TECHNIQUES DE COLORATION POUR ETUDIER LA CELLULE

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Méthodes de coloration des cellules d’un prélèvement ou d’une coupe de tissus | | | |  | |
| Monter directement l’échantillon dans une goutte de colorant,  * Ou **traiter** l’échantillon avant montage, entre lame et lamelle, * Ou **monter** l’échantillon dans une goutte d’eau, puis **remplacer** l’eau par le colorant à l’aide d’un buvard ou d’un papier absorbant. (1) | | | |
| **Colorer les vacuoles**  (*inutile pour les cellules dont les vacuoles sont naturellement colorées*) | | | En rouge avec le rouge neutre à faible concentration  (coloration vitale pour la cellule) | | |
| Colorer le cytoplasme | | | En brun avec de l’eau iodée (toxique pour la cellule) | | |
| **Colorer le noyau** | | - En brun avec l’eau iodée (toxique pour la cellule) ; un ou plusieurs globules réfringents (les nucléoles) y sont souvent reconnaissables,  - En bleu avec le bleu de méthylène (toxique pour la cellule),  - En bleu avec les colorants de May-Grünwald et Giemsa (voir technique du frottis sanguin). | | | |
| **Colorer des gouttelettes d’huile du cytoplasme** | | | En rouge orangé avec une solution alcoolique de Soudan III | | |
| **Colorer les amyloplastes du cytoplasme** | | | En bleu ou en brun avec de l’eau iodée (toxique pour la cellule) | | |
| **Colorer la cellulose et la lignine des parois cellulaires végétales** | | | | | |
| **1** - **Déposer** les coupes ou les prélèvements végétaux dans un verre de montre rempli d’eau,  **2 -** **Transférer** les coupes dans les verres de montre 2, 3, 4, 5 et 6 en respectant les temps indiqués sous chaque dessin. L’eau de Javel détruit le contenu des cellules mais conserve les parois quelle que soit leur nature chimique,  **3 -** Un bon rinçage dans deux bains successifs élimine l’eau de Javel qui nuirait à la coloration,  **4 -** L’acide acétique détruit les traces résiduelles d’eau de Javel et facilite la fixation ultérieure des colorants sur les parois,  **5 -** Le carmino-vert est un mélange renfermant dix parties de carmin aluné pour une partie de vert d’iode. Le **carmin aluné colore en rose les parois cellulosiques** et **le vert d’iode colore en vert les parois lignifiées,**  **6 -** Un rinçage final permet d’éliminer l’excédant de colorant avant le montage de la coupe entre lame et lamelle. | | | | |  |
| **Colorer la callose de la paroi des hyphes de « champignons »** | | | | | |
| 1. **Laver** précautionneusement les racines et **sélectionner** les plus jeunes, les **couper** à une longueur de 1-2 cm. 2. Placer les racines dans un tube à essai avec une solution de potasse à 10 % puis chauffer au bain-marie 90° C durant 30 min (cette opération détruit le contenu des cellules végétales et décolore les tanins des racines ligneuses. La solution devient alors brun-rouge) 3. **Filtrer** les fragments de racines dans un tamis **en récupérant** dans un récipient la solution de potasse. 4. **Rincer** avec l’eau acidifiée pour neutraliser. 5. **Immerger** les fragments de racinesdans 4mL de bleu coton au bain marie à 90° C pendant 10 minutes**.** 6. **Filtrer** à nouveau dans un tamis et **rincer** à l’eau distillée. 7. **Écraser** ces prélèvements entre deux lames**.** | | | | | |
| Colorer l’ADN et l’ARN | | | | | |
| Test de Brachet | **1** - **Placer** l’échantillon dans un mélange vert de méthyle - pyronine pendant 2 min,  **2** - **Rincer** l’échantillon dans de l’eau,  Le vert de méthyle colore **l’ADN des noyaux en vert**, à l’exception des nucléoles et la pyronine colore **l’ARN en rose** (nucléole et granules du cytoplasme).  **Remarque** : les parois des cellules végétales fixent également la pyronine ce qui nécessiterait des tests enzymatiques (Dnase et Rnase) pour une localisation rigoureuse. | | | | |
| Réaction de Feulgen | **1 - Mettre** l'échantillon dans un tube contenant de l'acide chlorhydrique puis placer au bain marie à 60°C pendant 10min.  **2 - Récupérer** l'échantillon et le **plonger** dans le réactif de Schiff pendant 30 min à 1h. **L'ADN se colore en rose**. | | | | |