

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
FILIERE BG
Module Biologie Cellulaire - S1 -**

Travaux Pratiques de Biologie Cellulaire

Année Universitaire : 2026 - 2027

NOTES

*Les travaux pratiques de Biologie cellulaire constituent une initiation à l'utilisation du microscope optique pour observer des cellules et à l'étude de quelques phénomènes physiologiques cellulaires. Ces travaux pratiques sont **obligatoires**.*

Les étudiants doivent préparer leurs T.P. à l'avance et doivent être munis chacun du matériel suivant :

- *Une blouse blanche,*
- *Une lame de rasoir,*
- *Une paire de pinces fines,*
- *Un crayon noir HB,*
- *Une gomme, un taille-crayon, une règle, ...*

Table des matières

<u>INITIATION À LA MANIPULATION DU MICROSCOPE OPTIQUE</u>	I
<u>I. PRESENTATION DU MICROSCOPE OPTIQUE</u>	1
<u>A. PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT DU MICROSCOPE OPTIQUE</u>	1
<u>B. INITIATION AU FONCTIONNEMENT DU MICROSCOPE</u>	3
1. <u>La mise au point</u>	3
2. <u>Utilisation du grossissement</u>	3
3. <u>Utilisation de l'éclairage</u>	4
<u>C. LE COMPTE RENDU DE T.P.</u>	4
1. <u>Le dessin</u>	4
2. <u>Les légendes</u>	5
3. <u>Le titre</u>	5
<u>D. REPOSES AUX QUESTIONS</u>	5
<u>II. ETUDE DES CELLULES EUCARAYOTES ANIMALES ET VEGETALES AU MICROSCOPE OPTIQUE</u>	6
<u>A. OBSERVATION DES CELLULES ANIMALES-L'ÉPITHELIUM BUCCAL -</u>	6
1. <u>Matériel biologique</u>	6
2. <u>Protocole expérimental</u>	6
<u>B. OBSERVATION DES CELLULES DE L'ÉPIDERME INTERNE D'ÉCAILLE DE BULBE D'OIGNON</u>	8
1. <u>Matériel biologique</u>	8
2. <u>Protocole expérimental</u>	8
<u>III. COMPARAISON DE LA CELLULE PROCARYOTE ET EUCARYOTE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE</u>	10
<u>A. Observation de cellule procaryote</u>	10
<u>B. Observation d'une cellule eucaryote animale</u>	11
<u>IV. COMPARAISON ENTRE CELLULE ANIMALE ET VEGETALE</u>	12
<u>V. ULTRASTRUCTURE D'ORGANITES CELLULAIRES</u>	-13-
<u>LA PERMEABILITE CELLULAIRE</u>	13
<u>I. LA POMME DE TERRE : DETERMINATION DE LA PRESSION OSMOTIQUE</u>	17
<u>A. Réalisation de l'expérience</u>	17
<u>B. Résultats et commentaires</u>	17
<u>II. MISE EN EVIDENCE DES PHENOMENES DE PLASMOLYSE ET DE TURGESCEANCE</u>	20

<u>A.</u>	<u>Mesure de la pression osmotique du suc vacuolaire de la cellule d'oignon</u>	20
1.	<u>Définition de la plasmolyse limite</u>	20
2.	<u>Manipulation</u>	20
3.	<u>Expression des résultats</u>	20
<u>B.</u>	<u>Représentation des cellules en plasmolyse et en turgescence</u>	21
<u>C.</u>	<u>La déplasmolyse provoquée</u>	23

NITIATION À LA MANIPULATION DU MICROSCOPE OPTIQUE

I. PRESENTATION DU MICROSCOPE OPTIQUE

Les microscopes sont des instruments qui donnent une image agrandie d'un objet. Ce sont des instruments de précision, donc délicats et coûteux, à manipuler avec douceur et avec soin. Il est interdit de démonter l'optique. Il faut signaler sans retard, toute anomalie de fonctionnement.

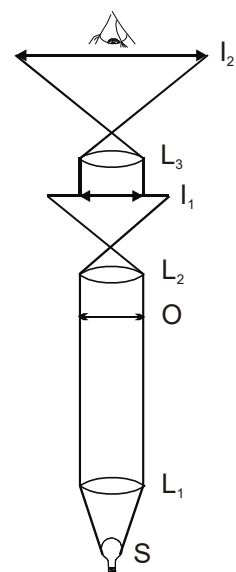
Repérer les différentes parties du microscope :

- Les **oculaires** qui permettent un grossissement de **10×**,
- Le **revolver** à objectifs et les trois **objectifs** qui permettent des grossissements de **4×**, **10×** ou **40×**,
- La **platine** sur laquelle la préparation microscopique est maintenue par un **chariot**, et son **système de déplacement et de repérage** dans le plan horizontal pour passer d'une zone à l'autre de la préparation.
- La **vis macrométrique** et la **vis micrométrique** qui permettent le déplacement vertical de la platine et l'objet et donc permettent d'ajuster la mise au point.
- Le système d'éclairage dont l'intensité lumineuse peut être contrôlée. Il comprend : la **source lumineuse** ; le **condenseur** – avec la vis permettant son déplacement – et le **diaphragme**.

Légender le schéma de la figure 1 (page 2).

A. PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT DU MICROSCOPE OPTIQUE

Une source lumineuse (S) envoie des rayons lumineux sur une première lentille (L_1) – le condenseur (ou condensateur) – qui concentre les rayons lumineux sur l'échantillon ou objet (O). Une seconde lentille (L_2) – l'objectif – donne de l'objet (O) une image agrandie (I_1). Une troisième lentille (L_3) – l'oculaire – reprend une fraction de l'image (I_1) et l'agrandit une nouvelle fois en une image (I_2) qui est l'image reçue par l'observateur. Le **grossissement** final de l'image observée résulte de la multiplication des pouvoirs grossissants du système oculaire et de l'objectif utilisé.



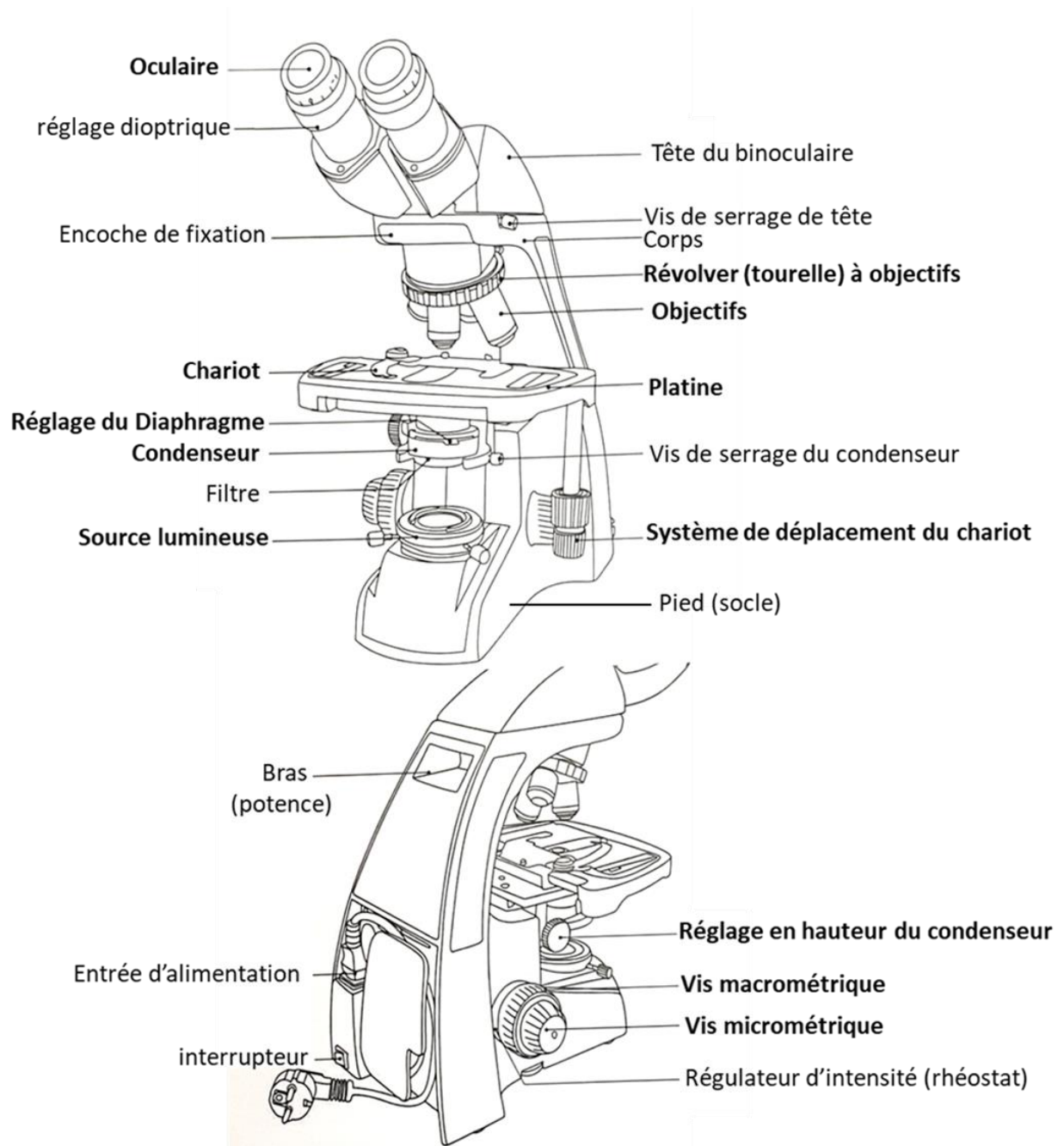


Figure 1 : Schéma d'un microscope optique.

B. INITIATION AU FONCTIONNEMENT DU MICROSCOPE

Cette initiation se fera en utilisant un carré de papier millimétré.

1. La mise au point

Brancher et allumer le microscope. Régler l'intensité lumineuse.

Abaissier la platine à son point le plus bas en tournant la vis macrométrique.

Placer le carré de papier millimétré sur la platine.

Il faut toujours commencer par réaliser la mise au point avec l'objectif de plus faible grossissement :

Tourner le revolver à objectifs, jusqu'à placer l'objectif 4× (le plus faible grossissement).

Regarder dans les oculaires en réglant la distance qui les sépare, à l'écartement de vos yeux.

Remonter lentement la platine à l'aide de la vis macrométrique. Arrêter le mouvement au moment précis où l'image prend forme.

Tourner la vis micrométrique dans un sens ou dans l'autre, de façon à ajuster le plus précisément possible l'image obtenue.

Ceci est le protocole que vous devrez suivre à chaque utilisation du microscope.

Estimer en mm, le diamètre du champ observé au grossissement 40× (objectif 4× et oculaire 10×).

2. Utilisation du grossissement

Le microscope est conçu de telle manière que, lorsque la mise au point est correcte pour l'objectif de faible grossissement, elle est presque acquise pour les autres objectifs de plus fort grossissement. Il suffit d'un fin réglage à l'aide de la vis micrométrique et d'un ajustement des conditions d'éclairage pour obtenir la mise au point parfaite de l'image.

Avant de changer d'objectif, amener au centre du champ la région de la préparation que l'on désire observer au fort grossissement.

Tourner le revolver à objectifs jusqu'à l'objectif 10×, puis ajuster l'image si nécessaire avec **la vis micrométrique uniquement**. **N'employer la vis macrométrique qu'avec l'objectif 4×. Faire attention à ne pas écraser la lamelle avec l'objectif.**

Estimer en mm, le diamètre du champ observé au grossissement 100× (objectif 10× et oculaire 10×).

Procéder de la même façon pour observer l'image avec l'objectif 40×.

Estimer en mm, le diamètre du champ observé au grossissement 400× (objectif 40×, oculaire 10×).

Diamètre du champ observé au grossissement 40× :

Diamètre du champ observé au grossissement 100× :

Diamètre du champ observé au grossissement 400× :

Que constatez-vous en ce qui concerne le champ de vision ?

.....
.....
Quel grossissement utiliseriez-vous pour avoir une vue d'ensemble ? Une vue de détail ?
.....
.....
.....

Exercice : Sachant qu'une cellule arrondie a un diamètre réel de $10\mu\text{m}$, combien de cellules de ce type pourriez-vous observer côte à côte sur un diamètre du champ aux différents grossissements possibles du microscope ?

Réponse : Nombre de cellules de $10\mu\text{m}$ de diamètre que l'on peut observer côte à côte sur un diamètre du champ :

- Pour le grossissement $40\times$:
.....
.....
.....
.....

- Pour le grossissement $100\times$:
- Pour le grossissement $400\times$:

3. Utilisation de l'éclairage

Selon le grossissement et la préparation observée, l'éclairage ne sera pas le même. Il faut choisir l'éclairage convenable. Exercez-vous à faire varier l'éclairage :

- en ouvrant et fermant le diaphragme,
- en baissant et levant le condenseur.

C. LE COMPTE RENDU DE T.P.

Il comprend plusieurs éléments :

1. Le dessin

- La qualité du dessin dépend de plusieurs facteurs : le premier est que vous devez dessiner ce que vous voyez et non refaire un schéma appris en cours ou dans un livre. Il faut tenir compte des recommandations suivantes :

- **Les dimensions** : Faites un grand dessin : occuper la feuille au maximum en réservant toutefois de la place pour la légende. Le dessin doit occuper environ les $3/4$ de la page.

- **Le tracé** : Très important : choisissez un crayon de dureté moyenne, bien taillé. Tracez vos traits sans interruptions, donc sans reprises.

- **La propreté** : Attention en particulier à la qualité de votre gomme.

- **L'exactitude** : Respectez les formes et les proportions relatives des différents éléments observés.

- **Les détails** : Ceux-ci donnent de la réalité à votre dessin.

- **La clarté** : Ne pas colorer ou griser les structures. Utiliser des pointillés plus ou moins serrés.

2. Les légendes

Les légendes sont indispensables à tout dessin ; elles doivent être précises. Disposer, logiquement les unes sous les autres, les légendes ayant trait aux mêmes structures et regrouper par une accolade celles qui appartiennent au même ensemble. **Ne pas employer d'abréviation.**

Les traits de rappel doivent être horizontaux, ne pas les entrecroiser. Ils doivent indiquer précisément l'élément concerné.

3. Le titre

Chaque dessin doit avoir un titre complet et doit être sur une feuille séparée. Ne pas oublier d'indiquer le grossissement.

D. REPONSES AUX QUESTIONS

Les réponses doivent être claires, précises et justifiées.

II. ETUDE DES CELLULES EUCARAYOTES ANIMALES ET VEGETALES AU MICROSCOPE OPTIQUE

Le but de ce T.P. est d'observer des cellules animales et végétales au microscope optique, en utilisant différents colorants et de dégager les différences entre elles.

A. OBSERVATION DES CELLULES ANIMALES –L'ÉPITHELIUM BUCCAL-

1. Matériel biologique

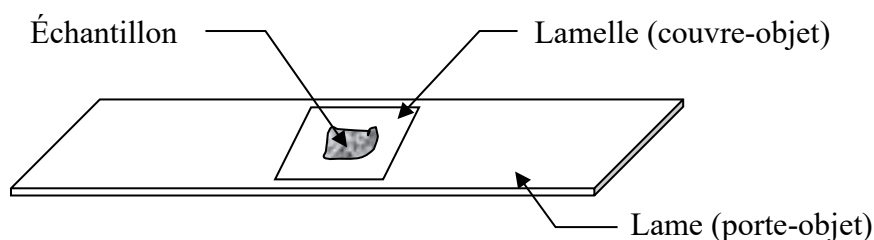
L'épithélium buccal est une muqueuse à l'intérieur des joues, constituée de plusieurs couches de cellules ; c'est un épithélium stratifié. Des cellules mortes ou mourantes se détachent spontanément de cette muqueuse et se mélangent à la salive. Ce sont ces cellules que vous allez observer.

2. Protocole expérimental

Avec le bord d'un ongle nettoyé, racler doucement la face interne de votre joue. Délayer ce peu de matière recueillie (inobservable à l'œil nu) dans une goutte de liquide de montage (eau et bleu de méthylène) à l'aide d'une aiguille lancéolée sur la lame porte-objet.

a) Montage dans une goutte d'eau

Déposer et étaler le fragment sur la lame dans une goutte d'eau et le recouvrir d'une lamelle.



La préparation doit toujours être placée vers le haut sur la platine, en centrant au mieux l'objet à observer.

À l'objectif 4×, repérer la préparation et placer au centre du champ des cellules sans plis et sans bulle d'air.

Passer à l'objectif 10×, puis à l'objectif 40×: observer la forme des cellules et ses éléments.

Penser à bien régler l'éclairage pour obtenir le meilleur contraste possible.

Faire varier la vis micrométrique (objectifs 10× et 40×) pour mettre en évidence les différents plans cellulaires (la cellule est un volume).

b) Montage dans une goutte de bleu de méthylène

Faire la même chose en remplaçant l'eau par une goutte de bleu de méthylène. Grâce à sa charge positive, le bleu de méthylène a la propriété de s'adsorber facilement sur les surfaces des particules chargées négativement telles que les acides nucléiques et les met en évidence.

c) Observation et dessin

Vérifier au faible grossissement que vous avez des cellules isolées ou une seule couche de cellules restées jointives. Choisir une zone bien colorée ; ajuster la mise au point et régler l'éclairage. Passer à l'objectif 10x puis à l'objectif 40x.

Dessiner une cellule avec précision, en montrant le départ des cellules voisines. Annoter correctement le dessin et ***préciser les structures colorées par le bleu de méthylène***.

Dessin :

B. OBSERVATION DES CELLULES DE L'EPIDERME INTERNE D'ECAILLE DE BULBE D'OIGNON

1. Matériel biologique

Le bulbe d'oignon est formé par une tige ou plateau portant à sa base des racines adventives et à sa partie supérieure un bourgeon terminal entouré de feuilles modifiées : des feuilles brunes, desséchées, protectrices et des feuilles charnues, sans chlorophylle, gorgées de réserves. Toutes ces feuilles portent le nom de tuniques ou écailles.

Chaque écaille a deux faces : une face interne concave et une face externe convexe.

Chaque face est recouverte d'un épiderme formé d'une seule couche de cellules jointives. On étudiera les cellules de l'épiderme interne

2. Protocole expérimental

Fendre le bulbe en quatre, prélever une écaille.

A l'aide d'une lame de rasoir, découper un carré de 5 mm de côté dans l'épiderme interne. Décoller le fragment obtenu en utilisant une paire de pinces.

a) Montage dans une goutte d'eau

Déposer et étaler le fragment sur la lame dans une goutte d'eau et le recouvrir d'une lamelle.

A l'objectif 4x, repérer la préparation et placer au centre du champ des cellules sans plis et sans bulle d'air.

Passer à l'objectif 10x, puis à l'objectif 40x : observer la forme des cellules, leur disposition, les éléments de la cellule : le noyau et ses nucléoles, les travées cytoplasmiques, la paroi pectocellulosique, ...etc.

Penser à bien régler l'éclairage pour obtenir le meilleur contraste possible.

Faire varier la vis micrométrique (objectifs 10x et 40x) pour mettre en évidence les différents plans cellulaires (la cellule est un volume).

b) Montage dans une goutte de rouge neutre.

Le rouge neutre est un colorant qui colore uniquement la vacuole des cellules vivantes. Il ne tue pas les cellules ; c'est un colorant vital.

Monter un fragment d'épiderme dans une goutte de rouge neutre. Choisir une zone bien colorée ; ajuster la mise au point et régler l'éclairage. Passer à l'objectif 10x et observer la disposition relative entre les cellules.

Passer à l'objectif 40x et dessiner une cellule avec précision, en montrant le départ des cellules voisines.

Estimer la taille réelle de cette cellule (longueur et largeur).

Bien comprendre la différence entre le grossissement employé pour l'observation et l'échelle du dessin.

c) Montage dans une goutte de lugol

Le lugol est une solution aqueuse iodo-iodurée ($I_2 + IK$). L'iode tue les cellules, en provoquant une coagulation fine du cytoplasme et du noyau : c'est un fixateur. C'est un colorant qui teint en jaune certains éléments cellulaires notamment les polysaccharides.

Monter un fragment d'épiderme dans une goutte de lugol. Choisir une zone bien colorée ; ajuster la mise au point et régler l'éclairage. Passer à l'objectif 10x puis à l'objectif 40x et compléter le dessin.

Montage dans une goutte de bleu de méthylène

Faire la même chose pour un montage dans une goutte de bleu de méthylène. Compléter le dessin.

Dessiner une cellule de l'épiderme interne d'écaille de bulbe d'oignon (objectif 40x).

Estimer la taille réelle de cette cellule (longueur et largeur) :

Pour un grossissement donné, on compte le nombre de cellules le long du diamètre du champ et on déduit la taille moyenne des cellules : $\text{Diamètre} / \text{nombre de cellules dans le diamètre du champ}$. On le fait pour la longueur et la largeur.

Déduire l'échelle de votre dessin : $\text{taille dans dessin} / \text{taille réelle}$.

NB. Il faut utiliser la même unité.

Que mettent en évidence les différents colorants utilisés ?

.....

Pour une mise au point déterminée, pourquoi n'observe-t-on pas de noyau dans certaines cellules ?

NB. Plus la cellule est vieille, plus la vacuole grossit et force le noyau à se placer sur le côté.

III. COMPARAISON DE LA CELLULE PROCARYOTE ET EUCARYOTE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE

Le microscope électronique est la méthode de choix pour la biologie cellulaire. En pratique, le pouvoir séparateur obtenu est 100 à 200 fois supérieur à celui du microscope photonique, permettant ainsi de pousser l'exploration au niveau des "ultrastructures" cellulaires.

La microscopie électronique a permis de montrer l'existence de deux types fondamentaux de l'organisation cellulaire, comportant des différences essentielles.

- Un type simple caractéristique des cellules *procaryotes*,
- Un type plus complexe, caractéristique des cellules *eucaryotes*.

A. Observation de la cellule procaryote

Escherichia coli (ou *E. coli*), également appelée colibacille, est une bactérie de la flore intestinale des mammifères très commune chez l'être humain.

Elle est entourée d'une *paroi cellulaire* rigide sur laquelle s'appuie la *membrane plasmique*. Son matériel génétique consiste en un *nucléoïde* formé d'une seule molécule d'ADN refermée sur elle-même et non entourée de membrane la séparant du cytoplasme. Le cytoplasme renferme de nombreux *ribosomes* qui lui donnent un aspect granuleux.

Annoter les microphotographies électroniques d'*E. coli* représentées ci-dessous



Coupes longitudinale (gauche) et transversale (droite) d'*E. coli*.

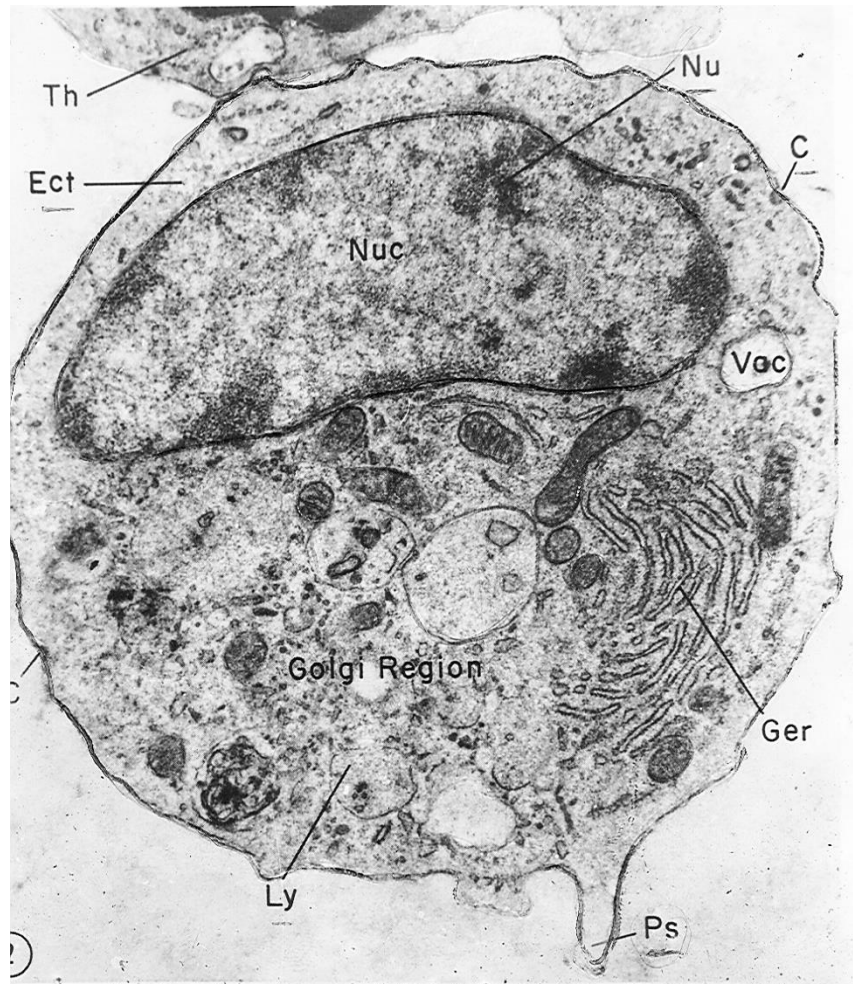
Calculer sa taille réelle :

.....

.....

B. Observation d'une cellule eucaryote animale

Observer et légender la microphotographie ci-dessous représentant une cellule eucaryote animale observée au microscope électronique. Estimer sa taille réelle.



Ultrastructure d'une cellule animale (globule blanc). (G X10 000).

Calculer sa taille réelle :

.....

.....

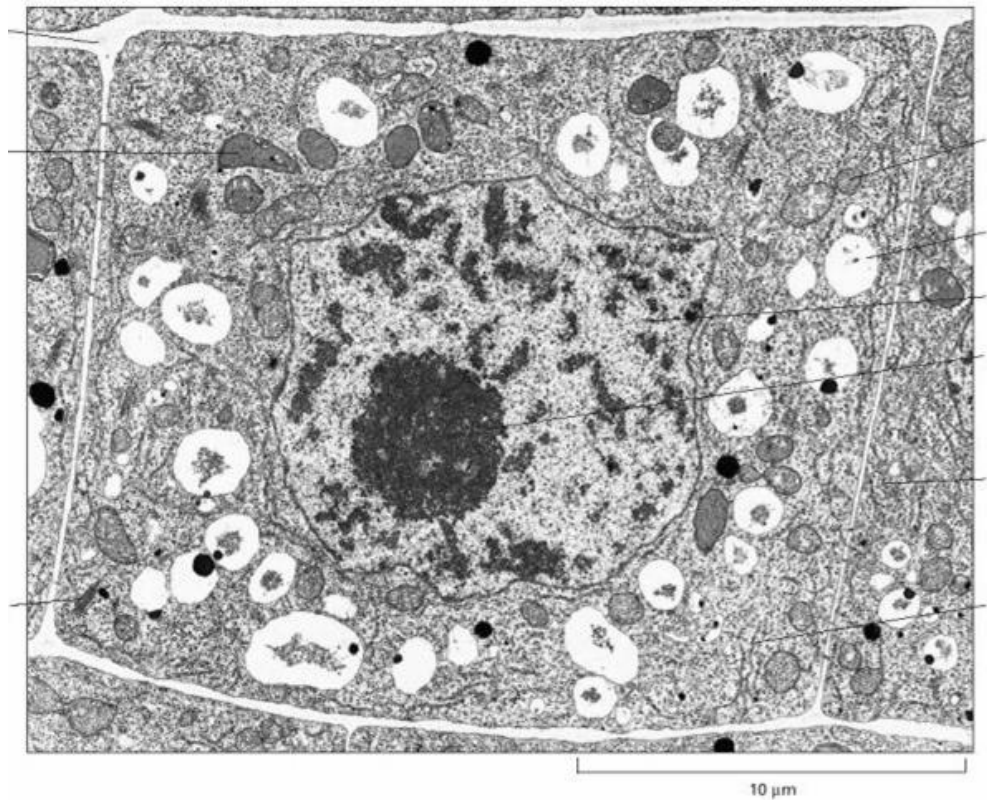
.....

Comparer dans un tableau, la cellule procaryote et la cellule eucaryote.

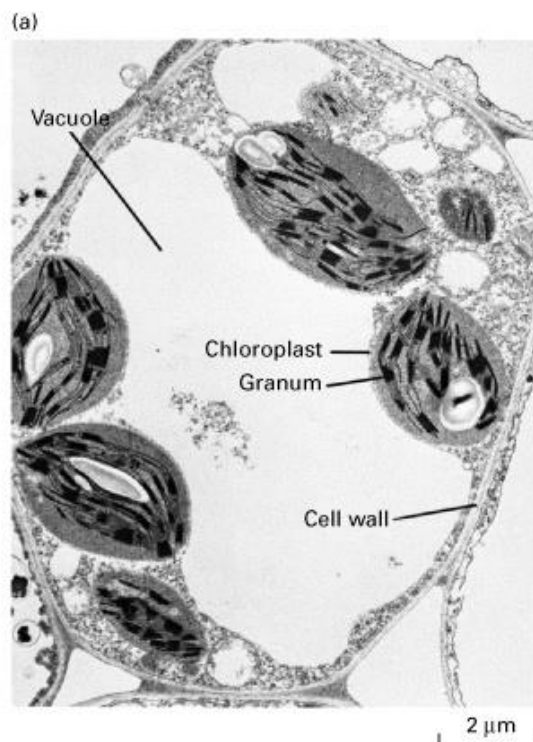
IV. COMPARAISON ENTRE CELLULE ANIMALE ET VEGETALE

Observer et légender les deux microphotographies ci-dessous représentant une cellule végétale.

Montrer dans un tableau, les principales différences entre cellule animale et cellule végétale.



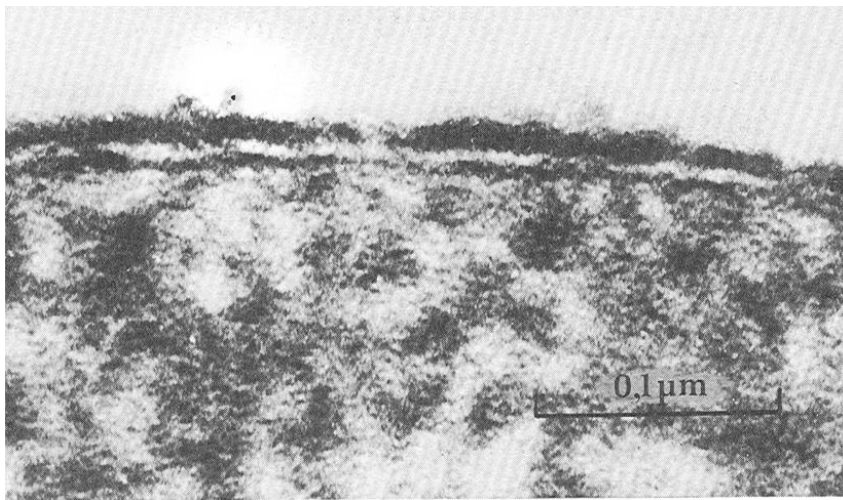
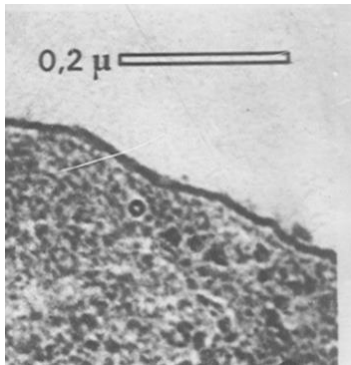
Ultrastructure d'une jeune cellule végétale



Ultrastructure d'une cellule végétale adulte

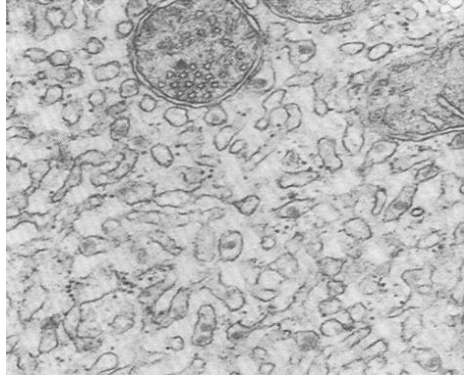
ULTRASTRUCTURE D'ORGANITES CELLULAIRES

Observer et légender les différentes microphotographies représentant diverses structures cellulaires.
Estimer, à chaque fois qu'il le faut, la taille réelle de la structure observée.

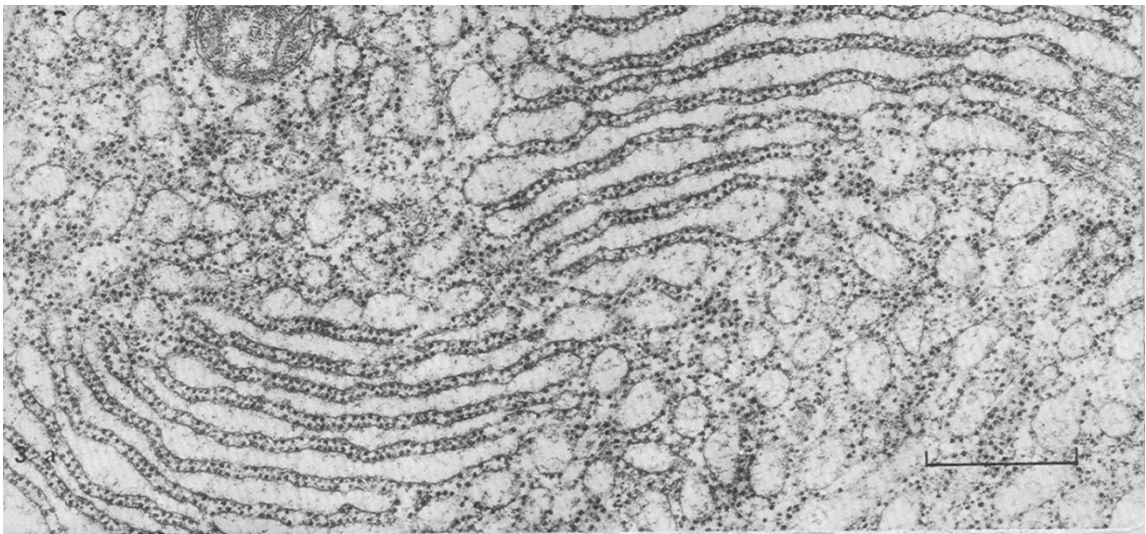


Ultrastructure de la membrane plasmique (à 2 grossissements différents).

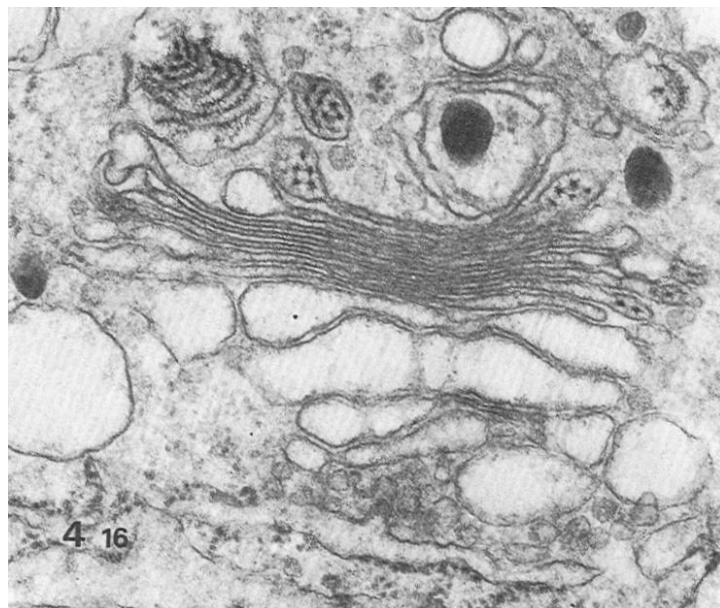
Le système endomembranaire :



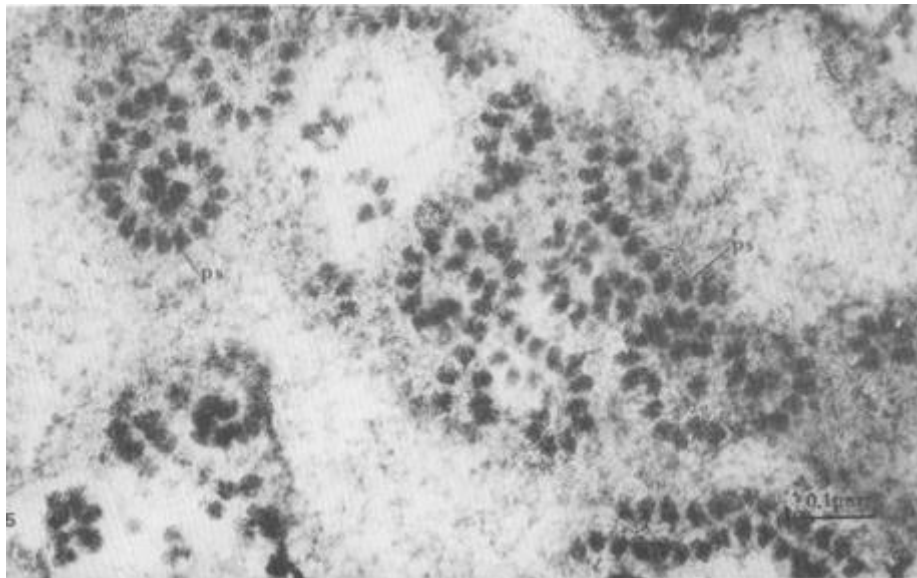
Réticulum endoplasmique lisse (G X25 000)



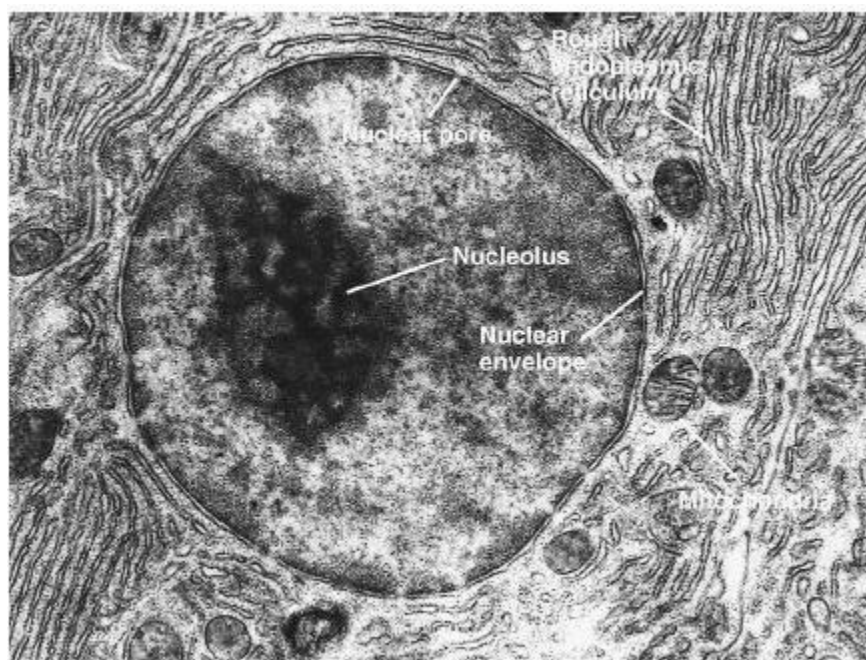
Réticulum endoplasmique rugueux



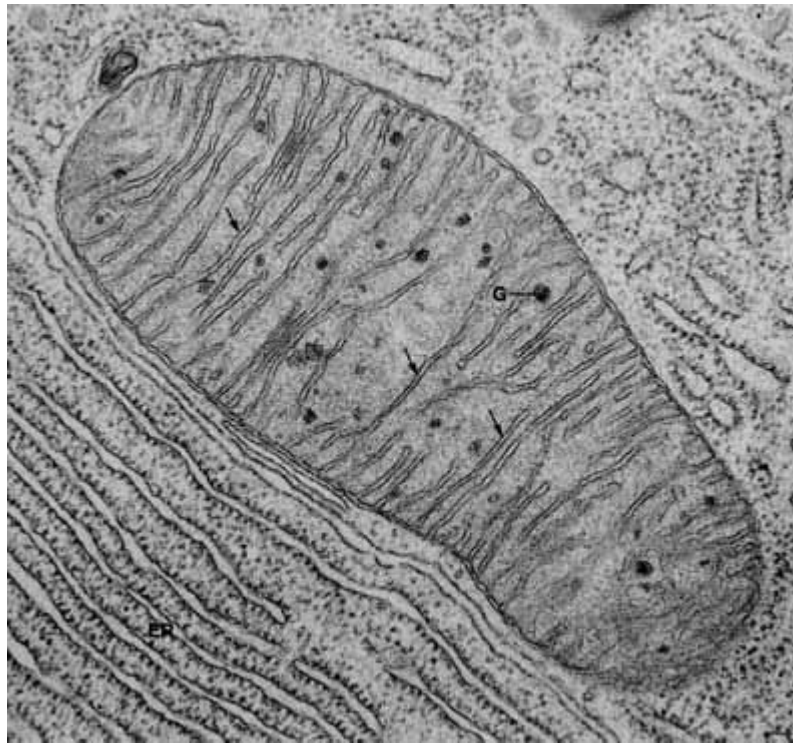
Appareil de Golgi (G X50 000)



Polysomes (G X180 000)



Noyau interphasique (G X10000)



Ultrastructure d'une mitochondrie (G X18000)



Ultrastructure d'un chloroplaste (G X33 000)

LA PERMEABILITE CELLULAIRE

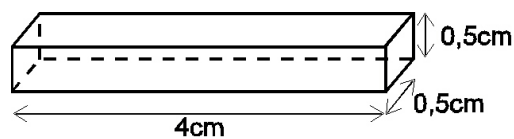
Le but de ce T.P. est l'étude des mouvements d'eau par diffusion à travers la membrane plasmique suivant des gradients de concentration. L'étude porte sur des cellules végétales (cellules de l'épiderme interne d'écaille de bulbe d'oignon et pomme de terre).

I. LA POMME DE TERRE : DETERMINATION DE LA PRESSION OSMOTIQUE

Cette manipulation se fait en deux temps.

A. Réalisation de l'expérience

Eplucher la pomme de terre qui vous est fournie. Tailler soigneusement 5 morceaux parallélépipédiques ayant approximativement les dimensions suivantes :



Les cinq morceaux doivent avoir des formes similaires. Mais leurs longueurs (que vous allez mesurer) peuvent être différentes. Vos mesures doivent être très exactes.

Vous disposez de 5 tubes à essai contenant :

- Tube n°1 : de l'eau de robinet,
- Tube n°2 : une solution 0,15M en saccharose,
- Tube n°3 : une solution 0,3M en saccharose,
- Tube n°4 : une solution 0,6M en saccharose,
- Tube n°5 : une solution 0,9M en saccharose.

Placer un morceau de pomme de terre dans chacun des tubes durant 2 heures. Pendant ce temps, il faut réaliser le 2^{ème} groupe de manipulations sur l'oignon.

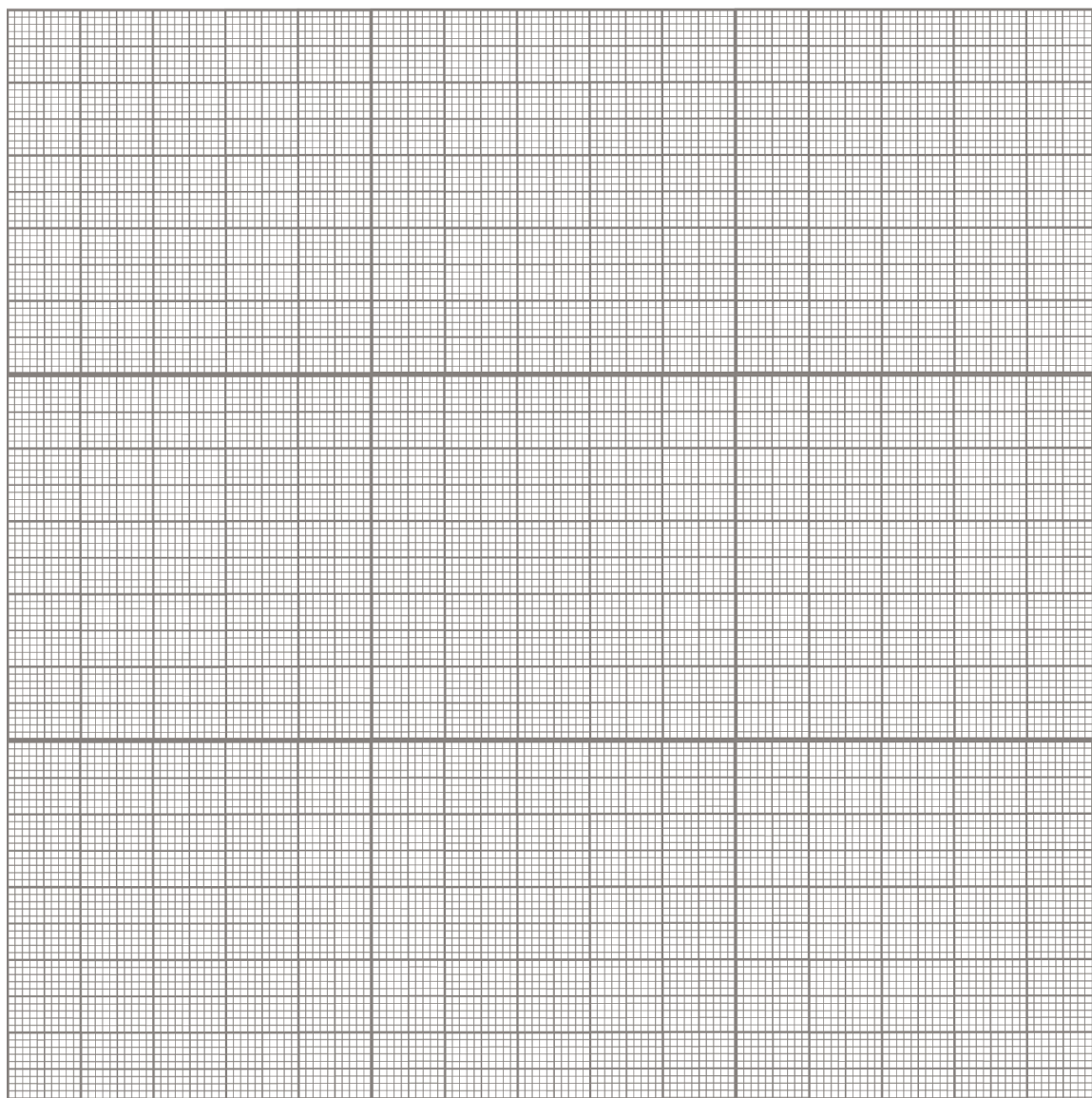
B. Résultats et commentaires

Au bout de ce temps (2H), calculer la variation ΔL : $\Delta L = 100 * (L - L_0) / L_0$

- L_0 = longueur initiale de la grande arête,
- L = longueur au bout de 2H.

	Eau (0 M)	0,15 M	0,3 M	0,6 M	0,9 M
L_0 (cm)					
L (cm)					
ΔL					

Tracer la courbe ΔL en fonction de la concentration molaire en saccharose des différentes solutions :



Commenter cette courbe :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

II. MISE EN EVIDENCE DES PHENOMENES DE PLASMOLYSE ET DE TURGESCE

Matériel biologique : épiderme interne d'écaillés de bulbe d'oignon.

Prélever avec des pinces fines au moins cinq fragments d'épiderme (de 1-2 mm).

Colorer ceux-ci en les plaçant, pendant 5 min, dans un verre de montre contenant du rouge neutre.

Interrompre la coloration en plaçant ces divers fragments dans un verre de montre contenant de l'eau de robinet.

A. Mesure de la pression osmotique du suc vacuolaire de la cellule d'oignon

1. Définition de la plasmolyse limite

Elle est atteinte lorsque 50 % des cellules commencent à se plasmolyser : cellules présentant un début de décollement de la membrane plasmique au niveau des angles.

2. Manipulation

Monter les fragments d'épiderme dans les solutions suivantes : eau de robinet, saccharose 0,15M ; 0,3M ; 0,6M et 0,9M.

3. Expression des résultats

Faire un tableau où vous indiquerez l'état des cellules (plasmolyse P ou turgescence T) pour chaque concentration.

	Eau (0M)	0,15 M	0,3 M	0,6 M	0,9 M
Etat des cellules					

Indiquer les concentrations qui permettent de cerner la plasmolyse limite :

.....
.....

En déduire les valeurs de la pression osmotique entre lesquelles est comprise celle du suc vacuolaire. Expliquer votre raisonnement

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Dessin : *cellule en plasmolyse et cellule en turgescence.*

C. La déplasmolyse provoquée

Choisir un montage où les cellules sont bien plasmolysées. Remplacer la solution de saccharose initiale par de l'eau du robinet.

Décrire et interpréter ce que vous observez. Réalisez votre commentaire en répondant à toutes les questions posées. Doivent absolument apparaître, bien définis, les mots clefs suivants : *hypoosmotique* (ou *hypotonique*), *isoosmotique* (ou *isotonique*), *hyperosmotique* (ou *hypertonique*).

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....