

# Orcéine

## 1. NATURE DU REACTIF :

C'est à la fois un colorant basique et un colorant acide ; c'est un colorant naturel qui est extrait des lichens à orseille (*Lecanora* et *Rocella*)

## 2. PREPARATION :

*Préparation de l'orcéine acétique selon Zirkel (1940) :*

1. Sous hotte et dans un bain marie bouillant, chauffer doucement jusqu'à ébullition commençante la solution suivante
2. Laisser refroidir.
3. Filtrer.

Acide acétique glacial	50 cc
orcéine	1 g

*Fixateur* : à préparer et utiliser dans la journée

Acide acétique glacial	10 cc
Ethanol absolu (ou à 95°)	30 cc

*Milieu de conservation* : (solution mère - facultatif)

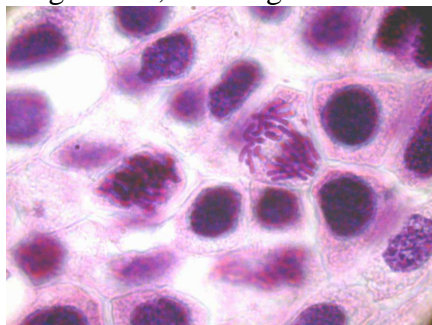
Dissoudre à chaud

Eau bidistillée	20 cc
Saccharose	2 g
gélatine	2 g

## 3. UTILISATION :

C'est un colorant spécifique des fibres élastiques, lorsqu'il est utilisé **en microscopie animale**.

Les coupes sont colorées pendant quelques minutes dans une solution saturée d'orcéine dans 50 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95° ; on acidifie ensuite par 2,5 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique ; les fibres élastiques sont brun rouge foncé, le collagène reste incolore, les noyaux et les fibres musculaires sont rose pâle.



**En botanique**, ce colorant est utilisé pour colorer les chromosomes lors de la mitose ou de la méiose. Travailler sur des méristèmes de jacinthe (ou d'autres bulbes : échalote, oignon, ail) pour la mitose ; sur des étamines de ciboulette ou de tulipe, d'ail des ours pour la méiose

On peut utiliser des solutions colorantes contenant soit du carmin acétique, soit de l'orcéine acétique auxquels on ajoute du

saccharose et de la gélatine, ce qui permet de conserver les préparations plus longtemps et rend les manipulations plus aisées. L'orcéine se conserve mieux en solution concentrée que l'on dilue à l'usage.

Procédure complète pour observer une méiose :

Fixation (durant 16 à 24 h)

- Laver les pièces à l'eau 2x de suite pour enlever l'acide acétique
- Laisser tremper les pièces durant 5 minutes dans de l'alcool à 70°
- Effectuer une seconde fois le trempage à l'alcool.



Les opérations de fixation et de lavage permettent de conserver le matériel durant 1 ou 2 ans

Coloration directe des pièces : travailler dans une pièce ventilée, (car l'acide acétique est irritant)

- Hydrolyser durant 5 minutes dans une solution d'HCl (l'acide hydrolyse le ciment pectique qui relie les parois cellulaires : cela va faciliter la

dissociation des cellules)

- Rincer soigneusement la pièce
- Poser la pièce sur la lame PO
- Déposer une goutte de colorant : laisser agir de 5 à 20 minutes
- Eliminer le colorant
- Observer dans une solution acétique à 50 % ou dans l'eau
- Dissocier la pièce délicatement (l'écraser) sous une lame CO
- Eponger le surplus de milieu de montage avant d'observer (pour éviter un mélange avec l'huile à immersion)

#### **4. DANGERS :**

L'acide acétique est très irritant ; le colorant est toxique.

#### **5. CONSERVATION :**

Cette solution d'orcéine acétique doit se conserver au réfrigérateur ; toutefois il est bon de s'assurer de l'absence de précipités gênants en réalisant un essai de coloration préalablement au TP.