Zeitschrift: Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Entomologique Suisse = Journal of the Swiss Entomological Society

Herausgeber: Schweizerische Entomologische Gesellschaft

Band: 20 (1946-1947)

Heft: 6

Artikel: Le montage à l'acide lactique d'Arthropodes microscopiques à téguments mous

Autor: Gisin, Hermann

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-401015

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 08.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Le montage à l'acide lactique d'Arthropodes microscopiques à téguments mous

par

HERMANN GISIN
(Muséum d'Histoire naturelle de Genève.)

L'acide lactique est un réactif admirable pour rendre, aux petits Arthropodes délicats, l'état d'extension et d'éclaircissement nécessaires à l'observation microscopique. Contrairement à la potasse caustique, il ne détruit pas le pigment. Il est aussi très supérieur à l'acide acétique, au phénol et aux mélanges à base d'hydrate de chloral (liquides de BERLESE et FAURE) par son indice de réfraction favorable, ainsi que par le fait qu'il est inodore, non caustique, qu'il ne cristallise pas et ne se dessèche pas. On peut garder indéfiniment des objets montés dans l'acide lactique, entre lame creuse et lamelle, sans autre fermeture ; ces préparations peuvent être manipulées comme des montages permanents, si on a eu soin d'aspirer l'excès de liquide avec un buvard. Mon expérience porte avant tout sur des Collemboles, mais aussi sur des Protoures, des Campodés, des Pauropodes et des Symphyles (Myriapodes).

Cependant, l'action de l'acide lactique n'est pas tout à fait identique sur tous les objets. Si on n'a pas le loisir d'attendre des heures, et plus généralement des jours, jusqu'à ce que le gonflement maximum se soit produit à froid, il faut chauffer la préparation. L'extension est alors rapide, brusque quelques fois, allant facilement, à défaut de prudence, jusqu'à l'éclatement des objets. Sur des espèces mieux chitinisées, de taille dépassant 1 mm. (*Isotomurus* p. ex.), ou sur celles qui vivent à l'air libre *(Bourletiella)*, le chauffage dans l'acide lactique peut déterminer de violentes contractions de l'hypoderme avec déplacement des taches de pigment, contractions qui ne se réparent que partiellement dans la suite.

A ces inconvénients semble s'ajouter celui que rapporte LANGERON (*Précis de microscopie*, 6e éd., 1942) à propos des Nématodes : « Si on a l'imprudence de les laisser trop longtemps en contact avec ce

liquide (acide lactique), ils ne tardent pas à être gonflés et ramollis au point d'éclater d'eux-mêmes ». Quant aux Collemboles au contraire, je puis affirmer que même les espèces les plus enclines à se dissocier (*Isotoma notabilis* p. ex.), fraîchement tuées à froid dans l'alcool à 94°, ne sont jamais détériorées par l'acide lactique à froid. LANGERON continue : « Même lorsque les préparations ne sont pas détruites, il s'y forme des granules qui les rendent inutilisables. » Là encore, contradiction formelle avec mes propres observations. Mais nous en avons trouvé l'explication.

J'avais bordé, il y a quelques années, un grand nombre de préparations avec le lut à base de colophane et de lanoline, dont LANGERON préconise l'emploi. Ce lut adhère vraiment très bien, même sur le verre mouillé. Malheureusement, j'ai dû constater, au bout de quelques mois, que les animaux inclus dans l'acide lactique s'enveloppaient d'un précipité de gouttelettes résineuses, la plupart se dissociaient même complètement. D'autres expériences m'ont prouvé que les résines naturelles en général ne peuvent servir à border des préparations à l'acide lactique. M. LANGERON, averti de ces résultats, a bien voulu me les confirmer : « vos constatations concordent exactement avec les miennes : les luts résineux ne conviennent pas du tout pour les liquides renfermant de l'acide lactique » (lettre du 7 mai 1947).

Rien ne paraît donc démentir mes observations montrant que les animaux traités par l'acide lactique et conservés simplement dans ce liquide ne subissent pas d'altérations ultérieures (expérience de quatre ans). Quelle serait la technique de montage sûr et commode qui garantirait leur conservation indéfinie, dans la belle présentation que leur donne ce milieu ?

Les difficultés d'obtenir des préparations durables en milieu liquide m'avaient amené a essayer des milieux de montage se desséchant à la manière de la gomme de FAURE. Celle-ci, à elle seule, ne corrige pas les contractions occasionnées par l'alcool sur les objets délicats. J'ai essayé de multiples variantes, notamment en remplaçant la glycérine ou la glycose par l'acide lactique et, en même temps, la gomme arabique par la gélatine (il faut 30 à 40 % de gélatine pour solidifier l'acide lactique ; l'acide acétique à 30 % maintient ce mélange à l'état liquide ; la gomme arabique ne convient pas avec l'acide lactique parce qu'elle forme des cristaux en se desséchant). Ces tentatives ne m'ont pas donné de résultats satisfaisants. Dans tous ces mélanges, les ingrédients nuisent aux propriétés précieuses de l'acide lactique. De plus, celui-ci ramollit les objets au point qu'ils se ratatinent si on les porte dans un milieu d'une composition différente. Les gommes ne peuvent servir que pour des animaux à téguments relativement durs, ou quand il s'agit d'observer le dessin pigmentaire superficiel, etc. de spécimens tués en parfaite extension.

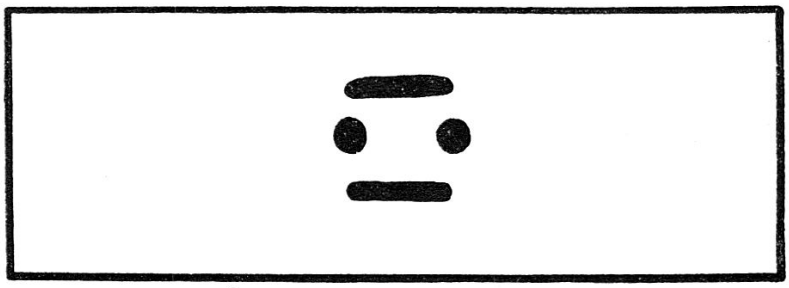
J'ai donc recherché un lut hermétique et résistant à l'acide lactique. Après de nombreux essais avec des cires et la paraffine, qui n'assurent

toutefois pas une fermeture suffisante, j'emploie depuis deux ans une méthode rapide qui me donne satisfaction.

Tous les objets sont préalablement chauffés dans l'acide lactique. Pour cela, le mieux est de les monter provisoirement entre lame creuse et lamelle. La température convenable et la durée du chauffage varient avec les espèces et leur état de conservation. Il faut donc surveiller à la loupe, ou même au microscope. C'est dans ce montage provisoire, mais de garde indéfinie, que je procède à la détermination et au choix des spécimens qui seront montés en préparation définitive.

Pour celles-ci, j'ai adopté des lamelles de 10 × 10 mm. Dans la plupart des cas, on peut monter un certain nombre de spécimens ensemble, et disposer plusieurs couvre-objets sur une même lame. Par parenthèse, j'utilise la méthode de classement des préparations préconisée par RACOVITZA (1920), et je la trouve excellente. Elle consiste à coller deux étiquettes en carton (épais de 1 mm.) sur chaque lame, de sorte que celles-ci peuvent se ranger « en fichier », rendant ainsi superflues les boîtes à rainures.

Le poids d'une lamelle écraserait les objets ramollis et fragiles. Pour la soutenir, je me sers d'un mélange à parties approximativement égales de vaseline et de lanoline anhydre, que je laisse fondre, avant l'emploi, dans une petite capsule d'étain posée sur ma lampe de table (50° C). L'application se fait au moyen d'un fil de fer, dont l'extrémité recourbée à angle droit trempe dans le mélange chaud. On en porte une goutte en fusion, suspendue au bout du fil de fer, sur la lame, où par un mouvement rapide, on l'étale en une petite crête de la longueur d'un côté d'une lamelle (10 mm). On procède ainsi pour deux côtés



Lame avec une cellule de vaseline-lanoline (avant l'application de la lamelle).

opposés de l'emplacement de la lamelle. Les deux autres côtés recoivent seulement une goutte en leur milieu. Il en résulte une cellule laissant quatre passages étroits (fig.). L'épaisseur (la hauteur) de la cellule doit être proportionnée à la taille des objets à monter. On peut varier la grosseur de la goutte de cire en retirant le fil de fer

plus ou moins vite de la masse fondue ; pour des objets volumineux, on peut aussi appliquer deux crêtes l'une sur l'autre.

Comme milieu de montage, l'acide lactique pur, assez fluide, coulerait trop rapidement hors de la cellule. On le rend plus consistant par l'addition de 8 % de gélatine. Bien que la dissolution complète à froid demande plusieurs jours, il est préférable de ne pas chauffer pour éviter toute coagulation. Je découpe et n'utilise que les parties losangiques propres des feuilles de gélatine ; leur poids est d'environ 0,025 grammes (60 cm^2 = 1 g.).

De cette solution visqueuse, on dépose une gouttelette au milieu de la cellule. Le dosage s'apprend par la routine ; il dépend de l'épaisseur des objets et de la compression qu'on veut éventuellement exercer sur eux. Les opérations suivantes se font avec avantage sur un dispositif permettant d'éclairer par-dessous.

Le transport des spécimens gonflés dans l'acide lactique s'exécute au moyen de pinceaux très fins. J'en fabrique en collant trois bouts de cheveux dans une fente pratiquée à l'extrémité d'une allumette. Pour saisir les Collemboles mesurant plus d'un millimètre, il faut manipuler simultanément avec deux pinceaux de cette sorte. Ceux-ci rendent service aussi pour orienter les objets avant l'application de la lamelle.

L'enfoncement de la lamelle doit être suivi à la loupe. Avec une pointe de préférence tendre, on exerce délicatement une légère pression sur divers points du pourtour de la cellule de cire. Il faut surveiller à la fois l'étalement régulier du liquide de montage, l'état de compression que subissent les objets, et la fermeture progressive des passages de la cellule. Eviter en tout cas le débordement de l'acide lactique hors de la cellule. Les bulles d'air, en revanche, qui resteraient enfermées aux coins de la préparation sont sans inconvénient, car elles ne se déplacent plus, mêmes si elles sont très grandes. Un petit mouvement de translation de la lamelle, qui fasse rouler les objets sur eux-mêmes, permet de leur donner l'orientation voulue. La forme comprimée ou la grande taille de l'objet peuvent s'opposer à cette manœuvre. Dans ces cas, j'ai eu de bons résultats en déposant, au milieu de la cellule, quelques instants avant d'appliquer le liquide de montage, une infime gouttelette d'une solution épaisse de gélatine dans l'acide acétique à 50 %. L'objet y adhère et se laisse mieux orienter. Le montage d'objets dépassant 1 mm. d'épaisseur est cependant toujours malaisé ; il vaut mieux les disséquer d'abord (tête, pattes et furca préparées à part, chez les *Orchesella* par exemple).

Le plus souvent, la fermeture des quatre passages de la cellule ne réussit pas d'emblée. Pour fermer définitivement et pour fixer la lamelle, on lute avec de la cire blanche d'abeille au moyen d'un fil de fer recourbé. Il faut appliquer la cire très chaude, presque brûlante, pour qu'elle coule bien entre lame et lamelle et fusionne avec la cellule de lanoline-vaseline. Après le lutage, la préparation

peut être tout de suite manipulée, classée et conservée définitivement ; mais si on le juge nécessaire, on pourra encore recouvrir la bordure avec un vernis à l'alcool.

Ces préparations à cellules de lanoline-vaseline ne sont peut-être pas recommandables dans les fortes chaleurs des climats tropicaux. Cependant, j'en ai exposé une à 47° C pendant une demi-heure ; elle n'a subi aucun dégât. La cire, qui ne fond qu'au-dessus de 60° C, empêche la lamelle de se déplacer.

Ayant trouvé une solution à la question du montage, je m'étais mis à chercher un moyen de régulariser le gonflement par l'acide lactique chaud. Ce problème se ramène en grande partie à celui de la fixation.

L'alcool froid à 70° doit être proscrit. Son pouvoir de pénétration et de fixation est insuffisant ; certains petits insectes y surnagent obstinément. De plus, il détermine des contractions et des coagulations. Des Collemboles ainsi fixés restent ± opaques dans l'acide lactique, tournent « au gras », rétractent souvent leur hypoderme pigmenté et éclatent facilement. L'alcool à 90° est déjà meilleur.

On a recommandé l'emploi du fixateur de CARNOY (alcool à 90° 6 vol., chloroforme 3 vol., acide acétique 1 vol.). Mais, par suite du poids spécifique élevé du chloroforme, on a de la peine à faire pénétrer toute la récolte dans le liquide. Et, employé avec les entonnoirs de BERLESE, il rend impossible le triage des échantillons dans l'eau glycérinée ; les animaux, alourdis par le chloroforme, tombent immédiatement au fond.

J'ai donc essayé de remplacer, dans ce mélange, le chloroforme par l'éther ; la fixation ne m'a pas paru en souffrir. Avec les espèces relativement robustes, il faut laisser ces liquides agir au moins 1 jour pour bien dissoudre les graisses. Néanmoins, même après une durée de fixation d'un mois, certains objets, chauffés dans l'acide lactique, rétractent facilement leur hypoderme, qui se décolle de la chitine à la tête et au dos. On peut y remédier en ajoutant quelques gouttes de formol au fixateur. Les animaux ainsi traités n'éclatent plus jamais dans l'acide lactique, même bouillant. Malheureusement le formol nuit à la transparence des objets, à moins de limiter sa concentration (1 à 3 $^0/_{00}$) et la durée de son action (2 à 3 jours).

Ce liquide fixateur contenant de l'alcool et de l'éther, si on voulait le laisser dans un godet ouvert près de l'embouchure d'un entonnoir de BERLESE, se volatiliserait trop rapidement. Son évaporation est beaucoup retardée par l'emploi de tubes de 10 mm. de diamètre qu'on fixe hermétiquement aux entonnoirs au moyen de tuyaux de caoutchouc. Un contrôle quotidien est ainsi suffisant, mais nécessaire. Quelques brusques secousses, après avoir rempli le tube au $^4/_5$ et en le bouchant avec le doigt, noient définitivement les bestioles qui pourraient encore surnager. Je n'ai pas constaté, après essai, que l'odeur du fixateur puisse avoir une influence quelconque sur la

descente des Arthropodes fuyant les échantillons de sol en voie de dessication sur les entonnoirs.

Pour l'examen préalable de Collemboles fixés depuis quelques jours ou quelques semaines, j'utilise maintenant d'habitude de l'acide lactique additionné de gélatine et d'acide acétique. La gélatine, en épaississant le milieu, adoucit le gonflement et facilite les manipulations ; l'acide acétique diminue les contractions dues au départ brusque de l'alcool lors du passage dans le milieu sirupeux.

En appendice, je crois utile de signaler le procédé dont je me sers pour évacuer l'eau glycérinée dans les échantillons triés dans ce liquide. La même technique peut s'employer toutes les fois qu'il s'agit de concentrer une « poussière de bestioles » dans un petit volume de liquide. Un simple filtrage, par sa grossièreté, ferait perdre une trop grande partie du matériel.

Au moyen d'une pipette, j'aspire l'excès de liquide à travers un tube en soie à bluter. Ce tube est facile à construire. On roule un morceau convenable de soie à bluter autour d'une baguette d'environ 5 mm de diamètre et colle les bords au collodion. Ce tube d'environ 5 cm. de long est ensuite replié ; des deux branches, maintenues réunies par une goutte de collodion, la plus longue sert à saisir le tube, la plus courte, à introduire la pipette. La soie étant très lisse, les animaux s'en détachent tout seuls quand on les plonge dans une petite quantité d'alcool où ils seront conservés.

Récapitulation des formules

Fixateur :	alcool fort (90-95 %)	750 cm^3
	éther sulfurique	250 cm^3
	acide acétique	30 cm^3
	formol à 40°	3 cm^3.

Après deux jours, préparer le matériel (les animaux frais donnent toujours de meilleures préparations) ou éliminer le fixateur en plongeant les tubes bouchés au coton dans l'alcool à 70°. Dans les entonnoirs de BERLESE, où les tubes de récoltes restent généralement plus longtemps, il faut réduire la quantité de formol à 2 ‰.

Liquide d'examen :	acide lactique 90 °	100 g
	acide acétique	4 g
	gélatine	4 g
Liquide de montage :	acide lactique	100 g
	gélatine	8 g.