LABORATOIRE VIRTUEL

« Impact de l'acidification de l'océan sur la croissance des larves d'ormeau »

Scénario détaillé de l'expérience

ETAPE 1:

Préparation des milieux

Sur la paillasse, des larves d'ormeaux tout juste écloses sont placées dans un bécher. Les larves à l'éclosion sont au stade trochophore. Deux erlenmeyers reçoivent l'eau de mer fraîche collectée quelques heures avant, au bas d'eau de la plage de Roch' Kroum, à Roscoff (pH naturel de 8,1). Des lames porte-objets et les lames minces associées pour visualisation au microscope des larves après culture de quelques jours, sont mises à disposition. Deux erlenmeyers, une pipette pasteur, un pHmètre et une bombonne d'eau de mer pH 8,1, sont placés sur la paillasse.

L'étape 1 est décrite ci-après:

- Remplir l'erlenmeyer 1 et 2 d'eau de mer (grand cru roscovite de pH 8,1).
- Mesurer le pH de l'erlenmeyer 1 .
- Rincer la sonde du pHmètre sous l'eau distillée, dans la zone de lavage.
- Mesurer le pH de l'erlenmeyer 2.
- Rincer la sonde du pHmètre sous l'eau distillée, dans la zone de lavage
- Coller l'étiquette pH 7,7 sur l'erlenmeyer 1 et l'étiquette pH 8,1 sur l'erlenmeyer 2 (le pH de l'eau de mer actuelle est de 8,1).
- Mettre les barreaux magnétiques dans les erlenmeyers 1 et 2. Ces barreaux magnétiques serviront à mélanger l'eau de mer lorsqu'ils seront placés ultérieurement sur l'agitateur magnétique.
- Placer l'erlenmeyer 1 (pH= 7,7) sur l'agitateur magnétique .
- Dissoudre du gaz CO₂ dans l'erlenmeyer 1 afin d'obtenir de l'eau de mer au pH= 7,7 . Le CO₂ se dissout dans l'eau durant la phase de mélange.
- Mesurer de nouveau le pH de l'erlenmeyer 1 . Le CO₂ dissous dans l'eau abaisse le pH à 7,7.
- Rincer la sonde du pHmètre sous l'eau distillée, dans la zone de lavage.

Pour passer à l'étape suivante de l'expérimentation, il est demandé à l'opérateur de déplacer la mouette dans la vitre de droite.

ETAPE 2:

Préparation des échantillons

Cette étape a pour but de mettre en culture des larves d'ormeaux à l'état trochophore. Les larves sont prélevées dans un bécher et placées dans des erlenmeyers contenant de l'eau de mer à pH 7,7 et pH 8,1. Après mélange sur un agitateur magnétique, les 6 flacons sont remplis avec l'eau de mer

contenant les larves. Les flacons sont ensuite placés pendant 2 jours sur l'agitateur orbital.

- Remplir la pipette de suspension larvaire.
- Mettre quelques gouttes dans l'erenmeyer 1 (pH 7,7), puis dans l'erenmeyer 2 (pH 8,1).
- Laver la pipette sous le robinet.
- Mettre les étiquettes réplikat pH 7,7 sur 3 les flacons pH 7,7.
- Mettre les étiquettes réplikat pH 8,1 sur les 3 flacons pH 8,1 .
- Mélanger le contenu de l'erenmeyer pH 7,7 sur l'agitateur magnétique.
- Remplir à ras bord les flacons réplikat pH7,7 avec le contenu de l'erenmeyer pH 7,7 contenant les larves d'ormeaux au stade trochophore.
- Mélanger l'erenmeyer pH 8,1 .
- Remplir à ras bord les flacons réplikat pH 8,1 avec le contenu de l'erenmeyer pH 8,1 contenant les larves d'ormeaux au stade trochophore.
- Placer les 3 flacons pH 7,7 sur l' agitateur orbital, puis les 3 flacons pH 8,1 et l'allumer.
- Laisser l' agitateur orbital en fonctionnement durant 2 jours. Celui-ci sera arrêté lors de la reprise de l'expérimentation au jour J+2 .

ETAPE 3:

Visualisation des larves après 2 jours de culture et changement d'eau

Cette étape a pour but de visualiser au microscope les larves 2 jours après mise en culture. A la fin de l'étape, il est procédé au changement de l'eau de culture des larves. Pour cela, l'eau contenant les larves est filtrée par aspiration. Les flacons sont ensuite remplis de l'eau de mer fraîche contenue dans les erlenmeyers dont l'eau de mer a été renouvelée et ajustée aux bonnes valeurs. Pour terminer, les 6 flacons sont replacés sur l' agitateur orbital pendant 3 jours.

Il est procédé comme suit:

- Eteindre l' agitateur orbital et placer les 6 flacons sur la paillasse.
- Mesurer le pH des flacons étiquetés pH 7,7 et ceux étiquetés pH 8,1 . Noter dans le cahier d'expériences la valeur du pH mesurée. On remarquera que le pH dans les flacons 7,7 a légèrement augmenté. Ceci est dû aux échanges avec l'atmosphère : le CO₂ atmosphérique fait tendre à un équilibre vers un pH de 8,1 .
- Prendre quelques gouttes de la solution des flacons pH 7,7 avec la pipette pasteur.
- Verser une goutte de la solution de la pipette sur la lame 1 et laver la pipette dans la zone de lavage.
- Regarder au microscope la lame préparée.
- Laver la lame utilisée et la placer dans le range-lame.
- Procéder de même avec les flacons étiquetés 8,1 .
- Noter, sur le cahier d'expériences, les constatations effectuées lors de l'examen des larves au microscope.
- Changer l'eau des flacons afin que les larves continuent normalement leur croissance.
- A l'aide d'un dispositif de filtration inversé, drainer les flacons pH 7,7 et ne garder que les larves en culture et une petite quantité de liquide dans les flacons.
- Procéder de même avec les flacons pH 8,1 .
- Remplir les flacons pH 7,7 d'eau de mer au pH 7,7 contenue dans l'erenmeyer étiqueté pH 7,7 .
- Remplir les flacons pH 8,1 d'eau de mer au pH 8,1 contenue dans l'erenmeyer étiqueté pH 8,1 .

- Placer les flacons pH 7,7 puis pH 8,1 sur l'agitateur orbital et l'allumer.

ETAPE 4:

Visualisation des larves de 5 jours

Après avoir arrêté l'agitateur orbital et replacé les flacons sur la paillasse, prélever les larves de 5 jours contenues dans les flacons et procéder à l'examen de celles-ci au microscope.

- Prendre quelques gouttes de la solution des flacons pH 7,7 avec la pipette pasteur.
- Verser une goutte de la solution de la pipette sur la lame 1 (en conditions réelles, il faudrait préparer une lame pour chaque flacon).
- Laver la pipette.
- Procéder de même pour la lame 2 et les flacons étiquetés 8,1 .
- Regarder au microscope la lame 1 puis la lame 2.
- Laver la lame 1 puis la placer dans la boîte à lames.
- Procéder de la même façon pour la lame 2.
- Noter, sur le cahier d'expériences, les constatations effectuées lors de l'examen des larves au microscope.