

Zeitschrift: Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Band: 7 (1941-1943)
Heft: 2

Artikel: Étude critique des colorations en histologie végétale
Kapitel: Milieux conservateurs
Autor: Kraft, Marie-Madeleine
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-287465>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 18.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

CHAPITRE IX : Milieux conservateurs.

Pour l'observation immédiate d'une coupe, il n'est pas nécessaire de faire un montage. Il suffit de la placer sur une lame, dans une goutte d'eau ou de glycérine, et de recouvrir d'une lamelle.

Si l'on veut conserver les préparations, il faut, par contre, enrober la coupe dans un milieu conservateur, ou *médium*.

On utilise généralement en histologie végétale: *la glycérine gélatinée* (milieu aqueux solidifiable) et *le baume du Canada* (résine solidifiable).

1. Montage à la glycérine gélatinée:

Préparation du médium. (LANGERON, *loc. cit.*, p. 602.)

*Montage*¹.

La coupe est placée dans une goutte d'eau, sur une lame² qu'on maintient à 30-40° sur la plaque chauffante. On enlève avec du papier filtre l'excès d'eau entourant la coupe; on prend délicatement³ une goutte de médium avec un agitateur, et on la dépose soit sur la coupe, soit sur le couvre-objet tiédi, soit sur les deux à la fois. On place délicatement la lamelle sur la coupe, en maintenant la lame bien horizontale sur la plaque chauffante, pour que le médium s'étale jusqu'au bord du couvre-objet⁴.

Les résultats obtenus par ce montage sont souvent très bons au premier abord, mais les coupes se conservent moins bien qu'au baume du Canada. Les colorants, après un certain temps, pâlissent, ou passent dans le milieu, et peuvent même disparaître. — La coupe, n'ayant pas été traitée aux alcools successifs, est souvent surcolorée; on évitera cet inconvénient par un bain de quelques minutes à

¹ Ne jamais laisser les coupes hors d'une goutte de liquide.

² Le nettoyage des lames et des lamelles peut se faire par HNO₃ 1%. Si l'on veut démonter des préparations fraîches au baume, on laissera celles-ci dans un bain d'alcool jusqu'à ramollissement du baume, et on rincera au xylol. Les vieilles préparations au baume ne peuvent être démontées.

Les préparations à la glycérine gélatinée, non lutées, peuvent être récupérées par un bain d'eau tiède; les autres exigent un traitement variable suivant le lut employé.

³ On évitera les bulles d'air dans la préparation en remuant le moins possible la glycérine gélatinée pendant son ramollissement au B. M. Il ne faut pas amener le médium à ébullition, car la glycérine gélatinée se concentre alors et prend une teinte foncée; de plus, le médium trop chaud contracte les tissus délicats (feuilles et stomates, tissus lacuneux des plantes aquatiques).

⁴ Les couvre-objets ronds sont très favorables dans ce montage; ils facilitent le lutage, qui peut alors se faire à la «tournette».

l'alcool à 40° après la coloration, avant le montage, puis on lavera soigneusement à l'eau, sinon la gélatine précipitera.

La glycérine gélatinée étant un milieu dit « liquide », il faut *luter* les préparations. Le lutage doit être hermétique pour une bonne conservation de la coupe et, surtout, de sa coloration. Un simple bordage de la préparation à la paraffine est insuffisant. On a préconisé plusieurs *luts* et *verniss* (LANGERON, *loc. cit.*, p. 610). Les vernis qu'on trouve dans le commerce fournissent un lut prêt à l'emploi.

« L'ancien maskenlack, tout à fait périmé, sera remplacé avantageusement par les vernis ou peintures à séchage rapide (Duco et imitations) » (LANGERON, *loc. cit.*, p. 613).

Le lutage peut se faire à la main (couvre-objets carrés ou rectangulaires) ou à la « tournette » (couvre-objets ronds). Pour les préparations minces, une couche de lut suffit. Pour les préparations plus épaisses (ou si la première couche présente des lacunes) on applique une seconde, et même éventuellement une troisième couche.

Si la glycérine gélatinée n'est pas le médium idéal, elle est cependant utile pour le montage d'objets délicats, qui seraient contractés ou endommagés par la déshydratation (certains organes de plantes aquatiques par exemple). Elle sera particulièrement utile aussi pour des préparations où l'on veut éviter une trop grande réfringence : cribles libériens, stomates, etc.

Précisons que les colorants comme le *vert de méthyle*, qui se réduisent facilement, ne se conservent qu'à la glycérine gélatinée. « Certains colorants se décolorent toujours dans le baume, parce qu'ils sont avides d'oxygène, et ne peuvent supporter les milieux réducteurs. » (LANGERON, *loc. cit.*, p. 634.)

Le montage à la glycérine gélatinée conviendra également aux colorants qui sont modifiés par la déshydratation (le *violet cristal* tend à devenir bleu; le *bleu de méthylène* devient vert). En coloration combinée *rouge Congo* et *chrysoïdine* (*réactif genevois*), il y a, par la déshydratation, diminution du contraste entre les deux teintes.

2. Montage au baume du Canada :

Le baume du Canada se trouve dans le commerce (LANGERON, *loc. cit.*, p. 596). Il doit être de première qualité, exempt d'acide et d'impuretés, sinon les colorations pâlissent et disparaissent rapidement. Pour toutes nos préparations, nous avons utilisé le baume au xylol¹.

¹ On diluera avec du xylol le baume devenu trop épais.

Le baume est une résine très employée à cause de sa forte réfringence et de sa solidification rapide. On l'utilisera dans tous les cas possibles ¹.

Le montage exige des coupes parfaitement déshydratées. Toute trace d'eau produit, au contact du baume, un précipité de gouttelettes résineuses opaques; cet accident se manifeste immédiatement par l'aspect laiteux que prend la préparation. La *déshydratation* se fait par bains successifs de la coupe dans la série des alcools ². Ceux-ci ont l'avantage de débarrasser la coupe de tout excès de colorant. La déshydratation doit être complète, mais il ne faut pas la prolonger inutilement, car certains colorants très solubles dans l'alcool (colorants basiques surtout) risquent de disparaître complètement, *vert d'iode* et *violet cristal* par exemple.

Processus de déshydratation: Après le dernier lavage, les coupes laissées dans un godet-crible sont passées successivement dans les alcools à 40, 60, 80°. On les laisse une minute dans celui à 95° et une minute dans le premier alcool à 100°. A ce moment, il est prudent de sortir les coupes du godet (qui a pu entraîner des traces d'eau ou de matières colorantes) pour les mettre une minute aussi dans le deuxième alcool à 100°.

De ce dernier, on passera les coupes débarrassées de tout excès d'alcool (par un papier filtre par exemple) dans du xylol ou éventuellement du toluène. Un trouble dans le xylol trahit une déshydratation préalable insuffisante ³. Dans ce cas, on régressera systématiquement pour remonter plus lentement la série des alcools.

La coupe, sortie du xylol, est posée sur la lame, et immédiatement (pour éviter l'entrée d'air dans les cellules) couverte d'une goutte

¹ Actuellement, le baume du Canada est difficile à trouver dans le commerce. Certains produits peuvent éventuellement le remplacer: La *térébenthine de Venise*, signalée par LANGERON, permet le passage direct de l'alcool à 95° au montage; les détails et la transparence sont bons, mais les colorants ne s'y conservent pas.

Récemment, deux produits nouveaux ont été lancés, que nous n'avons fait qu'essayer: l'*Euparal* (GRÜBLER) permet le montage direct à partir de l'alcool à 100° (même de celui à 95° ?). Il offre une bonne réfringence, mais sèche assez lentement. Au premier abord, il paraît respecter les couleurs des préparations, cependant après quelque temps les colorants basiques disparaissent.

Le *Caedax* (HOLLBORN) exige, comme le baume, une parfaite déshydratation, et, après les alcools, un passage au xylol ou au toluol. Il donne une bonne réfringence, paraît conserver les colorants et sèche rapidement.

² Les alcools de déshydratation ne doivent jamais être acides, sinon ils agissent sur les colorants, faisant par exemple virer le *rouge Congo* au bleu, décolorant le *carmin*, etc. D'autre part, si les alcools sont colorés par de précédentes opérations, ils enlèvent la netteté et les nuances des coupes qu'on y plonge. Il faut donc les changer souvent.

³ Après usage, le xylol contient parfois des gouttelettes d'eau gênantes; une rapide filtration parvient souvent à les éliminer; au cas contraire, le xylol devra être changé.

de baume et d'une lamelle¹. La préparation est prête et n'exige aucun lutage. Si elle contient quelques bulles d'air, un léger chauffage les fera émigrer vers le bord de la lamelle, puis sortir de la préparation (mais prendre garde à l'ébullition du baume!!). Comme pour la glycérine gélatinée, recommandons de ne pas remuer le baume, pour éviter d'y introduire d'innombrables petites bulles d'air.

Si, en une préparation, on veut réunir plusieurs coupes, celles-ci risquent de glisser vers le bord de la lamelle, lors du montage, ce qui sera fâcheux aussi bien pour l'observation que pour la conservation de la préparation. On peut y remédier souvent sans démonter la préparation, en ramenant les coupes vers le centre, immédiatement après le montage, à l'aide d'un cheveu ou d'un poil de brosse.

3. — La préparation est *étiquetée*. Nos préparations portent deux étiquettes, à droite et à gauche de la lamelle, donnant l'une la date, le nom de la plante et de l'organe (racine, tige, etc.), le plan de coupe (radiale, transversale, etc.); l'autre le traitement, la coloration et le milieu conservateur.

4. — La *conservation* des préparations a une grande importance.

Après le montage à la glycérine gélatinée, les préparations sont lutées dans les semaines qui suivent. De même que celles montées au baume, elles seront, après leur montage, et pendant quelques semaines, conservées à plat dans des cartons appropriés. (Cf. LANGERON, *loc. cit.*, p. 600). Après ce temps-là, les préparations peuvent être placées verticalement dans des boîtes à cet usage, avec répertoire dans le couvercle. Une méthode de classement en fichier, avec étiquettes cartonnées, est préconisée par RACOWITZA (voir bibliographie).

Bibliographie :

K. JOHN, Protection des préparations au baume, *Zeitschr. Wiss Mikr.* 45, 1928, p. 482.

M. LANGERON, *loc. cit.*, p. 595-614.

E.-G. RACOWITZA, Montage, conservation, classement des préparations microscopiques. *Arch. Zool. exp.* T. 59. Notes et Revue 1920, p. 78.

¹ Il ne faut mettre sur la lame ni trop ni trop peu de baume. Avec un peu d'entraînement, on s'habitue à mettre la quantité strictement nécessaire pour que le baume, rendu assez liquide par du xylol, s'étale immédiatement sous le poids de la lamelle. Si l'on met trop peu de baume, l'air entre à la périphérie, par suite de l'évaporation du xylol. Si le baume est trop épais, on court le risque d'écraser la préparation avec certains objectifs (dans ce cas, nettoyer très prudemment la lentille de l'objectif avec un chiffon fin imbibé de xylol. Les tissus rudes rayent les lentilles, et le xylol à trop forte dose les décolle).