

La COLORATION REGRESSIVE

En théorie, le principe est très simple : *il suffit de surcolorer (colorer avec excès) une préparation microscopique à l'aide d'un colorant déterminé, et puis de ramener la coloration au niveau recherché (décolorer), à l'aide d'un autre agent chimique, appelé « différenciateur ».*

Pratiquement, l'application du principe est souvent moins aisée !

- Il faut d'abord savoir que ce type de coloration ne s'applique qu'à des frottis (ce qui est peu courant en mycologie, à moins de considérer une sporée comme un frottis : pourquoi pas ?) ou à des coupes très minces et bien régulières.
- L'usage d'un fixateur est recommandé.
- Comme ce sont des préparations qui demandent du temps, nous conseillons de les monter au Baume du Canada, si le résultat obtenu s'avère valable, afin de les conserver sous forme de préparations définitives.
- Il est important de prendre des notes au sujet des expériences réalisées, et notamment quant au temps d'application des différents produits.

Mode opératoire :

- Effectuer une coupe très mince au microtome à main (modèle de Ranvier) ; utiliser de la moelle de sureau ou du polystyrène extrudé pour faciliter la tâche.
- Pratiquer la FIXATION de la coupe à l'aide d'un fixateur (parfois aussi appelé «agent mordant») : ce sont des mélanges assez complexes, à base d'acide picrique et d'acide chromique, la plupart du temps ! ... voir nos fiches techniques à ce sujet !
- Bien rincer à l'eau !
- Pratiquer la COLORATION à l'aide d'un colorant choisi, comme l'hématoxyline, la safranine, le violet de gentiane, l'orange G, le vert lumière, la Fuchsine de Ziehl, la phloxine, l'éosine jaunâtre.... durant une période qui

varie selon les colorants (de 15 minutes, à 12 heures...). La concentration de la solution de colorant a beaucoup d'importance ! Une règle à retenir : des solutions diluées agissent lentement mais de manière beaucoup plus élective !

- **Bien rincer** à l'eau !
- **Pratiquer la DIFFERENCIATION (la régression)** qui se fait en général à l'aide d'alcool (éthanol plutôt que méthanol) à 90-95° ou d'alcool chlorhydrique (alcool avec 1 % d'acide chlorhydrique).
- **Arrêter la DIFFERENCIATION** avec de l'eau pour des préparations ponctuelles, ou avec du xylène (xylol), qui stoppe instantanément la régression et permet le montage dans le Baume du Canada, dont il est le solvant par excellence.

Il s'agit là d'une succession d'opérations qui demandent du temps et auxquelles il faudra apporter du soin et de la minutie, afin d'arriver avec une quasi certitude à un résultat correct !