

Réactif-test

Objektyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **7 (1941-1943)**

Heft 2

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

lieu, dans les tissus perméables (tiges aquatiques par exemple) d'éliminer la paraffine avant de commencer le traitement usuel. (Pour cela, chauffer la coupe jusqu'à fusion de la paraffine, passer dans 2 bains de xylol, dans 2 bains d'alcool, puis dans l'eau.)

Pour les coupes faites à la main, le rasoir doit attaquer l'objet par la surface et non par la tranche.

Pour les coupes au microtome, le rasoir gagne à être plat sur une face. On peut alors l'appliquer sur la surface du microtome, et l'épaisseur des coupes est réglée par la vis micrométrique.

Les lambeaux d'épiderme s'enlèvent au scalpel et à la pince.

Les coupes longitudinales et radiales doivent être bien parallèles à l'axe de l'objet et les coupes transversales absolument perpendiculaires à cet axe.

Les coupes sont tout d'abord placées dans un récipient large, contenant de l'eau distillée et quelques gouttes d'alcool; leur manipulation se fera avec un pinceau fin, en évitant le plus possible l'emploi de pinces.

On trie les meilleures coupes à la loupe, ou mieux au microscope, en les sériant sur une lame. Cette vérification peut être faite plus tard, après le traitement, ce qui a l'avantage d'éliminer aussi les coupes qui ont été endommagées en cours d'opération.

Bibliographie :

M. LANGERON, *loc. cit.*, p. 1145.

O. TUNMANN, *Pflanzenmikrochemie*, Berlin, 1913, et 2^e éd. revue p. L. ROSENTHALER, Berlin, 1931.

CHAPITRE IV : Réactif-test.

Recherche d'un réactif-test : Pour le traitement et la coloration, la détermination des techniques convenant à chaque cas particulier est restée bien empirique.

Dès le début de nos recherches, nous avons espéré trouver une méthode qui permettrait, par quelques réactions rapides, de déceler le contenu cellulaire, et la qualité des principaux tissus d'une coupe. Une telle méthode déterminerait le traitement préalable et les colorants à utiliser.

Après bien des essais de divers colorants et réactifs prétendus spécifiques, dont l'emploi exige beaucoup de temps, et de nombreuses coupes, nous avons retrouvé, dans le « Bulletin de la Société Botanique de France », un *réactif-test*, préconisé en 1934 par E. STEINMETZ¹ :

¹ Cit. EMILE PIERRE STEINMETZ, chef de travaux Faculté Pharmacie de Nancy, *Bull. Soc. Bot. France*, séance du 13 avril 1934, p. 296.

« Réactif pratique pour l'analyse des coupes végétales.

<i>Formule :</i>	Hydrate de chloral	45 gr
	Alun de fer ammoniacal	4 gr
	Sulfate d'aniline	1 gr
	Iode	0,4 gr
	Rouge Soudan III	0,1 gr
	Alcool à 96°	40 cc
	Eau distillée	25 cc
	Glycérine pure	30 cc

Mode de préparation :

Il est indispensable de suivre strictement le mode de préparation suivant, afin d'éviter la précipitation du réactif sous forme de petites aiguilles rouges.

Mettre le chloral, l'alun de fer et 10 cc d'eau distillée dans un ballon. Chauffer à ébullition pendant quelques minutes. Filtrer sur coton. Dissoudre d'une part l'iode dans l'alcool, d'autre part le sulfate d'aniline dans 15 cc d'eau distillée (à chaud). Mélanger ces trois solutions froides, puis ajouter la glycérine et enfin le rouge Soudan. Mélanger convenablement et laisser en contact pendant 24 heures en agitant de temps en temps. Filtrer et conserver dans un flacon brun bien bouché.

Le réactif, préparé de cette façon, se conserve pendant très longtemps.

Mode d'emploi :

Faire des coupes très minces, et les faire tomber directement, sans traitement préalable dans quelques gouttes de réactif placées sur une lame de verre. Après un contact d'une demi minute, recouvrir d'une lamelle de verre. La préparation est prête à l'observation microscopique. »

Si le contenu cellulaire, qui concerne la microchimie de la cellule (alcaloïdes, amidon, latex, matières grasses, tanins) n'intervient pas directement en histologie, il est utile à connaître pour déterminer le traitement le plus rationnel à employer pour vider la coupe, et obtenir une vue nette des tissus.

Ainsi, malgré les lacunes de nos connaissances actuelles dans la chimie des composants végétaux (lignine, subérine, cutine), nous pouvons déterminer, par une méthode simple et rapide, le traitement et les colorations appropriés à la coupe qui nous intéresse.

Le tableau de la page suivante donne les réactions du réactif de Steinmetz et les directives qu'on en peut tirer.

Les constituants des parois cellulaires ainsi déterminés (cellulose, cutine, lignine, subérine, etc) nous pourrions choisir une méthode de coloration appropriée aux tissus trouvés, pour les mettre en évidence. Si les indications du réactif-test se révèlent insuffisantes, on pourra recourir à des réactifs microchimiques spéciaux.

N. B. — Les préparations obtenues par le réactif-test ne sont pas permanentes, et ne peuvent être déshydratées. Des essais de montage à la glycérine gélatinée n'ont pas donné de bons résultats.

Tableau des résultats obtenus par le réactif de STEINMETZ, dit réactif-test.

Couleur	Constituant du réactif-test qui agit	Contenu cellulaire ¹	Membranes ²
bleu violacé	iode	amidon	
lie de vin	iode	dextrine	
jaune	iode	aleurone	
noir bleu	alun ferrique	tanins	
blanc nacré	—	gommes, mucilages, inuline.	
cristaux blancs	alun (+Calcium forme CaSO ₄)	cristaux de sels de calcium.	
rouge	Soudan III	huiles, matières grasses, essences, résines, latex.	membranes cutinisées <i>cuticule et tissu cireux</i> (parois épidermiques externes et subérifiées <i>liège ou suber</i> , externe ou interne (cellules aplaties, à parois minces, disposées en plusieurs assises). membranes pectocellulosiques <i>parenchymes</i> (à parois minces). <i>liber</i> (tubes criblés en faisceaux). <i>collenchymes</i> (cellules à angles renforcés).
blanc crème	—		membranes lignifiées <i>vaisseaux du bois</i> (en faisceaux) ou <i>trachées et trachéides</i> (Conifères). <i>sclérenchyme</i> (fibres, cellules scléreuses).
jaune d'or	sulfate d'aniline		

¹ Le contenu cellulaire déterminera le traitement.

² La constitution des membranes cellulaires déterminera la coloration.

Pour conserver ces préparations pendant quelques semaines, voici la méthode que nous avons employée avec succès: la coupe est placée dans quelques gouttes de réactif pendant 5 minutes environ; après ce temps, on substitue au réactif de la glycérine pure en établissant un courant sous la lamelle au moyen d'une bande de papier filtre. La coupe ainsi débarrassée de l'excès de réactif, on borde avec de la paraffine la lamelle sur 3 côtés, le 4^e restant libre, pour permettre d'ajouter une goutte de glycérine.

Bibliographie:

- A. BOLLES LEE et F. HENNEGUY, Anatomie microscopique, 1896.
 A. BONNIER et LECLERC DU SABLON, Morphologie végétale (traité).
 R. COMBES, La vie de la cellule végétale, tome III: L'enveloppe de la matière vivante, Paris, 1937.
 F. CZAPEK, Biochemie der Pflanzen, Band I, Iena, 1913.
 E. STRASBURGER, Anatomie végétale, Paris, 1886, et Botan. Praktikum, Iena, 1913.
 C. VAN WISSELINGH, Die Zellmembran, Handbuch der Pflanzenanatomie, K. Linsbauer, 1925.

CHAPITRE V : Traitement préalable des coupes.

Il consiste à vider les coupes, à les « éclaircir », et à réduire les tissus à leur squelette. Pour cela on utilisera un bain de NaClO ou de KClO, ou, ce qui est moins favorable, d'extrait de Javel (LANGERON, *loc. cit.*, p. 1147) additionné de 5 à 10 gouttes de KOH concentré.

Les coupes sont traitées à froid pendant quelques minutes (10 à 15 en général). La durée du traitement peut varier de 5 à 30 minutes suivant la quantité de matières de réserve prouvées par le réactif-test.

Si les coupes résistent, il faut tiédir le bain pour favoriser l'hydrolyse des substances de réserve par l'alcali. On évitera cependant de trop chauffer, car les coupes deviennent cassantes et certains tissus se détachent au cours des manipulations subséquentes (par exemple épidermes, écorces, cylindres centraux).

Les amidons et dextrines, l'aleurone, sont tous hydrolysables par les alcalis dilués.

Les macles d'oxalate de calcium (oursins) devront être observées sur des coupes non traitées (par ex. dans les tiges d'*Aristolochia Sipo*) car NaClO attaque superficiellement ces cristaux en émoussant les pointes, et en arrondit les arêtes suivant la réaction :

