

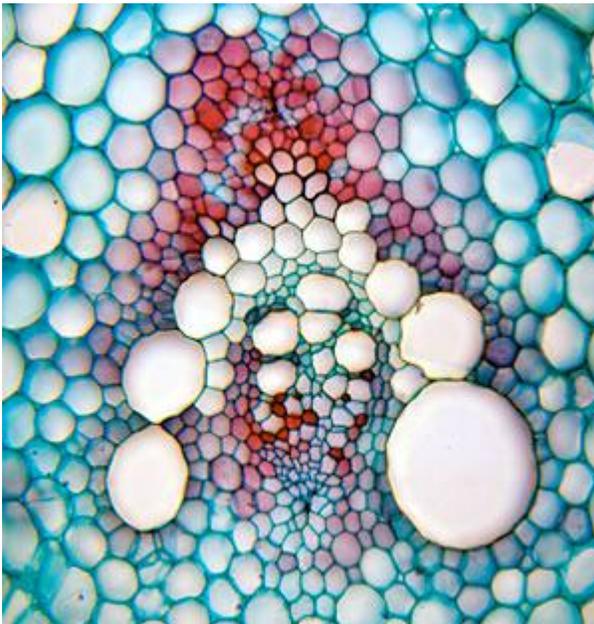
HISTOLOGIE : les COUPES dans des TISSUS VEGETAUX

Une technique détaillée de A à Z

Modus operandi de Christian AUBERT (Suisse – Genève)

Nous avons été séduit et subjugué par la qualité du travail réalisé par Christian AUBERT, lors de ses nombreuses interventions sur le forum de Microscopie, tout en précisant qu'il dispose d'un matériel très simple, à la portée de chacun, tant sur le plan financier que sous l'aspect technique.

En voici un exemple :



il s'agit d'une coupe dans une tige d'Asparagus, avec coloration et montage selon le processus développé ci-dessous.

A/ la coupe : elles sont réalisées à l'aide d'un microtome de Ranvier avec fixation sur table. Utilisation d'un simple rasoir de barbier et de polystyrène expansé (très dense et fin) pour maintenir l'objet en place. Pour les détails techniques relatifs à la conception et l'utilisation de ce microtome, voir notre article dans cette

même série...

Les coupes prélevées sont en général au nombre de 15 (ce qui permet au moins d'en obtenir 5 d'excellente facture).

à les coupes sont prélevées sur la lame d'acier avec un pinceau et déposées dans un verre de montre rempli d'eau distillée.

à une première sélection de coupes est réalisée (en posant le verre sur un fond noir pour une meilleure observation)

à nous vous conseillons de mouiller la pièce à couper et la lame du rasoir

à tous les traitements se poursuivent dans le même verre de montre en utilisant une pipette par produit, pour vider, rincer, remplir ...

B/ la destruction du contenu cellulaire : utilisation de la solution de Dakin à 0,5 %* (il s'agit d'un produit de désinfection de la peau qui contient de l'hypochlorite de sodium et qui se trouve en pharmacie).

Ce produit a notre préférence, car il est plus pur que l'eau de Javel commercialisée.

(*) Pour information : 5 g de chlore actif (hypochlorite de sodium) par litre, soit 0,5% chlore actif.

Ce produit va dissoudre tout le contenu de la cellule (cytoplasme, noyau, vacuoles, etc...) et ne conserver que son squelette rigide cellulosique (les parois cellulaires).

C/ la fixation :

- rinçage à l'eau distillée (1x)
- Blocage à l'acide acétique à 1 % (tapoter au pinceau sur les coupes pour évacuer les nombreuses bulles)
- rinçage à l'eau distillée (2x, en changeant l'eau de rinçage) et répéter chaque fois que nécessaire l'opération « pinceau » pour évacuer les bulles formées ... en effet, les bulles d'air sont de redoutables ennemies des préparations définitives.
- fixation à l'AFA (Alcool Formolé Acétique) durant 45 minutes
- rinçage à l'alcool à 60°
- rinçage à l'alcool à 75°

D/ la coloration :

- coloration à la safranine O, en solution alcoolique à 1%, durant 2 minutes
- rinçage à l'alcool isopropylique (2x)
- coloration au vert-intense (fast-green), en solution alcoolique, durant 10 secondes
- Rinçage à l'alcool isopropylique (2x ou plus) à pour diminuer une éventuelle surcoloration du vert-intense
- bain d'alcool isopropylique durant 10minutes
- Bain de toluène (3 minutes)
- Bain de toluène (10 minutes)

E/ le montage :

- la coupe est prélevée dans le dernier bain de toluène et déposée sur la lame porte-objet
- dépose d'une très petite goutte de milieu de montage et de conservation (n'importe quel milieu dont le solvant est le toluène ou le xylène à NBS Numount, baume du Canada, Histolaque, Néo-Entellan....)
- poser la lame couvre-objet, de préférence ronde
 - à les lames rondes ont deux fonctions essentielles :
 - a/ provoquer une meilleure répartition du milieu de montage avec une très petite quantité déposée
 - b/ indiquer ensuite aux futurs utilisateurs qu'on est en présence d'une préparation définitive

ATTENTION : il faut apporter le plus grand soin possible à la dépose de la lame couvre-objet afin d'éviter la formation de bulles d'air préjudiciables (il faut savoir que seul le baume du Canada permet ce genre d'erreur car il est très avide d'oxygène et réduit les éventuelles bulles). Pour cela, bien présenter la lame couvre-objet de biais...