

**FICHE
TECHNIQUE**
EXTRAIRE DES GRAINS DE POLLENS


Matériel : Extraits de tourbe – Centrifugeuse, tubes à centrifuger, étuve – Tamis de filtration 125 μm – Bécher de 50 ml, cristalliseur – Bec Bunsen – Piluliers, compte-gouttes – Lames et lamelles – Papier pH, marqueur indélébile – Eau distillée, potasse (KOH) à 10% – Glycérine gélatinée de Kaiser – fuschine basique, alcool GANTS **+ BLOUSE OBLIGATOIRES !**

1 - Réalisation des extraits de tourbe	2 - Préparation des culots de centrifugation
<ul style="list-style-type: none"> - prélever un échantillon de tourbe de 2 cm³ environ - placer l'échantillon dans un petit bécher avec 8 cm³ de potasse à 10% et agiter - porter ensuite à ébullition douce pendant 8 à 10 minutes au maximum. 	<ul style="list-style-type: none"> - filtrer le contenu du bécher sur tamis (125 μm) au-dessus d'un cristalliseur - recupérer le filtrat et le répartir dans les tubes à centrifuger (\approx 3mL par tube) - centrifuger 10 minutes à 2000 tours en équilibrant bien la centrifugeuse - vider le surnageant des tubes après centrifugation - laver soigneusement les culots à l'eau distillée chaude - centrifuger à nouveau et relaver si nécessaire jusqu'à obtention d'une suspension de pH 7 (contrôle au papier pH)
3 - Réalisation du milieu de conservation des pollens	4 - Réalisation des préparations microscopiques
<ul style="list-style-type: none"> - verser le culot de la dernière centrifugation dans un pilulier avec un peu d'eau distillée - noter le niveau maximum atteint à l'aide d'un trait au marqueur indélébile - placer à l'étuve à 60 °C, le temps de réchauffer la solution - ajouter de la glycérine gélatinée de Kaiser colorée préalablement à la fuschine basique (ou glycérol coloré à la fuschine basique à 0,1 %) et liquéfiée à l'étuve jusqu'à atteindre une hauteur de niveau double du trait de marqueur - laisser évaporer l'eau des piluliers ouverts à l'étuve jusqu'à redescendre au trait marqué initialement (parfois 12h sous surveillance attentive) - sortir alors les piluliers - laisser refroidir et coller une étiquette avec les informations adéquates <p><i>NB : Préparer le milieu de conservation en ajoutant très peu de fuschine basique dans le flacon contenant la glycérine gélatinée de Kaiser (préparation du commerce). Si la déshydratation est correcte, la conservation atteint facilement 20 à 30 ans !</i></p>	<p>Le pilulier est préalablement passé à l'étuve à 60° pour liquéfier le milieu de conservation des pollens.</p> <ul style="list-style-type: none"> - prélever un peu de culot gélatiné au compte-gouttes dans le pilulier - déposer une goutte de ce milieu gélatiné sur une lame - bien étaier et recouvrir d'une lamelle (appuyer sur la lamelle si nécessaire) - nettoyer la préparation à l'alcool si nécessaire <p><i>NB : Les lames se conservent longtemps, posées à plat et lutées avec un vernis à ongles transparent et ne jaunissant pas.</i></p>

D'après un protocole aimablement communiqué par l'Atelier Scientifique POLLENS du lycée des Feuillants de Poitiers