

Fiche technique

Protocole : Coloration au Carmin-Vert d'iode

2018

V. Garlatti - T. Bertin

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.

Ce document est copié du site de l'ENS :

<https://planet-vie.ens.fr/article/1347/colorations-cellulose-lignine> - 1er octobre 2001 - modifié 14 novembre 2016

COLORATION CARMIN – VERT D'IODE : PROTOCOLE

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).

Protocole - 30mn

- Réaliser des coupes transversales dans l'échantillon.
- Placer les coupes 10 à 20 minutes dans l'hypochlorite.
- Lavage abondant à l'eau.
- Lavage rapide dans l'acide acétique dilué.
- 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).
- Lavage à l'eau puis observation.

QUELQUES CONSEILS ET REMARQUES

En général une solution commerciale est utilisée. Ceci simplifie bien évidemment la préparation du TP mais pose deux problèmes :

- ces solutions ne sont pas toujours d'une qualité satisfaisante ;
- 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 : 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'hypochlorite, 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. . .

RÉSULTATS

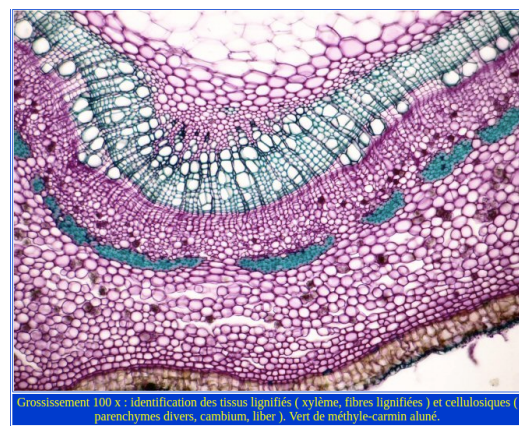
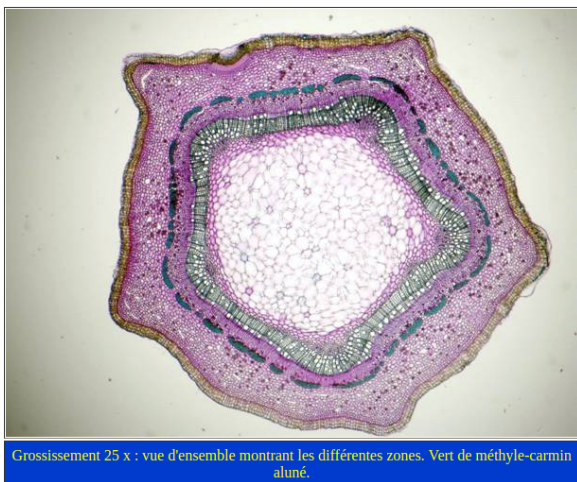


FIGURE 1 – Résultats attendus : Deux photos (a et b) illustrent le résultat : coloration au carmin et au vert de méthyle (de Chroma, Stuttgart), jeune tige de Peuplier. Les verts d'iode et vert Brillant donnent des résultats tout à fait comparables.”