

CHAPITRE PREMIER

Des instruments et des procédés microscopiques qui doivent être employés en botanique.

884. Les études botaniques ne demandent pas l'emploi de microscopes spéciaux. Elles exigent même en général, l'emploi de grossissements moins forts que la plupart des autres. Aussi lorsqu'on pense ne pas étendre à d'autres observations l'usage de cet instrument, on pourra ne prendre que l'un des petits modèles des microscopes décrits plus haut (p. 152 et suiv. et 391 et suiv.) avec ou sans loupe montée servant à certaines dissections, des petites fleurs, des ovaires, des organes, des mousses, des algues, etc. (Voy. p. 115, 164 et suiv.)

Quant aux instruments et accessoires nécessaires, ce sont simplement des scalpels, des rasoirs, des aiguilles à dissection, ou des aiguilles à cataracte, des brucelles, un étau à main, des capsules de porcelaine, une lampe à alcool, quelques baguettes de verre plein, des tubes creux ou des pipettes et des verres de montre. (Voy. plus haut, p. 247, et suivantes.)

L'étau à main (fig. 89) sert à serrer, entre de la moelle de sureau, les objets minces (par exemple les lames des feuilles) dont on veut avoir des coupes transversales.

Les réactifs les plus fréquemment employés (voy. p. 485) dans les recherches d'anatomie végétale, sont les suivants :

Chlorure de zinc iodé, eau bromée, eau iodée et teinture alcoolique d'iode, réactif de Millon, éther, réactif ammoniaco-cuprique, acides nitrique, sulfurique et chlorhydrique, solutions de carmin, chlorate de potasse, potasse caustique et ammoniacale.

Indiquons ici quelques-uns de ces agents dont il n'a pas été question plus haut (p. 277 et suivantes) :

1° *Chlorure de zinc iodé.* — Son action est à peu près celle de l'acide sulfurique et de l'iode employés l'un après l'autre, mais la coloration bleue qu'il exerce sur la cellulose varie de teinte d'après son degré de concentration. La couleur bleue se change en violet ou en rouge au bout de vingt-quatre heures.

tomie et d'embryogénie végétales feront bien de consulter l'ouvrage de Schacht, sur *le Microscope appliqué à l'anatomie végétale*, 5^e édition allemande et la traduction française, par Dalimier. Paris, 1865.

D'après Schulze, on doit préparer de la façon suivante le chlorure de zinc iodé : la solution de zinc dans l'acide chlorhydrique est évaporée à consistance sirupeuse, tout en la remuant sans cesse avec une lame de zinc métallique. On ajoute alors 6 parties environ d'iode de potassium pour 100 de liquide. On finit en y ajoutant de l'iode autant qu'il s'en dissout et de l'eau en quantité nécessaire.

2° *Liquueur nitro-mercurique ou réactif de Millon* (dit souvent, mais à tort *nitrite de mercure*. Voy. p. 324).

3° *Liquueur ou réactif ammoniaco-cuprique.* — On le prépare en dissolvant de l'oxyde de cuivre récemment précipité et encore humide dans de l'ammoniacale liquide. (Schweizer, de Zurich.)

Le réactif ammoniaco-cuprique sert à dissoudre la cellulose des cellules non lignifiées par incrustation. (Cramer, de Zurich.) L'acide chlorhydrique précipite la cellulose de cette dissolution sous forme de flocons.

4° *Chlorate de potasse.* — Il sert dans le procédé de macération imaginé par Schulze. On prend l'objet que l'on coupe en tranches minces. On les dépose sur le porte-objet et on les couvre d'une quantité de chlorate de potasse égale à leur volume, puis on ajoute quelques gouttes d'acide nitrique. La lame de verre est ensuite exposée pendant une à trois minutes à la chaleur d'une lampe à alcool. Après la réaction, on lave en répandant à plusieurs reprises de l'eau, au moyen d'un pinceau, sur la préparation. On parvient de cette façon à isoler les cellules.

Incineration et coupes des tissus végétaux.

885. Pour incinérer les coupes des tissus végétaux riches en silice, etc., tels que ceux de la partie superficielle des tiges des Graminées, les Équisetum, les Diatomées, etc., etc. On les tient au-dessus de la flamme d'une lampe à alcool sur une lame de platine, telle que le couteau de platine des laboratoires de chimie. Quand l'incinération est complète et la lame refroidie on renverse celle-ci avec la pellicule de cendre sur le porte-objet, dans une goutte d'eau pure ou glycéinée qu'on y a mis d'avance. Pour les Diatomées et quelques autres plantes, il est bon de mettre une goutte de solution concentrée de chlorate de potasse sur la coupe avant de la porter sur la lampe à alcool.

Dans l'exécution des coupes des tissus végétaux (voy. p. 347, 350 et 351 et suiv.) il est rare que celles-ci soient également bien réussies sur toute leur surface. Les bords sont d'ordinaire les par-

ties les meilleures. Il importe peu que la coupe soit très-large; sa minceur et l'intégrité des cellules sont les conditions essentielles d'une bonne préparation. Avant de couper les bois durs ou les graines, on fera bien de les laisser séjourner un jour ou deux dans l'eau froide pour les ramollir. Quant aux bois tendres, le meilleur moyen d'en obtenir des coupes délicates, fines, c'est d'employer l'injection de stéarine fondue; aucun autre procédé ne pourra donner des coupes aussi fines. On fait disparaître ensuite la stéarine à l'aide de l'éther ou de la benzine¹. (Schacht.)

La grosseur relative des objets fera modifier les procédés d'opération; les corps un peu gros se tiennent de la main gauche entre le pouce et l'index; on enferme au contraire entre deux lamelles de liège ou de sureau les corps de dimensions trop petites, tels que les tiges de mousses, les petites branches ou les petites racines, les feuilles, l'épiderme ou les autres tissus disposés par couches, les petites graines, etc. Quant aux parties encore trop délicates pour supporter la pression entre les lames de moelle de sureau, on les tient avec la plus grande précaution entre le pouce et l'index. C'est là particulièrement le procédé à suivre pour couper un petit objet en deux parties égales. Désire-t-on au contraire obtenir une tranche passant par le milieu d'un corps très-petit, tel qu'un embryon pris dans une graine, on porte ce corps sur l'index, en ne se servant du pouce que pour l'empêcher de le déplacer. On mouille préalablement le doigt pour rendre les déplacements moins faciles, et l'on fait la coupe en appuyant solidement le bras gauche contre la table. On observe au microscope ces coupes d'abord sans verre-à-couvrir, et souvent il sera bon de retourner la préparation sur elle-même. C'est alors qu'on découvrira en quel point et de quel côté on peut faire mieux encore à l'aide d'une nouvelle section. On reporte dans ce cas l'objet sur l'index de la main gauche et on recommence l'opération, après avoir bien examiné à la loupe la véritable position de la coupe sur le doigt, si la coupe est assez fine; mais s'il reste quelques parties adhérentes dont il soit nécessaire de se débarrasser, on détachera ces derniers sous la loupe montée, avec les aiguilles ou les petits scalpels. (Schacht, *loc. cit.* p. 61 et 63.)

¹ Depuis Malpighi (*Anatome plantarum*, 1675), et Leeuwenhoek (1680 à 1722), on trouve la description et la représentation de coupes minces d'un grand nombre de tissus et d'organes des plantes dans Joblot, Baker, Ledermüller, Adams et autres. On s'étonne même, en les voyant, de ne pas rencontrer celles de quelques-uns des tissus animaux qui ont une consistance analogue.

886. Pour les *graines très-petites*, les *grains de pollen*, et les *spores* on prend un bâton de moelle de sureau sèche, long de 2 à 3 centimètres à peu près et aussi large que possible. On fait à l'une des extrémités une section plane, bien nette, que l'on recouvre ensuite d'une couche de gomme très-consistante.

Cette gomme, en dissolution, doit être claire et privée de toute impureté, ce qu'on obtient en laissant la liqueur reposer un jour ou deux. On plante debout ce petit bâton de sureau, et l'on laisse la couche gommeuse se dessécher lentement; après quoi on ajoute une seconde couche et on sème ensuite à la surface les petits objets à étudier. Le bâton est replacé dans la position précédente, et lorsque le tout est bien sec, on ajoute une troisième et dernière couche de gomme. C'est alors qu'on peut faire des coupes excessivement fines à travers la gomme et la moelle de sureau, à l'aide d'un rasoir bien affilé, à lame concave. On enlève les coupes avec une aiguille sèche, et on les porte dans une goutte d'eau préparée à l'avance sur le porte-objet. Les premières coupes d'ordinaire ne fournissent rien, jusqu'à ce qu'on arrive à la surface sur laquelle ont été déposés les petits objets. Avec un peu d'exercice et de patience, on obtiendra de la sorte des coupes très-élégantes et d'une très-grande finesse. Il est essentiel en même temps que la masse gommeuse soit arrivée à un degré tout à fait déterminé de dessiccation et qu'elle ne soit ni dure ni molle; lorsqu'elle est trop sèche, on la ramollira avec l'haleine. Il est utile également d'ajouter un peu de sucre à la dissolution gommeuse pour empêcher le fendillement pendant la dessiccation. Les sections faites dans la gomme doivent offrir des surfaces brillantes; lorsqu'elles sont rugueuses, c'est que les corps intérieurs ont été plus ou moins déchirés; voilà pourquoi le rasoir doit être aussi tranchant que possible. (Schacht, p. 64.)

Pour étudier des bois fossiles, il est nécessaire de les mettre à digérer pendant plusieurs jours dans une dissolution de carbonate de soude et de les laver ensuite avec de l'eau. Il est possible après cela de couper des bois qui, sans ce traitement, n'auraient pu fournir aucune coupe utile. On peut faire des coupes longitudinales et transversales dans des bois transformés en carbonate de chaux en se servant d'une scie faite d'un ressort de montre, et en les polissant ensuite. Après avoir obtenu une première surface avec la scie on la polit en la frottant, à plat, avec de l'eau, sur une fine pierre à aiguiser: on emploie alors la scie pour la coupe, et l'on

fixe celle-ci par le côté poli, avec de la cire, sur un bouchon ; on enlève ensuite les parties les plus grossières avec une lime fine et on polit la coupe sur une pierre à aiguiser, jusqu'à ce qu'elle soit devenue suffisamment mince. On plonge après cela le bouchon dans l'alcool ; la coupe se détache, ou la nettoie avec un pinceau, et l'on peut dès lors la conserver dans le baume du Canada. (Schacht, p. 150.)

887. Notons ici que les préparations végétales se font, comme il a été dit plus haut (page 582 et suiv.), d'une manière générale. Pour ce qui concerne leur examen, voyez p. 420, 440, 476 et 485.

Celles qui ne renferment pas de grains d'amidon ni de chlorophylle, seront conservées dans le chlorure de calcium. (Voy. p. 509.)

La glycérine peut également être employée pure ou un peu étendue d'eau dans les mêmes circonstances. Il faut la choisir toutes les fois que l'on veut conserver des grains d'amidon qui y deviennent très-évidents au bout de vingt-quatre heures. Elle conserve aussi assez bien la chlorophylle.

Mais pour les préparations colorées en général, il vaut mieux employer l'alcool créosoté de Thwaites (page 574, § 529), ou la gélatine glycinée (page 575), qui conserve bien la plupart des préparations délicates d'origine végétale.

Notons encore que l'eau camphrée est recommandée par M. van Heurck pour conserver les spirales délicates de chlorophylle qui se trouvent dans certaines algues, telles que les *Spirogyra*. Ces spirales sont détruites par toute autre solution. Pour préparer l'eau camphrée, on prend un flacon de 40 à 60 grammes à moitié rempli d'eau, dans lequel on verse 5 ou 4 gouttes d'alcool camphré et on secoue fortement. On opère ainsi un certain nombre de fois jusqu'à ce qu'une couche assez considérable de camphre en poudre surnage. Le liquide est alors filtré et conservé dans un flacon fermant parfaitement.

On emploie l'huile fine dont se servent les horlogers, au lieu des essences, etc., pour conserver les pollens, l'aleurone et quelques autres objets.

L'eau sucrée et le sirop de sucre faible des pharmacies sont employés soit comme liquide conservateur, soit comme réactif. Dans ce dernier cas, en ajoutant une goutte d'acide sulfurique à une préparation plongée dans le sirop de sucre, au bout de 5 à 10 minutes, celle-ci se colore en rose et l'utricule primordial se rétracte.

CHAPITRE II

De l'étude à l'aide du microscope des parties constituantes des plantes.

ART. I. — EXAMEN DES PARTIES CONSTITUANTES DES PLANTES QUI N'ONT PAS DE FORME PROPRE.

888. Parmi les parties constituantes élémentaires des plantes, il en est qui sont dépourvus de configuration déterminée ou du moins de forme qui leur soit propre. Il faut signaler : 1° la substance de la *cuticule et des couches cuticulaires* de l'épiderme végétal ; 2° la *substance intercellulaire*, dite aussi *unissante ou intermédiaire* ; 3° la substance gélatiniforme des tissus de beaucoup d'Algues, telles que les Tremelles et de divers Champignons, dont il faut peut-être séparer celle qui existe entre les faisceaux de thèques de diverses espèces de ces plantes.

Ces dernières se voient sur les coupes de Tremelles, etc., entre les cellules des touffes ou plaques formées par diverses Palmellées, entre les paraphyses de diverses algues, etc., sous l'aspect d'une substance hyaline, grenue ou non, tenant à la fois séparés et réunis les éléments figurés qu'elles accompagnent.

La matière intercellulaire des plantes ligneuses se voit bien sur la coupe du bois des conifères ; traitée par l'acide nitrique et chauffée quelques instants, elle jaunit comme la cuticule dont elle a les réactions. Comme celle-ci, elle résiste à l'action de l'acide sulfurique concentré, qui, en dissolvant la cellulose des cellules, permet de faire disparaître ces dernières et de laisser la substance cellulaire seule ou à peu près. (Voy. aussi p. 454.)

889. De la *cuticule*. L'épiderme des plantes est recouvert d'une pellicule d'une minceur extrême qui s'étend comme un vernis sans discontinuité, de la surface libre d'une cellule à celle de l'autre ; elle recouvre également les poils et les autres dépendances de l'épiderme. On l'appelle aussi *cuticule vraie*.

On l'observe facilement sur les coupes des feuilles coriace, sur celle des branches des plantes à écorces lisses, etc.

L'origine de la cuticule se lie intimement à l'épaississement des cellules. C'est le côté externe libre des cellules superficielles qui produit cette cuticule. La membrane qui constitue la paroi externe de ce côté est simple dans le principe, homogène, et bleuit même quelquefois sous l'influence de l'iode et de l'acide sulfurique. Un peu plus tard, cette membrane se dédouble en deux couches parallèles, d'égale