## Fiche technique n° 24

# Préparations définitives de pollens de référence.

**Marcel Lecomte**

Sur la fiche technique n° 23, figure la phrase suivante :
« *Suite à l'information transmise par un ami, modérateur d'un forum de microscopie, nous nous sommes dirigé vers la méthode de WODEHOUSE (1935), qui nous paraît la plus simple, et que nous avons un peu adaptée à nos préférences, car nous n'aimons pas la glycérine gélatinée qui implique de devoir chauffer les lames*. »

Nous avons été amené à revoir notre position, car le heureux (ou malheureux) hasard a fait que nous avons beaucoup expérimenté sur des grains de pollen prélevés sur la rose trémière (*Altea rosea*).
Une conclusion trop hâtive, nous avait amené à déclarer que l'usage de l'alcool à 95° pour déshydrater les préparations était sans incidence sur les grains ; si c'est le cas effectivement pour la plante mentionnée ci-dessus (et nombre d'autres d'ailleurs), nous avons eu grand tort d'élever ce principe en règle générale.
Chez certaines plantes, le sporoderme du grain de pollen est mince et souple et peut se déformer considérablement sous l'effet de la dessication, comme chez le maïs (*Zea mays*) par exemple.

Il faut savoir qu'un grain de pollen présente 2 parties essentielles :
+++ une partie centrale vivante, qui renferme les éléments sexuels mâles destinés à la reproduction ;
+++ une membrane complexe dont l'ensemble constitue le sporoderme, qui est lui-même composé de 2 couches :
+ l'intine, qui ne survit pas au contenu cellulaire ;
+ l'exine, qui est un des matériaux les plus résistants du monde organique (elle résiste aux agents corrosifs) et qui se compose de deux couches superposées : l'endextine et l'extectine. Cette enveloppe doit sa remarquable capacité de conservation à une substance singulière : la sporopolénine.

Par obligation (puisque eau et Baume du Canada ne font pas bon ménage), nous avons donc dû nous tourner vers la glycérine gélatinée, comme milieu de montage !
Un rapide bricolage nous a permis de récupérer la plaque chauffante d'une ancienne cafetière électrique et nous voici paré pour explorer d'autres horizons.

## Modus operandi :

+++ récolter le pollen ;
+++ le réunir en petit tas au centre de la LPO ;
+++ déposer délicatement une goutte d'éthanol à 95° sur le tas de pollen ; nous répétons 2x l'opération afin de bien dégraisser le sporoderme (vérifier au microscope si l'ornementation est bien visible, car pour certains pollens -passiflore p.ex.-, il est nécessaire de dégraisser jusqu'à 5 fois) ;
+++ nettoyer les précipités ou cristaux formés à l'extérieur de la goutte (sous forme d'auréole) ;
+++ déposer délicatement une goutte de colorant (voir liste ci-dessous) et laisser agir durant 2 à 5 minutes ;
+++ rincer la préparation à l'eau (afin d'éliminer le surplus de colorant) ;
+++ poser la LPO sur une plaque chauffante à 40°C ;
+++ poser une certaine quantité de gélatine glycérinée solide (nous la conservons dans un flacon à large ouverture, ce qui permet de la prélever facilement). On peut en trouver chez les spécialistes sous le nom de « Gélatine de Keiser » ;

+++ ne pas laisser bouillonner : dès que la goutte s'étale, retirer de la source de chaleur, afin d'éviter la formation de bulles ;
+++ poser la LCO avec les précautions d'usage, afin d'éviter au maximum les bulles d'air, car dans ce cas, elles ne disparaitront pas ;
+++ luter au vernis à ongles transparent ;
+++ poser la (les) étiquette(s) d'identification et les vernir également.

Nous qualifierons cette préparation de semi définitive, car elle risque de se conserver nettement moins longtemps qu'avec le Baume du Canada utilisé comme milieu de montage. Cependant, si vous avez pris la peine d'incorporer quelques gouttes de phénol lors de la préparation de la glycérine gélatinée, vous aurez éliminé une des sources de problèmes (pollution éventuelle par des algues ou des moisissures). La seconde étant le dessèchement, auquel on remédie en soignant particulièrement le lutage de la préparation.

**Les colorants à utiliser :**
Après plusieurs centaines d'essais de colorations, notre préférence va aux suivants, dans le cas de ce milieu de montage particulier :

+++ la Safranine formolée de Sémichon ;
+++ le Vert de Méthyle ;
+++ l'Eosine aqueuse à 2 %.

Nous n'avons pas repris les détails des tours de main qui figurent sur la fiche technique n°23 ; nous vous engageons à la relire à titre de rappel.