

Mise en évidence des endomycorhizes

Lame porte-objet = LPO
Lame couvre-objet = LCO
Rouge Congo SDS = RC SDS

Marcel Lecomte

MODE OPÉRATOIRE, selon Alix Helme-Guizon & Marc-André Selosse² (2010)

- ++ A l'aide de ciseaux, tailler les racines en petits bouts (1 cm de long au maximum) et ne garder que les radicelles les plus fines.
- ++ Les placer dans un récipient en pyrex, avec de la potasse à 10 % et chauffer au bain-marie à 90°C durant 15 à 30 minutes, selon la fragilité du matériel _ le contenu des cellules végétales est détruit et les tanins brunâtres sont éliminés.
- ++ Jeter la solution qui est devenue brun rougeâtre, en filtrant dans un tamis métallique à mailles fines.
- ++ Rincer 2 fois de suite à l'eau acétifiée (solution d'acide acétique glacial à 2 %) ou acidifiée (solution d'acide chlorhydrique à 2 %).
- ++ Coloration : nous utilisons le bleu coton acétique (eau bidistillée 100 cc - bleu de méthyle 1 g - acide acétique glacial 1 g) ; remettre au bain-marie durant 10-15 minutes. Filtrer au tamis et rincer à l'eau bidistillée.
- ++ Dissocier et observer à 40x dans l'eau (pour une observation extemporanée) ou dans le lactoglycérol (acide lactique + glycérine + eau bidistillée, en parts égales).
Dans le second cas, on peut conserver la préparation durant des années ; il suffit de la luter au vernis à ongles, après avoir mis la préparation sous compression (avec une pince à linge par exemple).

MODE OPÉRATOIRE PERSONNEL SIMPLIFIÉ

- ++ A l'aide de ciseaux, tailler les racines en petits bouts (1 cm de long au maximum) et ne garder que les radicelles les plus fines.
- ++ Traiter à froid durant 3 à 5 jours avec la potasse à 10 % (placer dans un petit flacon en verre – couvrir de la solution de potasse : 10 g pour 100 cc d'eau.) ; la quantité placée dans le paquet convient pour 200 cc d'eau.
- ++ Jeter la solution qui est devenue brun rougeâtre, en filtrant dans un tamis métallique à mailles fines.
- ++ Rincer 2 fois à l'eau acétifiée (je vous adresse 5 cc d'acide acétique glacial ; avec cela, vous pouvez préparer ½ litre d'eau acétifiée).
- ++ Dans un petit flacon, verser 2,5 cc de bleu coton acétique (la moitié du flacon) et y ajouter 2,5 cc d'eau bidistillée. Colorer à froid durant 6 à 12 heures, puis rincer à l'eau du robinet.
- ++ Pour l'observation, voir le chapitre suivant
- ++ Si vous le souhaitez, conserver les échantillons, dans une éprouvette avec bouchon à visser hermétique, dans une solution aqueuse largement diluée de bleu coton acétique (je joins une éprouvette).

Coloration d'une exomycorhize (ou d'un mycélium externe)

- ++ bien rincer le mycélium par plusieurs bains successifs d'eau pure afin d'éliminer les impuretés
- ++ colorer au RC SDS un brin de mycélium de +/- 2 à 3 cm de long durant 1 à 5 minutes
- ++ rincer la pièce colorée par plusieurs bains d'eau pure successifs
- ++ prélever un morceau coloré de 5 mm et le poser sur une LPO
- ++ poser une goutte d'eau ou mieux, d'eau glycinée
- ++ poser une LCO (en biais, pour éviter au maximum les bulles d'air)
- ++ dissocier par écrasement à l'aide d'une gomme ou de n'importe quel objet non métallique, pour obtenir une préparation la plus plane possible
- ++ les parois des hyphes apparaissent nettement colorées, de même que les cloisons