

# Coloration

Objekttyp: **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.

*Bibliographie :*

E. ABDERHALDEN, Biochemisches Handlexikon, Band 2, Berlin, 1911.

W. BEHRENS, Tabellen zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten, 1892.

GUILLERMOND, MANGENOT, PLANTEFOL, Traité de cytologie végétale, Paris, 1933.

M. LANGERON, *loc. cit.*, p. 1146.

CHAPITRE VI : **Coloration.***Généralités.*

Il existe de très nombreuses classifications des colorants et de leurs affinités chimiques, et une énorme bibliographie à ce sujet (voir bibliographie générale, à la fin de ce chapitre).

Nous n'avons pas l'intention de proposer une nouvelle classification, mais de faire une étude critique d'un certain nombre de colorants connus en histologie végétale.

La méthode de coloration des coupes dépend du but que l'on se propose<sup>1</sup>. Pour une étude purement histologique<sup>2</sup>, comme celle faisant l'objet de ce travail, deux cas peuvent se présenter :

S'il s'agit de préparations pour le *dessin à la chambre claire*, la *projection* ou la *photographie en noir et blanc*, il importe d'avoir des contours cellulaires nets, et toutes les membranes colorées. On fera une coloration simple progressive (voir plus loin) qui colorera tous les tissus révélés par le réactif-test.

Dans ce but, les meilleurs colorants sont :

les *hématoxylines* et les *violet* *Dahlia*, *de gentiane*, *de méthyle*.

Le *brun Bismarck*, la *fuchsine crist.* et la *safranine*, bien que donnant des contours cellulaires moins nets, peuvent aussi être utilisés.

L'emploi de ces colorants ne présente aucune difficulté dans ce cas ; les résultats obtenus sont consignés dans le tableau I et leur préparation dans la liste des colorants.

Mais s'il s'agit avant tout de *différencier certains éléments de la coupe*, on utilisera un ou des colorants spécifiques<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Pour des objets devant servir à la fois à l'étude des tissus et du contenu cellulaire, on peut procéder à une *coloration en masse* (cf. N. POPOFF. *Bull. Hist. appl.* 13, 1936).

<sup>2</sup> Etude des membranes seules.

<sup>3</sup> Nous n'attribuons pas à ce mot un sens absolu.

Dans quelques cas, l'emploi d'un seul colorant (coloration simple) peut suffire à différencier les éléments mis en évidence par le réactif-test.

#### 1a *Coloration simple progressive.*

Les formules des colorants sont en général indiquées en solution trop concentrée, qui surcolorent la coupe. On utilisera donc ici des solutions *diluées* ou même *très diluées* ; et l'action colorante sera augmentée si on opère à chaud. Le temps du bain variera avec la dilution. La seule difficulté est d'arrêter à temps la coloration, ce qui exige une surveillance continuelle des coupes.

Le tableau I donne les résultats obtenus avec un certain nombre de colorants, parmi les plus usuels.

#### 1b *Coloration simple régressive.*

On fait agir cette fois des solutions colorantes *concentrées*, produisant une surcoloration, puis on provoque la régression de la coloration, par des réactifs appropriés. C'est, en langage technique, la *différenciation*.

Le tableau I donne la liste des dissolvants ou différenciateurs à employer pour chaque colorant.

Il est à noter que cette méthode donne des résultats moins bons, moins durables surtout, que la coloration progressive. Au premier abord, la différenciation des éléments peut paraître meilleure ; mais après quelques mois, les coupes subissent une décoloration plus ou moins généralisée. Tout se passe comme si, malgré les nombreux lavages subséquents, le différenciateur continuait son action en décolorant peu à peu toutes les membranes cellulaires.

Après n'importe quelle coloration, simple ou combinée, la déshydratation par les alcools, en vue du montage au baume, assure à notre avis la meilleure différenciation et les colorations les plus stables. L'alcool, tout en enlevant l'excès de colorant, ne paraît pas continuer son action de décoloration, et semble être le différenciateur recommandable <sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Une question pourrait se poser ici au sujet des *colorants* dits *indicateurs* : les tissus végétaux fixés présentent-ils des différences de pH suffisantes pour être perceptibles à la coloration ? Des essais faits avec le *tournesol*, le *méthylorange*, le *rouge neutre*, le *rouge Congo*, le *violet cristal* n'ont donné, dans les différents tissus, aucune différence appréciable à l'œil avec certitude. Il semblerait donc qu'en histologie, les tissus fixés ne présentent pas de différences de pH suffisantes pour permettre l'emploi utile des colorants indicateurs.

Quant à la *métachromasie*, qui est un virage de certaines matières colorantes au contact d'éléments particuliers, elle ne semble pas, sauf pour de rares cas spéciaux, pouvoir être mise à contribution utilement en histologie végétale.

## 2. Coloration combinée :

C'est un procédé qui consiste à faire agir plusieurs colorants soit *successivement*, soit *simultanément*.

La différenciation des éléments révélés par le réactif-test est plus nette par la coloration combinée, donc préférable à celle obtenue par la coloration simple.

Dans la coloration combinée, chaque colorant agit pour son propre compte, en se fixant sur un tissu donné. Mais souvent aussi le deuxième colorant agit sur le premier, en le chassant de certains éléments pour lesquels il a lui-même plus d'affinité.

*Ex. :* l'*hémalun* colore tous les éléments d'une coupe en violet, mais le *vert malachite* chassera l'*hémalun* des éléments lignifiés, subérifiés et cutinisés, et prendra sa place.

Dans la coloration combinée, la méthode progressive est aussi préférable.

2a. Les résultats des *colorations combinées successives* sont consignés dans le tableau II. Seuls les résultats durables et réussissant dans la majorité des cas y sont indiqués. Certains essais n'ont pas résisté à l'épreuve du temps. D'autre part, de nombreuses méthodes, souvent citées dans la bibliographie nous ont donné des colorations pâles et, surtout, des contrastes insuffisants, malgré de nombreux essais avec des concentrations variées du colorant, une prolongation du bain, ou une différenciation prolongée. Ces résultats négatifs sont consignés sous le titre : insuccès. Toutes les méthodes citées par LANGERON ont été passées en revue, sauf celle du *rouge de ruthénium*, colorant actuellement introuvable, et de prix inabordable pour la pratique courante.

2b. Nous avons tenté l'application de *colorations combinées simultanées*, c'est-à-dire des mélanges de deux ou plusieurs colorants, signalés par la littérature; nous avons essayé aussi quelques autres méthodes.

A noter que le *violet neutre de Godfrin* (LANGERON, *loc. cit.*, p. 1149) est resté introuvable malgré bien des recherches bibliographiques.

Le résultat des colorations simultanées est rarement bon; il n'est jamais aussi net que celui obtenu par des colorations successives. Les colorations simultanées sont données par le tableau III.

« Dans les colorations simultanées, chaque élément agit généralement pour son compte, du moins dans les formules rationnelles, car il faut se dé-

fier de certains liquides donnant automatiquement des colorations triples ou quadruples, dont le résultat est presque toujours défectueux ou inconstant » (LANGERON, *loc. cit.*, p. 456).

La plupart des mélanges colorants sont d'ailleurs instables et précipitent après quelque temps. « Les solutions aqueuses des colorants basiques sont précipitées par de nombreux colorants acides » (cit. art. L. PELET-JOLIVET. Sur la dissociation des combinaisons de colorants acides aux colorants basiques par les substances adsorbantes).

Dans la plupart des cas, les mélanges employés en histologie végétale sont précisément formés d'un colorant acide et d'un colorant basique. Il se produit sans doute une combinaison chimique entre les colorants, peut-être une simple neutralisation.

On sait que bien des colorants forment des solutions colloïdales (par exemple le *bleu de méthylène*, le *rouge Congo*, les *violetts cristal* et *de méthyle*). Deux colloïdes de signes contraires montrent une attraction électrostatique, donc les micelles peuvent se neutraliser. Au moment où les micelles ne sont plus chargées (point isoélectrique), la solution atteint un maximum d'instabilité, et il y a, dans la plupart des cas, floculation.

La floculation n'intervient pas seulement lors du mélange de deux colloïdes de signes contraires. Elle peut aussi être produite par l'adjonction d'un électrolyte à la solution colorante. Les ions  $H^+$  et les ions  $OH^-$  sont spécialement actifs. Comme nos colorants sont souvent en solution acide (*vert de méthyle acétique* par exemple) ou en solution alcaline (*rouge Congo ammoniacal*, et colorants voisins, dérivés de la benzidine), la présence d'électrolytes peut aussi jouer un rôle dans l'instabilité des mélanges de ces colorants. Cette instabilité ne se manifeste pas toujours immédiatement; la solution paraît stable au début, puis un dépôt se forme au fond, et souvent après quelques mois, le liquide est complètement décoloré et les colorants précipités au fond du flacon.

*En conclusion*, les colorations combinées successives sont, en histologie végétale, généralement préférables aux colorations combinées simultanées. Si elles sont rationnellement pratiquées, elles ne provoquent aucune perte de temps appréciable (voir note au § suivant : technique).

*Technique* (coloration en 1, 2 et 3 temps).

Prendre les coupes vidées (NaClO, puis acide acétique) et lavées, avec un pinceau ou à plat sur un scalpel; les introduire dans un godet-crible. Eviter d'y mettre plus d'une dizaine de coupes. Agiter le godet dans chaque bain, pour séparer les coupes qui pourraient s'être collées les unes aux autres. Plonger le godet dans le *premier colorant*. (Le temps du bain est indiqué dans les tableaux.)

Laver à l'eau distillée ou à l'eau courante, éventuellement à l'alcool ordinaire, ou chlorhydrique pour différencier<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Voir différenciateur, tableau I.

Plonger le godet bien propre dans le 2<sup>e</sup> *colorant*, laver, etc.  
3<sup>e</sup> *colorant*, laver, etc.

Monter directement à la glycérine gélatinée, ou déshydrater et monter au baume du Canada (voir chapitre IX, Milieux conservateurs).

L'ordre successif de l'emploi des colorants n'est pas absolu; on utilisera avec avantage celui cité par les tableaux, bien qu'une autre succession soit possible dans la plupart des cas.

*Note*: Les colorants seront conservés avec avantage dans des poudriers bas à large ouverture, sauf dans les cas où le verre brun est indispensable à leur bonne conservation. Cette méthode économise les colorants, cela pour autant que l'opérateur travaille avec une parfaite propreté, et n'introduit aucun réactif étranger dans les poudriers.

#### *Bibliographie générale:*

P. CASTAN, La chimie des matières colorantes organiques, Paris, 1926.

(—) H.-J. CONN, Progress in the standardization of stains, *Stain Technol.* 14, 1939.

MCE DOLADHLE, Contribution à l'étude de la fixation des matières colorantes (thèse, Dijon, 1931).

\* L. KRALL, Les colorants en microscopie, Zofingue, 1921.

LANGERON, *loc. cit.*, p. 437-536 et 1157.

G. MARTINET, Couleur et constitution chimique (?).

L. PELET-JOLIVET, Die Theorie des Färbeprozesses, Dresden, 1910.

\* G. SCHULZ, Farbstofftabellen, Leipzig, 1931.

A. SEYWETZ et P. SISLEY, Chimie des matières colorantes artificielles, Paris, 1896.

C.-L. TASSART, Matières colorantes et chimie de la teinture, Paris, 1890.

\* Les deux ouvrages ainsi marqués sont ceux qui nous ont servi à classer nos colorants (voir liste).

#### *Bibliographie spéciale:*

(—) BÖHM et OPPEL, Taschenbuch der Mikroskopischen Technik, Munich, 1928.

P. BUGNON, Sur l'emploi du vert lumière en histologie végétale, *Bull. Soc. Bot. France*, LXVI, 1919, et *C. R. Acad. Sc.* CLXVIII, 1919.

Sur l'emploi des encres commerciales en histologie végétale, *C. R. Acad. Sc.*, CLXIX, 1919.

J. CHALON, Notes de botanique expérimentale, 1897.

A. DAUFRESNE, Guide pratique pour les travaux de microscopie agricole.

GRÖNLAND, CORNU et RIVET, Des préparations microscopiques végétales, 1872.

H. HAGER, Handbuch der praktischen Mikroskopie, Berlin, 1932.

(—) JOHANSEN, DONALD ALEXANDER, Plant microtechnique, New-York, 1940.



M. LANGERON, *loc. cit.*, p. 1147-1152.

(—) MAC CLUNG, Handbook of microscopical technique, New-York, 1937.

L. MANGIN, Sur les réactifs colorants des substances fondamentales de la membrane, *C. R. Acad. Sc.*, juillet 1890.

Id., Sur l'emploi du rouge de ruthénium, *C. R. Acad. Sc.*, 1893.

P. MARTENS, Notes de botanique microscopique.

(—) MARTIN et JOHNSON, Practical microscopy, London, 1931.

A. MEYER, Erstes mikroskopisches Praktikum, Iena, 1898.

L. OLIVIER, Procédés opératoires en histologie végétale, 1885.

A. POULSEN, Microchimie végétale, 1883.

ROMÉIS, *loc. cit.*

(—) SCALES et SHILLINGTON, Practical microscopy, London, 1926.

R. SOUÈGES, Analyse micrographique, Paris, 1939.

J. TEMPÈRE, *Le micrographe préparateur*, périodique de 1893 à 1906.

O. TUNMANN (éd. 1931 revue p. ROSENTHALER), *loc. cit.*

A. ZIMMERMANN, Die botanische Mikrotechnik, 1892.

(—) Nous rappelons que les ouvrages ainsi marqués sont ceux dont, vu les circonstances actuelles, nous n'avons pu lire que des comptes rendus.

## CHAPITRE VII : Les constituants de la membrane cellulaire et leurs affinités chimiques.

*Généralités* : Avant de parler de la membrane d'un point de vue chimique, et physico-chimique, il est intéressant de voir d'où elle vient, et dans quel état elle se trouve du point de vue biologique.

Quelle est l'origine de la membrane ?

Différentes hypothèses se trouvent en présence. Certains auteurs pensent que la membrane cellulaire se forme aux dépens du protoplasme seul; d'autres prétendent que l'élaboration de la membrane par le protoplasme est soumise à une action du noyau cellulaire; d'autres enfin ne veulent voir dans la formation d'une membrane qu'un simple phénomène de polymérisation des glucides.

Autre question: la membrane *est-elle vivante* ?

D'après RAOUL COMBES, « La substance végétale ne se laisse pas diviser en matière vivante et en matière non vivante; elle comprend des parties qui, en quelque sorte, vivent activement et d'autres qui nous paraissent vivre plus faiblement » (cit. R. COMBES, La vie de la cellule végétale, III).

Il semble bien que nous ayons affaire à des membranes cellulaires vivant d'une vie ralentie dans la plupart des cas; font exception les