en n'utilisant **QUE LA VIS MICROMÉTRIQUE**.



9. Ajustez condensateur et diaphragme pour obtenir une image claire et contrastée.

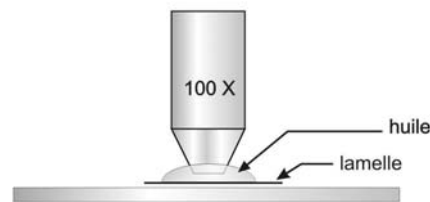
**Il est inutile d'essayer de passer à un grossissement supérieur si vous n'avez pas obtenu une image claire au plus faible grossissement. Si vous ne voyez rien à 40X vous ne verrez pas plus à 100X ou 400X.**

10. Répétez les mêmes procédures pour passer au grossissement **400X**. **N'UTILISEZ PAS L'OBJECTIF 100X (grossissement 1000X)**. L'usage de cet objectif demande une manipulation spéciale.

#### **Immersion à l'huile au grossissement 1000X**

Nous n'utiliserons pas l'objectif 100X (grossissement de 1000X). L'utilisation de cet objectif demande une préparation spéciale. Pour que l'image soit claire à ce grossissement, il ne doit pas y avoir d'air entre l'objectif et l'échantillon à observer, mais une huile optique spéciale qui doit être appliquée directement sur la lame.

**N'essayez pas d'utiliser l'objectif 100X sans huile. L'image restera floue et vous risquez de casser votre lame avec l'objectif en tentant de faire la mise au point.**

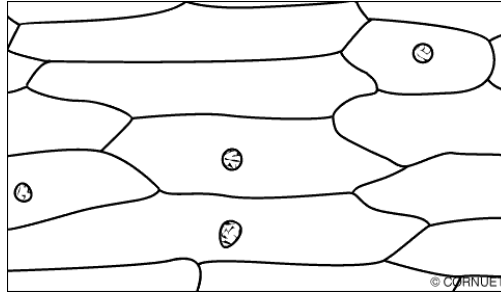
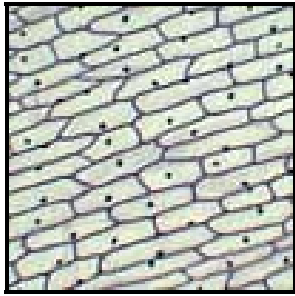


**Quelle que soit l'observation, toujours commencer par faire la mise au point avec l'objectif le plus faible (4X).**

**Ne jamais utiliser la vis macrométrique (la grosse) avec les autres objectifs (10X, 40X).**

**Ne tentez pas d'utiliser l'objectif 100X.**

11. Conservez votre lame avec le montage de la membrane d'oignon; elle vous resservira un peu plus loin.



### 3. Estimer la taille d'un échantillon aux différents grossissements

Il est important de toujours avoir une idée de la taille réelle de l'échantillon qu'on observe au microscope, peu importe le grossissement utilisé. La chose est possible si on connaît le diamètre du champ d'observation à chacun des grossissements.

1. Placez sur une lame un petit carré de papier millimétrique.
2. Ajoutez une goutte d'eau et recouvrez d'une lamelle.
3. Faites la mise au point à **40X** (objectif 4X).
4. Comptez les carreaux dans le diamètre. Quel est le diamètre du champ d'observation (le cercle que vous voyez) ? \_\_\_\_\_ mm
5. Passez à 100X. Quel est le diamètre observé ? \_\_\_\_\_ mm

À 400 X, le papier millimétrique n'est plus assez précis pour servir de règle permettant de mesurer le diamètre de champ. Mais puisque vous le connaissez à 40X, une simple règle de trois vous permet de le calculer pour 400X.

Complétez le tableau :

N.B. 1 mm = 1000  $\mu\text{m}$

Grossissement	Diamètre de champ en mm	Diamètre de champ en $\mu\text{m}$
40X		
100X		
400X		

Retirez la préparation avec le papier et remplacez la préparation de cellules d'oignon (au plus faible grossissement évidemment, vous n'aviez quand même pas déjà oublié !!!).

**Passez à 100X. Combien comptez-vous de cellules dans le sens de la longueur au niveau du diamètre du champ d'observation ? \_\_\_\_\_**

Et dans le sens de la largeur (passez à 400X, ça en fera moins à compter) ? \_\_\_\_\_

Quelle est donc la longueur moyenne d'une cellule en  $\mu\text{m}$  (longueur moyenne approximative; n'allez pas me mettre de décimales!)

Longueur : \_\_\_\_\_

Largeur : \_\_\_\_\_

Comparez vos résultats avec ceux de vos collègues.

Retirez le papier millimétrique du montage que vous aviez fait et remplacez-le par un de vos cheveux (un peu d'eau va aider à faire « coller » la lamelle à la lame). Observez (en commençant à 40X) au grossissement 400X. Pouvez-vous estimer la largeur de votre cheveu en  $\mu\text{m}$  ?

Largeur d'un cheveu : \_\_\_\_\_  $\mu\text{m}$

Comparez votre résultat avec celui de vos collègues. Qui a les plus gros cheveux dans la classe ? Et les plus fins ?

**Lorsque vous avez terminé une observation :**

- **Jetez la lamelle dans le contenant de récupération prévu à cet effet.**
- **Nettoyez et asséchez la lame. Remettez-la là où vous l'aviez prise.**

#### 4. Observation des cellules de l'épithélium buccal

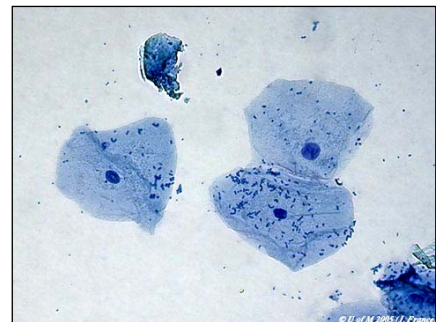
1. Déposez une goutte d'eau au centre d'une lame.
2. Grattez délicatement la surface de votre joue avec le bout arrondi d'un cure-dent (à l'intérieur de la bouche, faut-il le préciser !?).
3. « Brassez » (mouvement circulaire) la goutte d'eau de la lame avec le bout arrondi de votre cure-dent.
4. Ajoutez à votre préparation une toute petite goutte (j'ai bien dit toute petite) de bleu de méthylène. Brassez encore un peu.
5. Recouvrez d'une lamelle.

**Si le liquide « déborde » autour de la lamelle (ça peut arriver si vous en avez trop mis), absorbez le surplus en y plaçant un coin de papier absorbant (papier brun essuie-tout).**

6. Observez à 40X (n'oubliez pas d'ajuster le diaphragme et le condensateur) et centrez dans le champ d'observation les cellules qui vous semblent les plus typiques.
7. Observez à 100X puis à 400X (n'essayez pas à 1000X, vous risquez de briser votre lame et d'endommager l'objectif).

Les petits points bleu foncé qu'on peut apercevoir sur les cellules sont des bactéries qui font partie de la flore normale de votre bouche.

**Quel est le diamètre d'une cellule ? \_\_\_\_\_  $\mu\text{m}$**



## 6. Observation des cellules de la feuille d'Élodée.

L'Élodée (*Elodea canadensis*) est une plante aquatique d'eau douce. Ses feuilles ne sont formées que de deux couches de cellules.

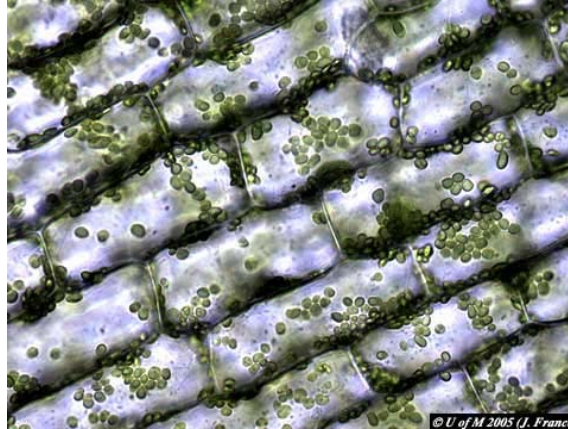


1. Placez une feuille d'Élodée au centre d'une lame.
2. Ajoutez une goutte d'eau.
3. Recouvrez d'une lamelle.
4. Observez à 400X (en commençant par le plus faible grossissement).

Notez qu'en faisant varier la mise au point vous pouvez « traverser » l'épaisseur de la feuille et faire la mise au point **sur l'une ou l'autre** des deux couches de cellules.

Plus le diaphragme est fermé, plus la **profondeur de champ** est grande, c'est-à-dire plus l'épaisseur de la préparation où l'image est claire est grande. Si vous désirez ne voir qu'une seule couche de cellules à la fois, il vaut donc mieux ouvrir un peu votre diaphragme.

Quelle est la longueur d'une cellule ? \_\_\_\_\_  $\mu\text{m}$       Sa largeur ? \_\_\_\_\_  $\mu\text{m}$



### AVANT DE PARTIR N'OUBLIEZ PAS :

- De nettoyer les lentilles et la platine.
- De replacer l'objectif 4X dans l'axe optique.
- D'enrouler le fil électrique.
- De replacer la housse sur le microscope.
- De replacer le microscope dans son armoire.
- De vous assurer que plus rien ne traîne sur la table.

