

Une technique de préparation des organes végétaux durs et de grandes dimensions : la double-inclusion Eukitt / Méthacrylate

par Thierry DEROIN* et Jeanne DEROIN

Résumé : Description d'un procédé de montage permettant de préserver les tissus lignifiés, sclérifiés et subérisés, en vue de leur étude en lumière réfléchie.

Mot-clé : techniques de laboratoire botanique.

Summary : Description of a mounting schedule for preserving lignified, sclerified, and suberized tissues, especially in large-sized specimens, in order to study them with reflected light.

Key-word : botanical laboratory techniques.

La présence de tissus de dureté et de tension très différentes dans un même organe végétal est un obstacle technique important, surtout lorsque le spécimen est de grande dimension. On pense immédiatement aux lianes ligneuses, mais il ne faut pas oublier aussi certaines fleurs et certains fruits comme ceux de *Magnolia* et parfois même les rhizomes, comme dans quelques *Ipomoea* tropicaux. Les procédés habituels de préparation (sections à la main, et *a fortiori* à la paraffine) sont souvent inapplicables, parce que les écorces se détachent, les tissus scléreux se pulvérisent et les fibres se déforment, à cause de la modification brutale des contraintes mécaniques auxquelles elles étaient soumises dans l'individu vivant. Il était donc nécessaire de mettre au point une technique respectant la topographie des tissus.

1. Protocole.

Le matériel d'étude est débité en tronçons grossiers (0,5 à 5 cm), éventuellement à la scie, puis fixé par le FAA (Formol : 5, Acide acétique : 5, Alcool 70° : 90), ou restauré par l'ammoniaque et post-fixé par le FAA (DEROIN, 1994). Il est ensuite progressivement déshydraté, d'abord par l'alcool 95°, suivi de l'acétone. Les spécimens sont finalement stockés dans le toluène.

* T. D. : Laboratoire de Phanérogamie, Muséum National d'Histoire naturelle, 16, rue Buffon, 75005 PARIS.

a - Les échantillons ainsi préparés sont plongés dans l'Eukitt, une résine synthétique très utilisée pour le montage des lames de microscopie. On pratique dans un bocal hermétique : les pièces s'imprègnent progressivement de résine, on peut les retirer à la pince lorsqu'elles atteignent le fond.

b - Les objets sont immédiatement disposés dans des moules (par ex. de type Presi KM acrylique à fond métallique, ou à défaut en bristol paraffiné). On laisse sécher à l'abri de la poussière, éventuellement à l'étuve 50 °C. Les objets sont alors bien collés dans les moules.

c - Selon les dimensions des objets, 2 à 8 jours seront nécessaires pour le durcissement de l'Eukitt. On passe alors à la seconde inclusion par le Méthacrylate, opération pour laquelle il est préférable de manipuler dans une pièce bien aérée ou sous une hotte. Nous avons utilisé une formule à polymérisation rapide (Buehler, Sampl-Kwick) : on mélange la poudre (réf. 20-3562) au liquide (réf. 20-3564) dans les volumes 2/1, pendant 15 à 20 s, afin d'obtenir une résine homogène, assez visqueuse. Ce composé est versé dans les moules, de façon à juste recouvrir les objets. La polymérisation, exothermique, dure 10 mn.

d - Les blocs durcis sont retournés, ceux de type Presi KM sont simplement décapsulés, les autres sont démoulés. Les objets affleurent à la surface. Celle-ci va être usée sous l'eau par des émeris (600 à 1000), puis polis et lustrés sur des disques de toile (8 µm à 2 µm). Un tour peut être utile pour de grandes séries, mais on traite facilement les blocs à la main.

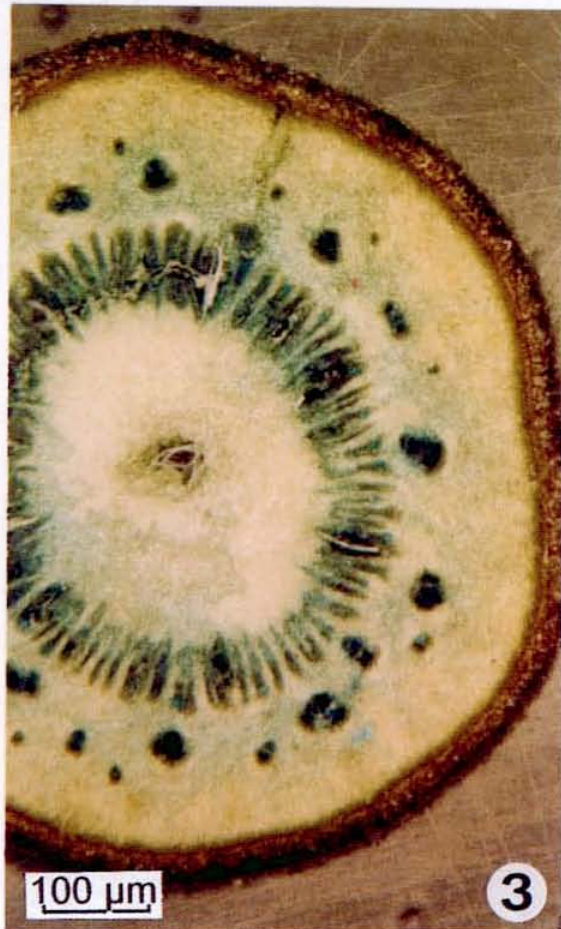
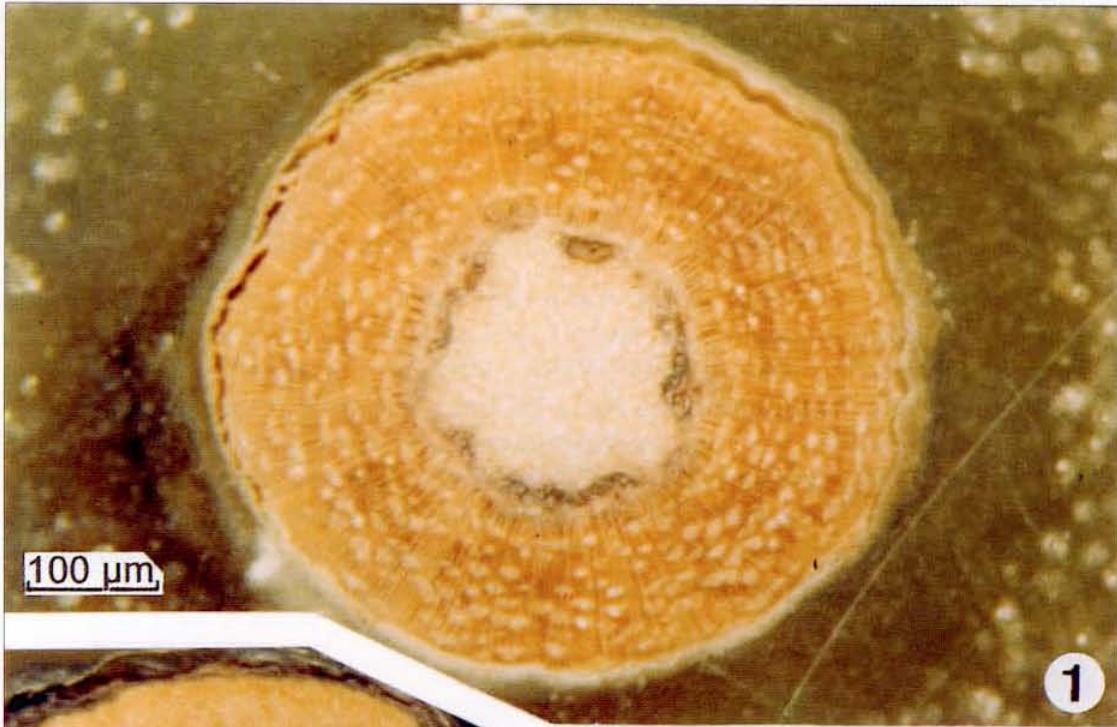
e - Les préparations subissent un séchage complémentaire à l'abri de la poussière, et éventuellement en étuve à 50°C. L'Eukitt imprégnant les tissus tend à se rétracter légèrement, mettant ainsi en valeur toutes les cavités, c'est-à-dire non seulement les vaisseaux, mais aussi plus généralement les cellules.

L'organisation des tissus est suffisamment visible en lumière réfléchie avec un bon microscope binoculaire, tant par les caractères structuraux que par la conservation des couleurs "naturelles", ou du moins résultant de la fixation. On n'a donc pas besoin de colorer ces sections. Comme classiquement en Paléontologie, il est possible d'user progressivement tout l'objet et de l'étudier en sections sériées au moyen de bonnes photographies successives.

2. Résultats.

Nous commenterons ici 3 exemples :

Figure 1 : Section transversale d'une tige de *Erycibe tixieri* Deroïn (*Convolvulaceae*) : il s'agit d'un matériel d'herbier récolté depuis plus de 50 ans, au Vietnam (DEROIN & FALAISE, 1995). L'écorce lamelleuse et fibreuse est restée en place. Le xylème secondaire montre de nombreux rayons, et des vaisseaux accompagnés de parenchyme aliforme. Le phloème interne primaire



s'est transformé en lacunes de résorption, fortement pigmentées par des tannins, et disposées en périphérie d'une moelle bien préservée. Les teintes naturelles de l'objet sont bien contrastées.

Figure 2 : Section transversale d'une tige de *Argyreia vahibora* Deroïn (*Convolvulaceae*) : ce spécimen a été fixé sur le terrain, à Madagascar, en 1992. La préparation est entière, ce qui est impossible pour ce matériel, si l'on coupe au rasoir. Les formations tertiaires sont bien mises en évidence.

Figure 3 : Section transversale du réceptacle floral de *Magnolia grandiflora* L. (*Magnoliaceae*) au niveau de l'androcée : la fleur a d'abord été infiltrée *in vivo* par le Bleu Astra (DEROIN, 1994), afin de mettre en évidence la vascularisation fonctionnelle, puis elle a été débitée rapidement en tronçons de 0,5 cm. Ceux-ci, enfilés par leur centre (non vascularisé) à l'aide d'un fil de coton, afin de conserver leur ordre, ont été fixés par le mélange très pénétrant : Formol : 15 + Acétone : 85. On arrive alors à bloquer le noircissement des tissus, qui demeurent clairs. La présence d'un trichome dense lignifié et de diaphragmes scléreux rend difficile l'obtention de sections entières au rasoir.

Bibliographie

- DEROIN, T., 1994 - Techniques méconnues ou nouvelles en Anatomie végétale. *Bull. Soc. Bot. Centre-Ouest*, Nouvelle série, **25** : 55-58.
- DEROIN, T. et FALAISE, H., 1995 - Un *Erycibe* (*Convolvulaceae*) nouveau du Haut Donnaï, Vietnam. *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.*, 4^e sér., **17**, sect. B : 183-189.