Fiche Protocole : Mycorhizes et Vaisseaux conducteurs

I- Etude de mycorhizes

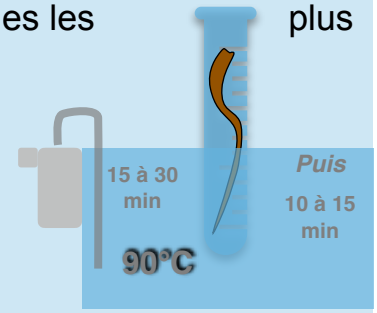
Protocole de coloration au bleu coton

Matériels vivants : végétaux mycorhizés comme le plantain

Principe **:** Cette technique consiste à **décolorer** les cellules du végétal (**phytobionte**) en **conservant leurs parois** et à colorer spécifiquement les **parois du champignons** (**mycobionte**) avec du bleu coton (colorant de la callose) .

Préparation des racines :

- Laver précautionneusement les racines puis prendre les radicelles les plus fines, les couper en tronçons de 1-2 cm de longueur.



- Les mettre dans un tube à essai avec la **potasse (KOH) 10 %**, et **chauffer au bain-marie 90° C** durant **15 à 30 min** (selon la fragilité du matériel et le recommandation de votre enseignant) : le contenu des cellules végétales est détruit et les tannins brunâtres sont éliminés *(l'eau devient brune)*.

- **Jeter la potasse** devenue brun-rougeâtre et **filtrer dans un tamis à mailles fines**, **rincer 2 fois** de suite avec l'**eau acidifiée** .

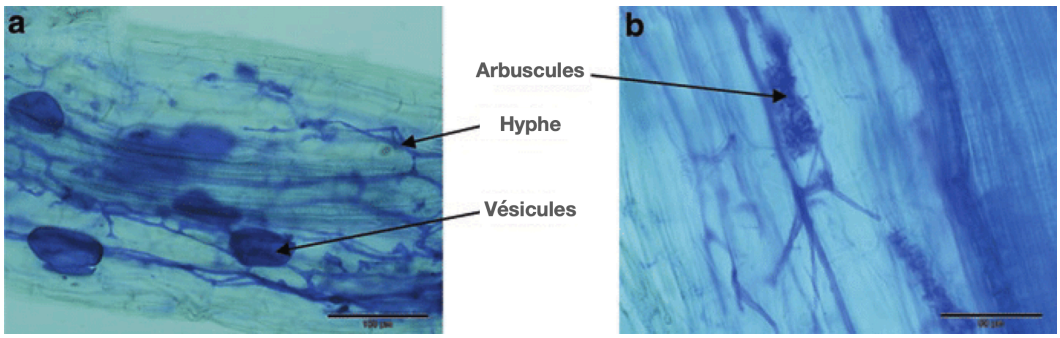
- **Remettre dans le bleu coton au bain marie 10 à 15 minutes**. **Filtrer à nouveau** dans un tamis et rincer à l'eau distillée 2 fois.

Observer au microscope :

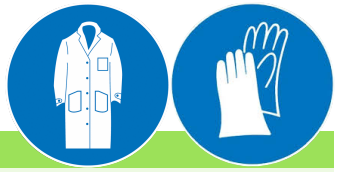
- Pour une observation immédiate : monter dans l'eau entre lame et lamelle.

- Observation **x400**

Résultats :



II- Etude de vaisseaux conducteurs



Protocole de coloration de vaisseaux conducteurs d'Angiospermes

Principe : Cette technique consiste à colorer spécifiquement des parois cellulosiques dépourvues de lignine (phloème) en rose et celle pourvues de lignine (xylème) en vert.

Préparation des coupes

- **Réaliser des coupes** les plus fines possibles selon le protocole ci-contre.

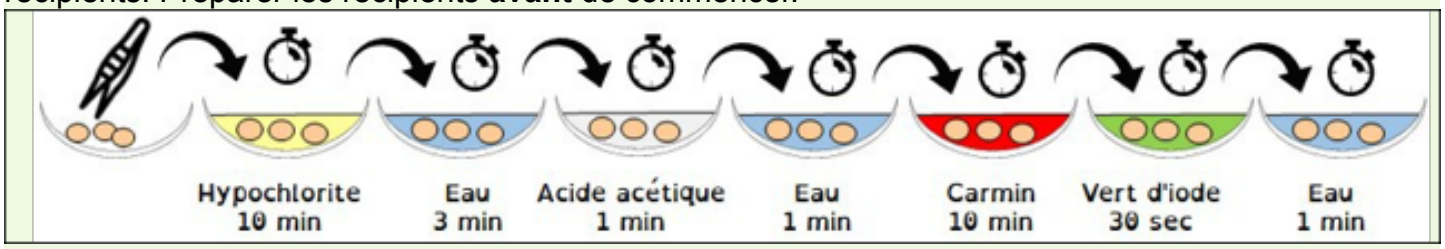
- Si les tiges ou les racines sont suffisamment épaisses et rigides **vous pouvez directement réaliser vos coupes avec une lame de rasoir**.

- Attention, les coupes doivent être bien **perpendiculaires** à l'axe de l'organe mais pas nécessairement sur la totalité de l'organe. Vous pouvez les réaliser **en biseaux** pour obtenir un côté très fin.

Attention avec la manipulation de la lame de rasoir !

Coloration des coupes

Colorer la cellulose et la lignine des parois cellulaires végétales des coupes selon le protocole : les coupes étant fragiles, les mettre dans le petit panier que vous tremperez dans les divers récipients. Préparer les récipients **avant** de commencer.



L'eau de Javel (ou hypochorite) détruit le contenu des cellules mais conserve les parois quelle que soit leur nature chimique.

Un bon rinçage dans deux bains successifs élimine l'eau de Javel qui nuirait à la coloration.

L'acide acétique détruit les traces résiduelles d'eau de Javel et facilite la fixation ultérieure des colorants sur les parois

Le **carmino-vert d'iode** est un mélange renfermant dix parties de carmin aluné pour une partie de vert d'iode. Le carmin aluné colore en rose les parois cellulosiques et le vert d'iode colore en vert les parois lignifiées. Attention ce colorant est thermosensible et dans certaines préparations du commerce les couleurs peuvent être inversées. Ne pas tenir compte uniquement des couleurs mais de la description des vaisseaux conducteurs afin de repérer la position du xylème et du phloème

Un rinçage final permet d'éliminer l'excédant de colorant avant le montage de la coupe entre lame et lamelle.

Réaliser une observation microscopique

Entre lame et lamelle dans une goutte d'eau au grossissement le plus adapté.