

Fiche technique n°28

Sujet	Recette pour COMPTER LES CHROMOSOMES chez les Orchidées
auteur	Alain GERBAUD, 20/04/2003
	<p>A. Ingrédients</p> <ol style="list-style-type: none">1. Colchicine (pour avoir plus de figures métaphasiques, mais c'est facultatif) (soit 1 comprimé de la colchicine du commerce, uniquement sur ordonnance, pour 1 ou 2 ml d'eau)2. Fixateur de Carnoy : méthanol + chloroforme + acide acétique glacial en proportions respectives de 6 / 3/ 1 (prévoir par ex. 12 ml du premier, 6 ml du second et 2 du dernier).3. Carmin acétique (comme colorant des chromosomes) : 55 ml d'eau, 45 ml d'acide acétique et 0,5 g (c'est TRES cher !) de poudre de carmin : faire bouillir le mélange eau + acide acétique, ajouter le carmin, maintenir l'ébullition 5' ; laisser refroidir puis filtrer. Le colorant obtenu se conserve au moins deux ans au frigo. <i>Ndr : c'est une application « économique » du carmin acétique de Sémichon, qui utilise 4 % de carmin, au lieu de 0,5</i> <p>B. Matériel</p> <p>Tubes à essais et microscope à immersion</p> <p>C. Technique</p> <p>Il s'agit de loin de la technique la plus simple; d'autres existent, sans doute plus efficaces, mais nettement plus lourdes</p> <ol style="list-style-type: none">1. (étape facultative) Prélevez un (voire plusieurs) ovaire (le stade bouton floral semble préférable) et plongez le aussitôt 2 à 3 heures (maximum) dans la colchicine.2. (ou 1.) Récupérez les ovaires et plongez-les de suite dans le fixateur (préparé de préférence au dernier moment) pendant deux ou trois heures au moins. Les prélèvements peuvent être conservés ainsi 1 ou 2 semaines au frigo et plusieurs années au surgélateur.3. Placez l'ovaire dans du carmin acétique, portez le tube à essais à ébullition et la maintenir au moins durant 15 secondes (voire plus ... attention aux projections !).4. Posez l'ovaire refroidi sur une lame PO qu'on recouvre d'une lame CO (et disséquez le éventuellement pour ne garder que les ovules des ovaires à grosses parois ; inutile pour les Nigritelles), puis écrasez l'ovaire (= dissociez) l'ovaire ; j'utilise l'ongle du pouce à travers un buvard pour bien écraser en douceur).5. Observez enfin au microscope (objectif x100 à immersion),6. souriez (c'est réussi) et photographiez (c'est une autre recette) !