

Colorer les acides nucléiques

La coloration de Brachet peut être simplifiée afin de la rendre utilisable en travaux pratiques par les élèves, même en collège... si les conditions de l'enseignement sont compatibles avec les sciences expérimentales.

Le principe est de colorer les acides nucléiques de façon spécifique avec des colorants basiques : le vert de méthyle et la pyronine. Le premier colore l'ADN en vert, et le second les ARN en rose.

MATÉRIEL

- Verres de montre, lames et lamelles, tubes à essais;
- eau distillée;
- aiguille, scalpel et ciseaux;
- microscope;
- oignons (utiliser des oignons frais, mais pas des oignons rouge foncé);
- Colorants : formule simple (présentée au Journées pédagogiques de l'APBG 1990)

solution aqueuse de vert de méthyle à 1%	15 ml
pyronine en poudre	0,25 g
phénol ou acide phénique	0,5 g
alcool à 95°	2,5 ml
eau distillée	85 ml
éventuellement glycérine (pour conservation)	20 ml

Les couleurs des préparations sont meilleures si le colorant est préparé quelques jours à l'avance.

Le colorant se conserve très bien sans précaution particulière plusieurs mois (voire quelques années...).

NB : La pyronine nous a été fournie par les Ets Pierron qui envisagent de la mettre à leur catalogue.

TECHNIQUE

Observation des cellules

● Préparer deux verres de montre, l'un avec quelques gouttes de colorant, l'autre avec de l'eau distillée.

● Prélever un fragment d'épiderme d'écaille d'oignon. Prendre l'épiderme du côté concave de l'écaille : il se décolle facilement et ses cellules sont plus grandes et plus perméables au colorant. Côté convexe, des poils gênent parfois l'observation. Le fragment doit avoir 0,5 cm de côté au maximum, sinon il s'enroule et l'observation devient difficile.

● Placer rapidement le fragment dans le colorant (2 à 3 minutes).

● Rincer le fragment dans le deuxième verre de montre.

● Monter entre lame et lamelle dans une goutte d'eau, éventuellement glycinée, si on veut conserver quelques heures la préparation.

Observation de mitoses dans les racines

Le plus difficile est de trouver des cellules en cours de division.

- Utiliser des germinations d'oignons ou d'échalotes avec des racines de 4 à 5 cm de longueur.
- Prélever l'extrémité des racines (fragments de 1 cm environ).
- Mettre dans l'eau d'un tube à essai et faire bouillir 2 à 3 minutes, suivant leur grosseur.
- Déposer sur une lame une goutte de colorant et une goutte d'eau distillée. Mélanger avant de placer une pointe de racine. Dilacérer la racine avec un aiguille et placer la lamelle en appuyant légèrement en biais pour bien étaler l'échantillon.
- Observer.

RÉSULTATS

Observation de cellules

Les noyaux ont un fond bleu-vert : l'ADN. Les ARN sont colorés en rose : nucléole et granulations dans le cytoplasme. Malheureusement, les parois cellulosesiques se colorent en rose, sans doute par « effet buvard ». Une comparaison avec des lames identiques mais après traitement à la ribonucléase serait intéressante, mais ces lames sont difficiles à trouver.

Observation de mitoses dans les racines

La coloration verte permet de bien visualiser que les chromosomes contiennent de l'ADN. Le maximum de mitoses a été observé avec des prélèvements réalisés entre 10h et 11h et entre 15h et 16h.