

COMPLEMENTS DE BIOLOGIE ANIMALE

A. INVERTEBRES (LBIO 1231A)

Prof. C. Nieberding et Dr. A.-C. Mailleux
(Earth and Life Institute, Biodiversity Research Centre)

Travaux pratiques et lectures pour les BACI2 BIOL

Mis à jour en 2012-2013
par
Mlles D. Bourdais et O. Kuznetsova,
avec l'aide de
Mr. M. Dallemagne, Mlle A. Nicolas, Mr A. Taminiau

OBJECTIFS DES TRAVAUX PRATIQUES

L'objectif global du laboratoire est de vous présenter un aperçu des principaux groupes d'animaux.

OBJECTIFS CONCEPTUELS :

À la fin de ce cours et pour les groupes d'organismes suivants (Protistes, Spongiaires, Cnidaires, Plathelminthes, Nématodes, Mollusques, Annélides et Arthropodes), vous devrez être en mesure de:

1. Identifier l'embranchement auquel appartient tout organisme animal qui vous sera présenté et savoir le justifier à l'aide de critères morphologiques et/ou histologiques
2. Comprendre comment les membres de ces groupes se déplacent, s'alimentent, respirent, se débarrassent de leurs déchets métaboliques, se reproduisent et perçoivent leur environnement
3. Mettre en évidence des adaptations morphologiques/anatomiques liées au milieu de vie
4. Mettre en relation les coupes étudiées avec les fonctions des organes, les structures anatomiques et la morphologie des individus complets. Expliquer les regroupements d'embranchements respectant l'histoire évolutive (tableaux récapitulatifs à la fin de chaque section)

OBJECTIFS TECHNIQUES :

1. Pouvoir disséquer/identifier les structures principales associées à la locomotion, la respiration, la circulation, l'excrétion, la digestion, la reproduction et la perception
2. Définir et utiliser correctement les termes zoologiques (attention à leur orthographe !!!) et comprendre leur signification (cfr glossaire des termes latins/grecs)
3. Maîtriser l'utilisation du microscope et de l'oculaire micrométrique
4. Savoir schématiser une coupe en vue de retenir les éléments importants

PREPARATION DES TRAVAUX PRATIQUES

Afin de vous permettre de travailler le plus efficacement possible, nous vous demandons de **préparer chaque séance à l'avance**.

Pour cela, vous disposez des notes de TP, du planning des travaux pratiques par semaine, des supports PowerPoint pour la préparation des dissections et bien évidemment du support audio-visuel qui **doit être vu** avant la séance.

Dans la suite de ce document, vous trouverez un planning des TPs par semaine qui vous indiquera la matière à préparer pour chaque séance. Nous vous indiquerons à l'avance le matériel à amener pour les diverses dissections que vous aurez à faire.

EN RÈGLE GÉNÉRALE, POUR TOUS LES TP :

- **on vous demandera de parcourir attentivement les préparations proposées avant de commencer les dessins/schémas. Cela vous permettra d'avoir une vue d'ensemble de la préparation et de la richesse d'information qui s'y trouve, mais également de choisir des individus ou segments de coupe où les structures caractéristiques sont les mieux préservées.**
- **Lorsque des schémas vous sont proposés dans votre cahier de labo, pensez à bien observer les coupes et ne légendez pas simplement le schéma en recopiant ceux de votre audio-visuel. En effet, un schéma n'est pas toujours identique à la réalité et à la diversité des coupes mises à votre disposition. N'hésitez pas à colorier le schéma ou à l'annoter pour vous souvenir de vos observations réelles ! Rappelez vous que l'examen se fait sur une coupe et non sur un schéma !**
- **Lorsque vous disposez de plusieurs coupes/bocaux par groupe taxonomique, il vous sera demandé de faire les relations entre les différents matériaux disponibles (par exemple, où est située la coupe par rapport à l'in toto ?)**
- **Nous vous demandons également d'établir une série de critères permettant de classer les individus observés au sein d'un embranchement**

Afin de vous préparer à l'examen, nous organisons une séance de révision des coupes lors de la dernière séance de TP. **Toutes** les préparations vues au cours du quadrimestre peuvent potentiellement faire partie de la matière d'examen et méritent donc toute votre attention.

EVALUATION

L'évaluation sera faite sur base :

1. d'interrogations (« quizz ») faites pendant le quadrimestre. Il s'agira d'identifier le groupe taxonomique (l'embranchement) auquel appartiennent les préparations et les coupes vues lors des TPs, et d'y reconnaître les diverses structures et systèmes permettant à l'animal de respirer, manger, se déplacer, se reproduire,... (cfr notes de TP). Les rapports sont donc un support indispensable pour vous préparer à ces interrogations, mais ne seront pas cotés. Vous serez informés à l'avance des dates de ces interrogations.
2. Un travail intégratif par groupes vous sera demandé à la fin du quadrimestre afin de mieux relier la partie théorique et la matière vue aux TPs : vous devrez reclasser, et justifier votre classement, une série d'organismes vus et non vus présentés sous forme d'animaux in toto, en coupes, vivants ou fixés.
3. L'examen des travaux pratiques, qui se passe en même temps que l'examen théorique, consiste en l'analyse au microscope à double-tête de préparations vues au cours des TPs, et d'une dissection. Vous serez évalués sur votre capacité à atteindre les objectifs de ce TP (voir page précédente).

RÉPARTITION DES POINTS

Partie « Non Vertébrés »	Théorie	12
	Quizz et rapport de TP intégratif	3
	Examen de TP	3
	Problèmes/présentation orale	2

Quelques abréviations utilisées dans les préparations :

w.m. (*whole mount, Angl.*)= individu en entier (coloré et aplati entre la lame et la lamelle)

in toto (lat.) =individu en entier

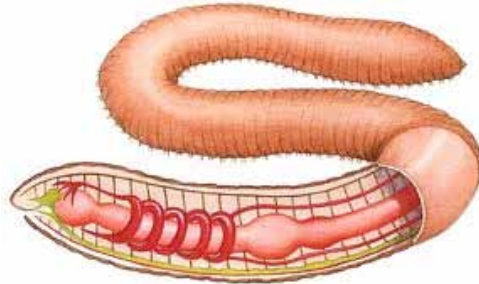
C.S. (*circular section*) = **t.s.** (*transversal section, Angl.*) = coupe transversale (CT)

L.s. (*longitudinal section, Angl.*)= coupe longitudinale (CL)

(Blood) smear (*Angl.*)= frottis (sanguin)

Exemple : ver de terre

- En coupe longitudinale : selon l'axe longitudinal, permet de séparer la partie ventrale de la partie dorsale



- Coupe transversale : selon l'axe dorso-ventral qui permet de séparer la partie antérieure de l'animal de la postérieure

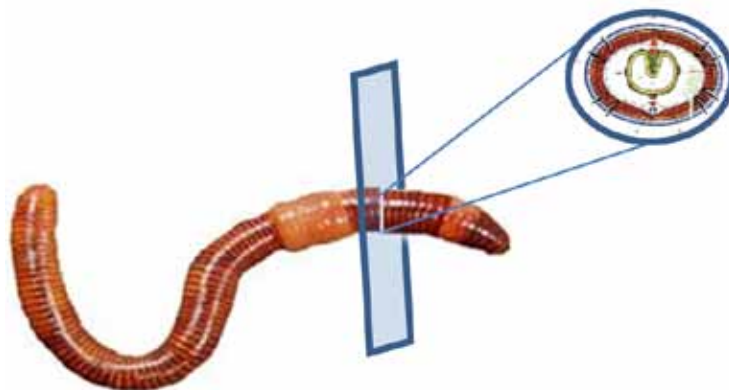
Vous pouvez également rencontrer les plans de coupes suivants :

- Coupe frontale : Il s'agit d'imaginer un fil à couper le beurre, tendu entre deux doigts placés à droite et à gauche du sujet. On abaisse le fil et la coupe est faite.

Exemple : une coupe frontale de la tête passant par les deux oreilles.

La coupe frontale, lorsqu'on regarde le sujet de face, peut se trouver plus ou moins loin de la face antérieure. Certains éléments seront donc visibles ou non.

- Coupe sagittale : il s'agit d'une coupe antéro-postérieure. Le fil à couper le beurre, tendu entre deux doigts. Ces doigts sont placés respectivement en avant et en arrière du sujet. Cela donnera donc une coupe qui passera, dans l'exemple du bonhomme du schéma ci-dessous, par le nombril et toute la colonne vertébrale



Répartition des séances de TP, quizz et matière théorique à voir

Semaine	BIOL			
	Audio-visuel	Eléments cotés	Intro	TP
1	Protistes			
	Songiaires			
2	Cnidaires		V	Protistes
				Protistes
3	Platyhelminthes			Protistes moléculaire
			V	Songiaires
4	Annélides/ Développement des Proto- et Deutérostomiens			Cnidaires
			V	Platyhelminthes
5	Annélides/Mollusques	quizz 1		Platyhelminthes
				Annélides
6	Mollusques fin			Annélides (dissection du lombric)
				Annélides
7	Rotifères/Nématodes			Mollusques (dissection de la moule)
				Mollusques (dissection du buccin)
8	Arthropodes			Rotifères
				Nématodes
9	Arthropodes diversité	quizz 2		Arthropodes (dissections du criquet et de l'écrevisse)
				Arthropodes
10	Echinodermes/ Urochordés/Céphalochordés *			Arthropodes diversité
11				Intégratif parasites
12				Intégratif espèces inconnues
13		rapport		Intégratif espèces inconnues
14	Questions/Réponses			

* Chapitres non-obligatoires

■ TP Protistes (6 h)

OBJECTIFS :

1. Découvrir, organiser et classer la diversité des protistes sur base des préparations proposées (animaux vivants et fixés)
2. Introduire les principes de phylogénie sur base d'analyse moléculaire et croisement des données morphologiques avec les données moléculaires disponibles en vue de la classification des individus

Vous serez donc amenés à :

- Trouver des critères morphologiques permettant la classification des individus observés
- Apprendre à utiliser les critères moléculaires sur ordinateur

INTRODUCTION :

On regroupe sous le nom de PROTISTES les êtres vivants **eucaryotes unicellulaires**. Leur classification fait l'objet de bien des controverses, mais leur **origine polyphylétique** est de plus en plus probable. Ils ne constituent donc pas un Embranchement ou Phylum suivant la définition actuelle, et ce nom de « Protistes » regroupe des organismes d'origines évolutives très diverses. A défaut d'un autre cadre, c'est dans celui du cours de Zoologie que l'on traitera des Protistes.

Nous verrons au cours de ce TP une série de représentants emblématiques des embranchements principaux de Protistes. Vous les découvrirez d'abord lors d'une séance au niveau morphologique et comportemental grâce à une série de préparations fixées et d'organismes à observer vivants au microscope. On parle de caractères phénotypiques.

Vous aurez ensuite accès à une partie de leur patrimoine génétique, on parle de caractère génotypique. Le but de cette seconde séance est de vous familiariser d'une part avec la complexité du problème que posent les biologistes qui veulent organiser la diversité de la vie sur Terre, et d'autre part avec les solutions qu'ils ont développées pour résoudre ce problème. Dans ce but, nous vous demandons donc de proposer, sur base de caractères phénotypiques puis génotypiques, une classification des Protistes qui vous sont présentés.

PARTIE 1: Identification de caractères phénotypiques pour la classification des Protistes

1. **Complétez le tableau de critères morphologiques permettant l'identification des différents individus que vous allez observer au cours de ce TP et essayez de classer les individus sur base de ces critères :**

2. Observation de la coupe «*Mixed Protozoa, w.m.*»

Dans les préparations les colorations sont artificielles et ne servent qu'à améliorer les contrastes des structures. Elles ne sont en aucun cas un critère de distinction des espèces.

Dans cette préparation retrouvez une Amibe.

L'Amibe est dulçaquicole. Elle n'édifie ni squelette interne, ni squelette externe. Son corps, tantôt ramassé sur lui-même, tantôt très allongé, est de forme variable et irrégulière. Il peut atteindre 500 μm . Il développe des lobes arrondis ou des évaginations digitiformes, les **pseudopodes**. Le corps est limité par une **membrane plasmique**. Le **cytoplasme** contient les organites cellulaires traditionnels : un noyau ovalaire, des vésicules contenant des particules alimentaires (**vacuoles alimentaires**), une **vacuole pulsatile**, et diverses **inclusions**.

Faites un schéma d'une Amibe. Légendez-y les structures citées en gras dans les notes de TP. Estimez la taille de cet individu.

3. Observation de la coupe « *Euglena, w.m.* »

En parcourant cette préparation, on repère facilement des individus de grande taille, fusiformes, assez colorés, dont le **cytoplasme** renferme, à côté d'un noyau central rond à gros nucléole, une série d'**inclusions**. Certaines inclusions comportent une région centrale de même taille que le nucléole, se prolongeant par deux expansions fusiformes ; ce sont des **plastés chlorophylliens**. Ces protistes sont donc capables de photosynthèse ; ce sont des « Euglènes ». L'une des extrémités de ces individus est pointue, l'autre est tronquée et s'enfonce en goulot d'où sort un **flagelle** visible en utilisant les réglages adéquats du microscope.

Schématisez et légendez à l'aide des notes (mots en gras) une Euglène. Estimez sa taille et légendez les structures en gras dans les notes de TP.

4. Observation de la coupe de *Trypanosoma sp.*

On étudie les Trypanosomes dans des frottis de sang d'individus atteints de la maladie du sommeil. Les préparations disponibles proviennent de rats (« *Trypanosoma rhodesiense* in blood smear rat ») ou d'Homme (« *T. gambiense* »). Les Trypanosomes se trouvent dans le plasma entre les globules rouges (dépourvus de noyaux) et les globules blancs (dotés d'un noyau rond ou multilobé, fortement coloré en violet).

Le corps de *T. rhodesiense* est **fusiforme**. Il porte un seul **flagelle** implanté sur un cinétosome situé au voisinage du **kinétoplaste** à **l'extrémité postérieure** de l'animal, en arrière du noyau. Le flagelle se dirige vers l'avant en soulevant la membrane plasmique, formant ainsi la structure appelée **membrane ondulante**. Seule l'extrémité du flagelle, situé à l'extrémité antérieure de l'animal, est libre. Le flagelle vous permet donc **d'orienter** l'animal.

Observez l'individu, faites un schéma vous permettant de repérer les structures citées en gras dans les notes de TP. Estimez sa taille.

5. Observation de la coupe de *Trichomonas vaginalis*

La préparation (« *T. vaginalis*, smear ») consiste en un frottis coloré réalisé à partir d'une culture in vitro inoculée avec un prélèvement vaginal d'une femme. Celle-ci souffrait de vaginite purulente due à la présence de ce parasite vivant dans les cavités des voies génitales humaines. La réalisation de ce frottis entraîne facilement des déplacements de structures et est source d'artéfacts. On recherchera donc des individus bien préservés où l'ensemble des caractéristiques décrites est visible.

Ces Protistes, en forme de poire lorsqu'ils sont vivants, prennent dans le frottis une forme lenticulaire plate. Ils mesurent en moyenne une vingtaine de μm de long. Ils portent à la **région antérieure** cinq flagelles implantés sur le cinétosome au-dessus du **noyau** ovoïde. Le granule sphérique surplombant le noyau correspond au **complexe kinétoplastique** ; des fibrilles relient ces structures. Un **axostyle** tubulaire, formé de microtubules, parcourt la longueur du corps et paraît faire saillie à l'arrière où il reste cependant enveloppé par la membrane plasmique. Quatre des cinq **flagelles** sont **libres**, le cinquième, rabattu le long du corps sous la membrane plasmique, forme une courte **membrane ondulante**, puis devient libre à l'arrière.

Observez l'individu, faites un schéma vous permettant de repérer les structures citées en gras dans les notes de TP. Estimez sa taille.

6. Observation de *Plasmodium malariae*

La préparation (« *Pl. malariae*, blood smear ») consiste en un frottis de sang d'un individu atteint de malaria : on trouve les parasites à l'intérieur des globules rouges.

Observer tout d'abord l'aspect des différents types de globules sanguins du frottis de façon à ne pas confondre certains **leucocytes** avec les globules rouges parasités. Rechercher ensuite des **globules rouges** infectés : ils sont légèrement rétractés ou présentent dans leur cytoplasme une structure pouvant ressembler à un noyau, d'où la confusion possible avec des leucocytes.

Parmi eux, repérer en particulier :

- un globule rouge contenant un parasite de petite taille, uninucléé, pauvre en cytoplasme : c'est un **schizozoïte** (= agamocyte)
- un globule rouge contenant un parasite de grande taille, occupant presque tout le cytoplasme, présentant une vacuole et contenant des granules noirs irréguliers, produits de dégradation de l'hémoglobine : il s'agit soit d'un **trophozoïte** (= agamonte), soit d'un **gamonte**
- un globule contenant une rosace de schizozoïtes en formation. C'est la phase de multiplication agame. Vous observez donc le stade **schizonte**
- un globule contenant des **schizozoïtes** individualisés. Une fois les schizozoïtes arrivés à maturité, l'éclatement du globule libère dans le sang des individus susceptibles de recommencer le cycle agame ou de se transformer en gamètes qui achèveront leur évolution à condition d'être absorbés par un Anophèle (moustique) d'une espèce appropriée.

Observez, identifiez et schématisez les différents stades du cycle du parasite présents dans ce frottis sanguin. Notez les critères utilisés pour l'identification de chacun d'entre eux.

Quel est le stade le plus/le moins fréquent ?

7. Observation des organismes vivants

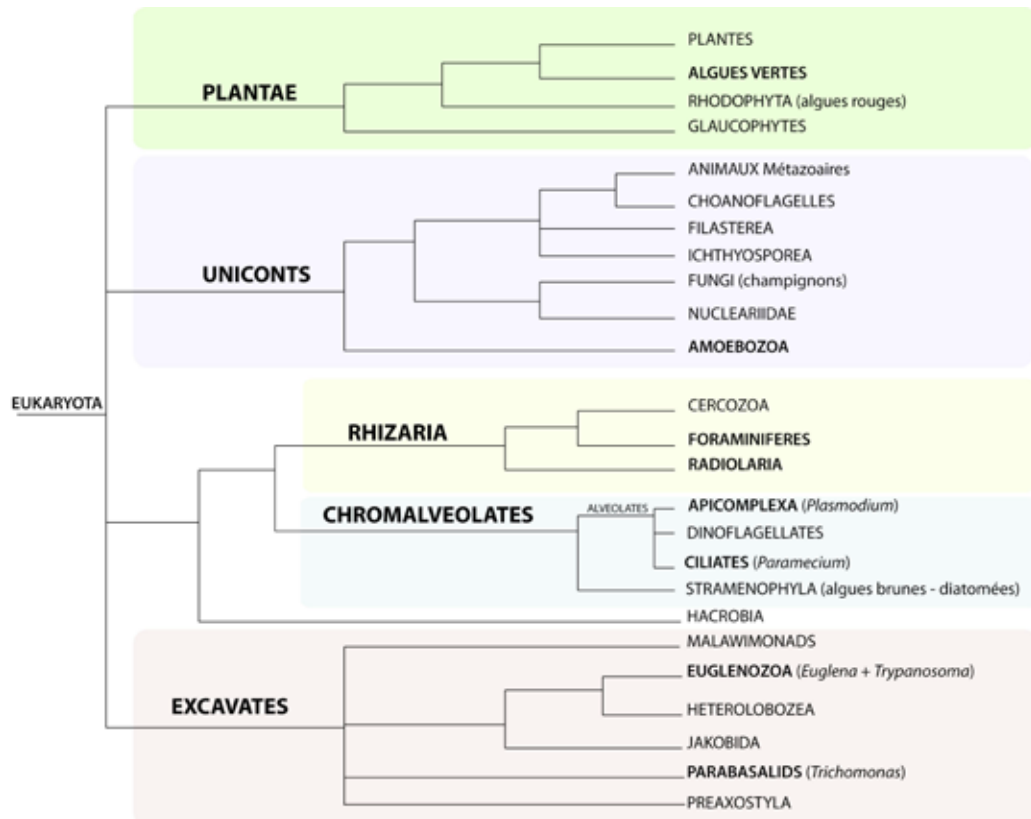
Parmi les animaux observables dans ces préparations, vous pourrez rencontrer un grand nombre de Paramécies de différentes tailles.

La Paramécie est un cilié dulçaquicole atteignant une taille relativement grande (250 μm). Des **cils** de longueur uniforme, sont disposés en rangées parallèles sur tout le corps. On les distingue aisément en périphérie.

La région moyenne du corps présente une dépression en entonnoir, le **péristome**. Au fond de celui-ci se trouve le cytostome ou bouche. Dans le **cytoplasme**, l'appareil nucléaire occupe une position centrale : il est constitué de deux types de noyaux, **macronucleus** (végétatif) et **micronucleus** (reproducteur). Ce dernier n'est pas toujours visible car c'est un granule dense logé dans une échancrure du macronucleus lui-même fort coloré. Deux **vacuoles pulsatiles**, discernables lorsqu'elles sont en diastole (gonflées), sont disposées l'une au-dessus de l'autre sur une des faces, au tiers supérieur et au tiers inférieur. En systole (contractées), on ne les distingue pas. Le cytoplasme peut également contenir diverses **vacuoles alimentaires**.

Schématisez les organismes unicellulaires que vous pouvez observer dans les préparations contenant les animaux vivants qui vous sont proposées. Notez leur mode de déplacement si vous l'observez.

8. Remplacez les individus que vous avez observés dans l'arbre phylogénétique suivant selon les connaissances acquises dans le syllabus théorique :



PARTIE 2 : Utilisation des caractères moléculaires pour établir les relations évolutives des Protistes.

Vous avez tenté la semaine passée de classer une série de Protistes (vivants, en coupe, ou sur base de photos de microscopie électronique) sur base de caractères phénotypiques, c'est à dire sur base de leur morphologie, de leur physiologie ou de leur comportement. Les systématiciens ont fait de même pendant plusieurs siècles, mais les résultats différaient énormément en fonction des caractères choisis. Les différentes solutions que vous avez obtenues reflètent cette difficulté de la même façon.

Aujourd'hui vous allez découvrir l'approche développée cette dernière décennie pour venir à bout du classement des Protistes. Cette méthode est la phylogénie moléculaire et vous allez être initié au BABA de la méthode sur ordinateur.

EXERCICE 1

A quoi correspondent les différentes lignes du fichier « `sequence protistes.txt` » ?
Et les colonnes ?

EXERCICE 2

A quel gène, ou portion du génome, provient la séquence copiée dans ce fichier ? Pour répondre à cette question, utilisez l'application « Blast » développée par NCBI (National Centre for Biotechnology Information) aux USA et disponible gratuitement dans le monde : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi?PAGE=Proteins>. Résumez le principe de votre démarche ci-dessous.

EXERCICE 3

Qu'est-ce qu'un « caractère moléculaire » ? En quoi cela diffère-t-il d'un « caractère génotypique » ?

EXERCICE 4

Dans quel(s) cas l'utilisation de caractères moléculaires s'avère-t-elle appropriée ?

EXERCICE 5

Comment procède-t-on pour construire un arbre phylogénétique sur base de caractères phénotypiques ou génotypiques ?

EXERCICE 6

Quelles observations pouvez-vous tirer de l'arbre phylogénétique que vous avez produit ?
Les relations entre protistes sont-elles proches de ce que vous aviez établi sur base des caractères phénotypiques ?