Colorations de cellulose et lignine

Publié le 01.10.01 | Par Roger Prat, Gilles Furelaud, Jean-Pierre Rubinstein

Les différentes tissus composant un végétal peuvent être mis en évidence grâce à une coloration différentielle par le carmin-vert d'iode. Cet article présente un protocole de coloration assorti de conseils. Il expose également d'autres méthodes de coloration.

1. Introduction

Un grand classique des travaux pratiques, dans de nombreuses classes, reste la coloration de coupes de végétaux. Ces coupes sont colorées afin de permettre une meilleure identification des structures.

Cette coloration consiste, en général, en une coloration de la cellulose et de la lignine par le « carmin vert d'iode » : la cellulose est alors colorée en rouge et la lignine en vert.

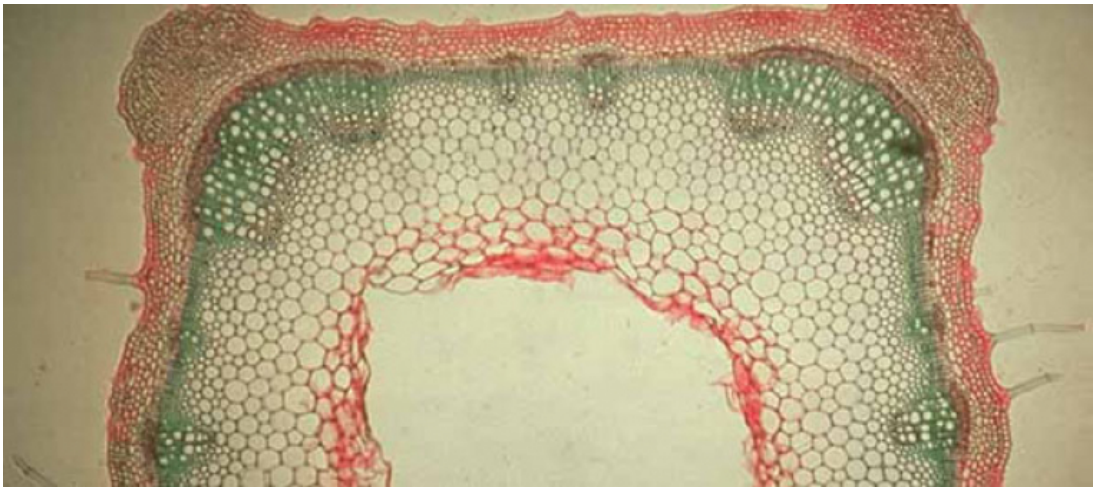


Figure 1 - Coloration simultanée de la cellulose et de la lignine

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Gilles Furelaud, Jean-Pierre Rubinstein – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Toutefois, ces colorations ne sont pas toujours satisfaisantes. Voici donc un rappel des méthodes utilisables et quelques conseils pour les optimiser.

2. Coloration carmin – vert d'iode : protocole

2.1. Matériel

- L'échantillon à étudier (tige, feuille, racine, etc.).

- Acide acétique dilué (1 volume d'acide dilué dans 1 volume d'eau).
- Hypochlorite de sodium (eau de Javel sans additif). Diluée à 5-10 degrés chlorométriques si besoin. L'eau de Javel pure vendue en bouteilles (12°) peut être utilisée.
- Carmin-vert d'iode, ou Carmin et Vert d'iode (voir conseils).

2.2. Protocole

1. Réaliser des coupes transversales dans l'échantillon.
2. Placer les coupes 10 à 20 minutes dans l'hypochlorite.
3. Lavage abondant à l'eau.
4. Lavage rapide dans l'acide acétique dilué.
5. Coloration dans le carmin-vert d'iode, ou bien coloration dans un bain de carmin, suivi d'un bain de vert d'iode (voir les conseils).
6. Lavage à l'eau puis observation.

2.3. Résultats

Les tissus cellulosiques apparaissent en rouge, les tissus lignifiés et subérifiés apparaissent en vert.

3. Quelques conseils et remarques

En général on utilise pour cette coloration une solution commerciale de carmin-vert d'iode. Ceci simplifie bien évidemment la préparation du TP mais pose deux problèmes :

1. ces solutions ne sont pas toujours d'une qualité satisfaisante ;
2. la double coloration peut se révéler « inégale ».

Pour résoudre ceci, le mieux est donc de procéder en deux temps : plutôt que de colorer en une fois, on colore d'abord avec une des deux solutions (par exemple le carmin aluné) et ensuite avec la seconde (vert d'iode dans ce cas).

Pour obtenir une coloration optimale, il est nécessaire de procéder à des essais en calculant le meilleur temps de coloration pour chaque colorant et pour les solutions dont on dispose (ces temps varient grandement selon les solutions).

Après avoir vidé les cellules à l'hypoclorite, il est important de :

- très bien laver à l'eau ;
- ne pas oublier de finir par un lavage à l'acide acétique dilué.

Ces deux points sont fondamentaux pour obtenir une bonne coloration.

La coloration carmin-vert d'iode n'est pas une coloration spécifique de la lignine et de la cellulose, ces colorants ont seulement une affinité plus prononcée vis-à-vis de ces composés chimiques. Ainsi, en présence de seul carmin aluné tout est coloré en rouge, et réciproquement tout est coloré en vert par le vert d'iode : c'est l'association des deux colorants qui aboutit à une coloration différentielle des tissus.

En conséquence, des mauvaises proportions (utilisation d'une seule solution) ou des mauvais temps de coloration (utilisation de deux solutions) peuvent conduire à des colorations peu nettes, voir même inversées...

4. Des colorations plus spécifiques : rouge Congo et phloroglucine chlorhydrique

La coloration carmin-vert d'iode n'étant pas spécifique, on peut donc, dans certains cas, chercher à lui préférer des colorations plus spécifiques de la cellulose et de la lignine.
Si ces alternatives existent, toutes ne sont pas recommandables.

4.1. Une coloration de la cellulose à ne plus utiliser avec des élèves : le rouge Congo

La coloration au rouge Congo était une coloration classique. Cependant ce produit peut provoquer des cancers et il existe des risques d'effets néfastes pour l'enfant à naître en cas d'exposition pendant la grossesse.

C'est au moment de l'utilisation du rouge Congo sous forme de poudre que les risques d'exposition sont les plus grands. L'utilisation de ce produit est réservée aux professionnels confirmés et à proscrire pour les élèves.

4.2. Coloration de la lignine : phloroglucine chlorhydrique

On prépare une solution de phloroglucine à 2 % en dissolvant 1 g de phloroglucine en poudre dans 50 mL d'éthanol à 95 %. Par ailleurs, on prépare une solution d'acide chlorhydrique 6N (en diluant deux fois une solution concentrée). Ces deux solutions peuvent être conservées.

On place les coupes réalisées dans la phloroglucine pendant 5 minutes (aucun changement de couleur visible à ce stade). Puis on les place dans l'acide chlorhydrique pendant 5 minutes, ce qui révèle la coloration. On peut alors observer les tissus lignifiés colorés en rouge.

Cette réaction peut être réalisée sur des tranches épaisses de tissu végétal : elle permet alors d'apprécier à l'œil nu la localisation des tissus lignifiés. Cette coloration est temporaire. Elle peut, selon les cas, rester visible entre 2 à 3 minutes et 2 à 3 jours.

CRÉDITS

AUTEUR(S)/AUTRICE(S)

Roger Prat

Professeur de physiologie végétale à l'université Pierre et Marie Curie.

Gilles Furelaud

Professeur agrégé de SVT. Il a été le responsable éditorial du site Planet-Vie de 2001 à 2004.

Jean-Pierre Rubinstein

Botaniste à l'université Pierre et Marie Curie.

LICENCE DU TEXTE DE L'ARTICLE

VOIR MENTIONS LÉGALES