

## Imagerie non linéaire de second harmonique appliquée à la caractérisation de tissus végétaux

Étienne BELIN<sup>1</sup>, Denis GINDRE<sup>2</sup>, Didier DEMILLY<sup>3</sup>, François CHAPEAU-BLONDEAU<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoire Angevin de Recherche en Ingénierie des Systèmes (LARIS), Université d'Angers, 62 avenue Notre Dame du Lac, 49000 Angers, France.*

<sup>2</sup> *Université d'Angers, CNRS UMR 6200, Laboratoire MOLTECH-Anjou, 2 bld Lavoisier, 49000 Angers, France.*

<sup>3</sup> *GEVES, Station Nationale d'Essais de Semences (SNES), 25 rue Georges Morel, 49071 Beaucozézé, France.*

[etienne.belin@univ-angers.fr](mailto:etienne.belin@univ-angers.fr)

L'imagerie non linéaire de génération de second harmonique (SHG) exploite la réponse optique spécifique de certains milieux qui en absorbant deux photons de basse fréquence peuvent émettre un photon de fréquence double [1]. Un constituant d'intérêt essentiel présentant une réponse SHG significative est le collagène fibrillaire, et c'est lui qui a fait l'objet des principales applications de l'imagerie SHG en biologie [2-3]. Comme le chloroplaste [4], l'amidon est un constituant essentiel en biologie végétale peu étudié en microscopie multi-photonique alors qu'il est aussi un « harmonophore » naturel qui permet d'obtenir de très bons contrastes en microscopie SHG. Nous présentons ici une première application de l'imagerie SHG sur des semences végétales où le contenu en amidon et sa caractérisation présentent un intérêt important. Une semence contient typiquement deux organes essentiels : un embryon qui, en se développant, donne naissance à la plante adulte par division cellulaire, et une réserve d'amidon qui assure les premières ressources énergétiques nécessaires au développement de cette plante. Cette constitution de la semence conditionne ainsi, à un stade primitif, tout le pronostic de la croissance. La Fig. 1 montre une image SHG obtenue par microscopie non linéaire à balayage en réflexion sur une semence de betterave sucrière (a). Le contrôle de la polarisation du rayonnement incident permet d'accéder à la localisation et l'orientation cristalline dans les grains d'amidon [5] contenus dans la semence, à différentes échelles (b). Nous présenterons de façon plus étendue de telles images et leur analyse.

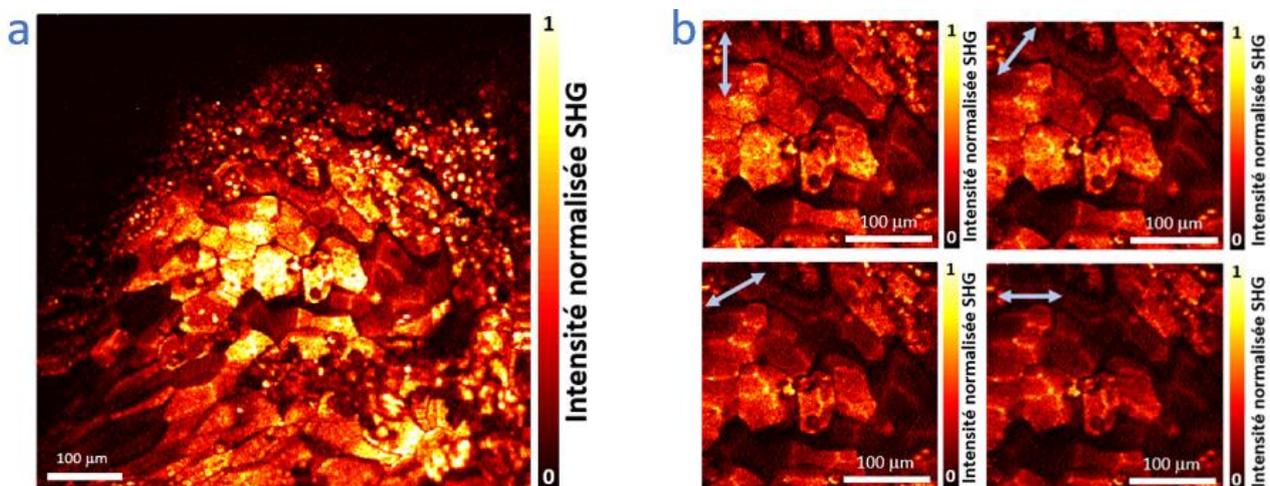


Figure 1 : (a) Image SHG en réflexion d'une semence de betterave sucrière sectionnée. (b) Évolution du contraste SHG en fonction de la polarisation du laser (schématisée par les flèches en haut à gauche de chaque image).

- [1] P. J. Campagnola, L. M. Loew, "Second-harmonic imaging microscopy for visualizing biomolecular arrays in cells, tissues and organisms", *Nature Biotechnology*, vol. 21, pp. 1356–1360, 2003.
- [2] R. M. Williams, W. R. Zipfel, W. W. Webb, "Interpreting second-harmonic generation images of collagen I fibrils", *Biophysical Journal*, vol. 88, pp. 1377-1386, 2005.
- [3] J. M. Lemée, A. Clavreul, S. Rakotoarimalala, D. Gindre, P. Menei, "Analysis of glioblastoma's peritumoral brain zone using biphotonic microscopy", *Neuro Oncology*, vol. 16, pp. ii82–ii83, 2014.
- [4] A. H. Reshak, C. R. Sheue, "Second harmonic generation imaging of the deep shade plant *Selaginella erythropus* using multifunctional two-photon laser scanning microscopy", *Journal of Microscopy*, vol. 248, pp. 234–244, 2012.
- [5] G. Cox, N. Moreno, J. Feijo, "Second-harmonic imaging of plant polysaccharides", *Journal of Biomedical Optics*, vol. 10, pp. 024013-0240136, 2005.

Ce travail a bénéficié d'une aide de l'État gérée par l'Agence Nationale de la Recherche au titre du programme « Investissements d'Avenir » sous la référence ANR-11-BTBR-0007 (programme AKER). ■