Zeitschrift: Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Herausgeber: Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Band: 7 (1941-1943)
Heft: 2

Artikel: Étude critique des colorations en histologie végétale
Autor: Kraft, Marie-Madeleine
Kapitel: X: Méthode spéciale de coloration des grains de pollen
DOI: https://doi.org/10.5169/seals-287465

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: 02.07.2025

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

CHAPITRE X : **Méthode spéciale de coloration des grains de pollen.**

Introduction. — La question du pollen est à l'ordre du jour. Depuis quelques années, on s'intéresse au pollen fossile, qui permet de reconstituer l'histoire postglaciaire des forêts. D'autre part, les apiculteurs étudient aussi la question, la présence ou l'absence du pollen de certaines espèces végétales permettant d'indiquer approximativement la provenance des miels et de déceler la falsification des miels du pays par des miels étrangers.

Une méthode de préparation du pollen, pour établir une collection des formes-types usuelles, présente un intérêt évident. « In erster Linie muss man eine möglichst vollständige Sammlung der heimischen Pollenarten in bequemer und dauerhafter Aufmachung nach einheitlicher Behandlung anlegen, um bei der Durchmusterung der mikroskopischen Honigbilder jederzeit Vergleichspräparate zur Hand zu haben » (ZANDER, *loc. cit.*, p. 17).

Une telle méthode a été décrite par ZANDER (*ibid.*) avec montage à la glycérine gélatinée. La lecture de quelques travaux traitant du sujet fait ressortir la grande difficulté de détermination des pollens due principalement aux états différents des grains examinés (pollen sec, pollen frais, pollen ramolli soit artificiellement, soit par séjour dans les miels).

Dans les miels, les grains de pollen se trouvent à l'état de gonflement, de turgescence maximum, semblable à l'état frais dans certaines conditions; mais différant complètement, à première vue, des grains recueillis sur la plante, séchés, puis examinés. Par exemple, certaines microphotos de pollen « *en grains de café* » nous montrent des formes de pollen sec qu'on ne rencontre jamais dans les miels (exemple: *Acer platanoides*).

Nous avons essayé plusieurs méthodes de ramollissement et de gonflement, pour amener les grains de pollen, séchés totalement ou partiellement, à un état le plus voisin possible de celui où ils se trouvent dans les miels.

De telles collections présentent un réel avantage sur les dessins, même les mieux étudiés, dont l'image est presque toujours une interprétation plus ou moins fidèle, faite de la superposition de différents plans. Ces préparations valent mieux aussi que des photographies, qui ne permettent de voir le grain que dans un seul plan, alors qu'il faut toujours

changer la mise au point du microscope pour se rendre compte non seulement du contour général du grain, mais de son volume.

Notons que les grains traités par ces méthodes, la deuxième surtout, sont très réfringents. En effet, le baume du Canada est plus réfringent que la glycérine gélatinée; il évite le lutage des préparations, et conserve une bonne transparence. Cette réfringence exige une grande attention de la part de l'observateur, et un diaphragme minimum au microscope. Pour éviter ces inconvénients, et permettre une observation plus agréable, nous avons essayé de colorer les grains; les résultats obtenus ont été satisfaisants.

Les préparations ainsi faites permettent un dénombrement facile des grains, et une détermination aisée du contour cellulaire. Le dessin est donc facilité par cette méthode, qui permet aussi d'obtenir de très bonnes microphotographies.

Voici les deux méthodes qui nous ont donné de bons résultats:

Traitement préalable (pour les deux méthodes):

Placer quelques grains de pollen sur une lame; noter au microscope la couleur des grains (souvent caractéristique déterminante), et la forme du grain dans son état actuel (frais ou sec).

Si le pollen n'est pas sec, il se trouve souvent aggloméré; le chauffer quelques minutes à la plaque chauffante pour détacher les grains. (Ne pas essayer de vider à l'hypochlorite; les grains y perdent leur turgescence et leur forme originale, et ne restent qu'à l'état de squelette.) Coller les grains sur lame à l'albumine d'œuf (couche très mince d'albumine étalée avec une baguette de verre sur une lame très propre, et qui doit présenter le phénomène des lames minces: anneaux de Newton). Répartir les grains de pollen avec un pinceau, ou même les étaler en les remuant avec une baguette de verre, pour les placer dans toutes les positions désirables. S'il s'agit de pollen de Conifères, où chaque grain est muni de deux ballonnets, cette deuxième méthode est préférable. Chauffer la lame à la plaque chauffante à 70° environ. L'albumine se coagule à la chaleur, emprisonnant les grains.

Dégraisser [1] alors les grains par trois lavages successifs à l'alcool à 95° sur la lame chaude. Evaporer l'excès d'alcool sur la plaque chauffante.

Méthode 1:

Ramollir sur lame *au liquide glycériné* [2]. Laver à l'eau distillée. Colorer sur lame (1 à 2 gouttes de colorant). Laver 3 fois à l'alcool à 95°, en éloignant l'alcool avec des bandes de papier filtre.

[1] Sans ce traitement, la coloration prend mal, sauf s'il s'agit de colorants spécifiques des lipoïdes, l'exine étant formée de cutine.

[2] Le liquide glycériné est un mélange en parties égales d'eau distillée, d'alcool à 95° et de glycérine pure.

Achever l'évaporation à la plaque chauffante. Monter au baume du Canada, en recouvrant d'une lamelle carrée ou rectangulaire.

Méthode 2:

Ramollir sur lame au *chloralphénol d'Amann* [1]. Le chloralphénol ramollit, gonfle, fixe et déshydrate le pollen de façon remarquable. Même sans aucune coloration, on obtient des détails très nets de la structure, par montage direct au baume sur le chloralphénol.

L'éclaircissement est meilleur que dans la méthode précédente, mais il se produit quelquefois une cristallisation du phénol en aiguilles roses en présence de certains colorants, ou si le réactif a été mal préparé.

Pour la coloration, ajouter sur lame, après ramollissement, une goutte de chloralphénol et une goutte de colorant. Laver à l'eau courante. Laver trois fois à l'alcool à 95°. Evaporer et monter au baume.

Voici la liste des colorants ayant donné de bons résultats pour le pollen [2]:

Bleu de méthylène.
Brun Bismarck.
Chrysoïdine.
Fuchsine cristallisée, anilinée ou phéniquée.
Rouge neutre.
Safranine.
Soudan III.
Vert d'iode.
Vert malachite.
Violet de gentiane aniliné ou phéniqué.
Violets Dahlia, de méthyle.

cela sur une quarantaine de colorants essayés.

Cas particulier des Conifères: Chaque grain de pollen est, ici, muni de deux ballonnets qui, souvent au cours du traitement, restent gonflés d'air. Pour éliminer de la préparation ces bulles, gênantes à l'observation microscopique, on ajoutera, après évaporation à sec de l'alcool, une goutte de chloralphénol, et on chauffera légèrement sur la plaque chauffante pendant 3 à 5 minutes, avant de monter au baume.

[1] Le chloralphénol est un mélange de 2 gr. d'hydrate de chloral et de 1 gr. d'acide phénique, liquéfié à douce chaleur (B. M.) et conservé en flacon brun à pipette.

Le chlorallactophénol préconisé par LANGERON (*loc. cit.*, p. 1151) pour le matériel desséché, a donné pour le pollen, des résultats moins bons que le chloralphénol, probablement parce qu'il n'est pas miscible avec le baume du Canada. AMANN dit lui-même, en parlant de l'emploi de ce réactif: «Da das Chlorallactophenol nicht ohne weiteres mit Balsam mischbar ist, müssen die damit behandelten Präparate, die in letzteres Medium eingeschlossen werden sollen, erst mit Chloralphenol entwässert werden» (cit. *Zeitschrift für wiss. Mikr.*, XVI, 1899, p. 40).

[2] Plus les colorants sont dilués, plus les détails de structure des grains apparaissent avec netteté. Il en est de même si l'on utilise la méthode de coloration régressive. Il faudra, dans ce cas, surveiller l'action du différenciateur, et arrêter à temps la différenciation.

Méthode appliquée au miel:

Il est généralement inutile de faire des préparations permanentes de miel. Elles peuvent cependant présenter un certain intérêt dans des cas spéciaux [1].

Rappelons que, dans le miel, les grains de pollen sont toujours un peu gonflés. Le collage à l'albumine, dans la plupart des cas, n'est plus nécessaire, le sucre se chargeant d'emprisonner les grains.

La meilleure méthode de préparation nous paraît être la suivante:

1 à 2 cc. de miel sont agités dans une éprouvette avec 10 à 15 cc. d'eau distillée. Le sirop ainsi obtenu est centrifugé pendant 10 minutes environ. On décante et, au moyen d'une pipette, on recueille le culot dont une goutte est déposée sur une lame chauffée à la plaque chauffante pour évaporer l'excès de liquide [2].

On traite sur lame 3 fois à l'alcool à 95° pour dégraisser les grains. On évapore à sec, et on colore sur lame par une ou deux gouttes de colorant. On lave à l'eau distillée, puis encore 3 fois à l'alcool. Après évaporation à sec, on monte au baume.

N. B. — Les méthodes 1 et 2 ont aussi été appliquées avec succès aux spores des Cryptogames vasculaires et des Mousses (Equisetales, Filicales, Sphagnales, etc.).

Bibliographie:

L. Ambruster et G. Oenike, Die Pollenformen, Bücherei f. Bienenkunde, Band X, Neumünster, 1929.

Biological Abstracts 1937, n° 7775, Coloration du pollen.

A. Daufresnes, *loc. cit.*, p. 566.

V. Jentys Szafer, Structure des membranes du pollen, *Bull. Acad. Polonaise*, Cracovie, 1928.

Langeron, *loc. cit.*, p. 606 et 1151 (chloralphénol).

L. Mangin, Observations sur le développement du pollen, et Observations sur le grain de pollen mûr, XXXVI. *Bull. Soc. Bot. France*, 1889.

Zander, Beiträge zur Herkunftsbestimmung bei Honig, 1 et 2, Berlin, 1935, et Leipzig, 1937.

CHAPITRE XI : **Méthode spéciale de coloration des mousses.**

A propos de la lignine (p. 128), nous avons déjà parlé de la question des mousses. Il existe de très nombreuses opinions à ce sujet. F. Chodat et R. Cortesi, dans leur travail « Sur la coloration des membranes des mousses », disent ceci:

[1] Pour l'apiculteur, par exemple, collection comparative des récoltes des abeilles d'une même ruche suivant les années.

[2] Si le nombre de grains a une importance, on ne devra évidemment comparer que des préparations ayant un même nombre de gouttes ! !