



# Kit pois Culture in vitro

13181

NOTICE



Retrouvez  
l'ensemble  
de nos gammes sur :  
[www.pierron.fr](http://www.pierron.fr)

 **PIERRON**  
ÉQUIPEMENT PÉDAGOGIQUE SCIENTIFIQUE

**PIERRON - ASCO & CELDA** • CS 80609 • 57206 SARREGUEMINES Cedex • France

Tél. : 03 87 95 14 77 • Fax : 03 87 98 45 91

E-mail : [education-france@pierron.fr](mailto:education-france@pierron.fr)

Les hormones végétales interviennent de façon importante dans les processus biologiques qui règlent la croissance et le développement des végétaux. Plusieurs méthodes chimiques et biologiques ont été mises au point pour les doser. Les méthodes biologiques sont plus sensibles que les méthodes chimiques.

Une méthode biologique couramment utilisée est le « test pois ».

## Principe général

Si on fend longitudinalement certains organes jeunes (épicotyles, pédoncules floraux ...), les deux moitiés se courbent vers l'extérieur. Les cellules de la région médullaire qui étaient comprimées dans l'organe intact s'allongent brusquement au moment de l'incision. Celles de l'épiderme qui étaient sous tension diminuent au contraire de longueur.

Plongées dans l'eau pure ou dans une solution tampon, par suite du retard de croissance qui affecte les cellules de l'épiderme, les deux moitiés restent écartées l'une de l'autre et la courbure de chaque segment a toujours lieu vers l'extérieur.

En présence d'auxine, il y a stimulation préférentielle des cellules de l'épiderme et de celles des tissus corticaux externes, ainsi les deux moitiés se courbent l'une vers l'autre. Dans ce cas, l'angle de courbure peut servir de mesure d'activité.

Par cette méthode, il est également possible de tester l'efficacité de différentes hormones de synthèse.

Le kit doit être conservé à 4°C.

Il permet de faire travailler 10 binômes.

## Matériel nécessaire



- Plantules étiolées de *Pisum sativum* âgées de 6 jours
- 7 boîtes de Petri par groupe
- Éprouvettes
- Pipettes
- Alcool
- Eau distillée
- Papier millimétré
- Rapporteur
- Lames de rasoir

## Germination des graines de pois

Laver les graines sous un filet d'eau. Les déposer sur du coton. Les laisser 6 jours à l'obscurité, les jeunes plantules ont alors une taille comprise entre 6 à 8 cm.

## Préparation des solutions d'auxine

- Ouvrir le tube de tampon phosphate.
- Verser le contenu dans un récipient et ajouter 2,1 l d'eau distillée stérile
- Agiter : on obtient la solution tampon
- Ouvrir le tube contenant l'auxine
- Verser le contenu dans un récipient
- Ajouter 5 ml d'alcool pour dissoudre l'hormone : l'hormone est fixée sur un substrat qui ne se dissout pas mais qui n'aura aucune incidence sur la manipulation
- Ajouter 395 ml de tampon
- Agiter : on obtient la solution mère d'auxine à 2,5 mg/l (**solution n°1**)

## 1 - Matériel et produits nécessaires par groupe

### Matériel :

- 2 bocaux pour la désinfection
- Un verre pour placer les instruments dans l'alcool
- Un scalpel ou une paire de ciseaux
- Un pince
- Une boîte de Petri stérile ou une soucoupe stérile
- Un bec Bunsen ou une lampe à alcool

### Solutions :

- Liquide vaisselle
- Alcool à brûler
- Eau de Javel de type « Javel plus » diluée selon les conseils du fabricant
- 4 bocaux d'eau distillée stérile

### Plante :

- 3 plantules d'œillet

## 2 - Préparation du plan de travail

Avant de manipuler, se laver soigneusement les mains et les avant-bras au savon. Nettoyez le plan de travail avec de l'eau de javel.



Placez au centre le bec Bunsen ou la lampe à alcool. Placez sur la droite (pour un droitier) un verre contenant de l'alcool dans lequel seront placés les instruments. Devant le bec Bunsen, placez une boîte de Petri ou une soucoupe stérile dans laquelle sera découpée la plante. Sur la gauche du bec Bunsen, placez le flacon contenant le milieu de culture. Derrière le bec Bunsen, placez les bocaux servant à la désinfection.

À partir de cette solution mère, effectuer une série de dilutions pour obtenir des solutions à 0,5 mg/l, 0,25 mg/l,  $0,25 \times 10^{-1}$  mg/l,  $0,25 \times 10^{-2}$  mg/l et  $0,25 \times 10^{-3}$  mg/l.

- 1) Prélever 60 ml de la solution n°1 et ajouter 240 ml de la solution tampon : on obtient la solution à 0,5 mg/l (**solution n°2**)
- 2) Prélever 33 ml de la solution n°1 et ajouter 297 ml de la solution tampon : on obtient la solution à 0,25 mg/l (**solution n°3**)
- 3) Prélever 33 ml de la solution n°3 et ajouter 297 ml de la solution tampon : on obtient la solution à  $0,25 \times 10^{-1}$  mg/l (**solution n°4**)
- 4) Prélever 33 ml de la solution n°4 et ajouter 297 ml de la solution tampon : on obtient la solution à  $0,25 \times 10^{-2}$  mg/l (**solution n°5**)
- 5) Prélever 30 ml de la solution n° 5 et ajouter 270 ml de la solution tampon : on obtient la solution à  $0,25 \times 10^{-3}$  mg/l (**solution n°6**)

## Manipulations

- Dans les boîtes de Petri, verser 30 ml des différentes solutions
- Préparer également un lot de boîtes témoin ne contenant que du tampon
- Dans chaque boîte, déposer 5 fragments épicotylaires de pois préparés de la manière suivante :

\* à l'aide d'une lame de rasoir, sectionner transversalement la jeune tige de pois sous la première feuille d'une part et au ras du coton d'autre part. Déposer ce fragment sur une feuille de papier millimétré et pratiquer une section transversale à 5 cm de la première section apicale. Pratiquer une section longitudinale sur 4 cm et passant par le milieu de la tige (éliminer les fragments non symétriques) (cf schéma).

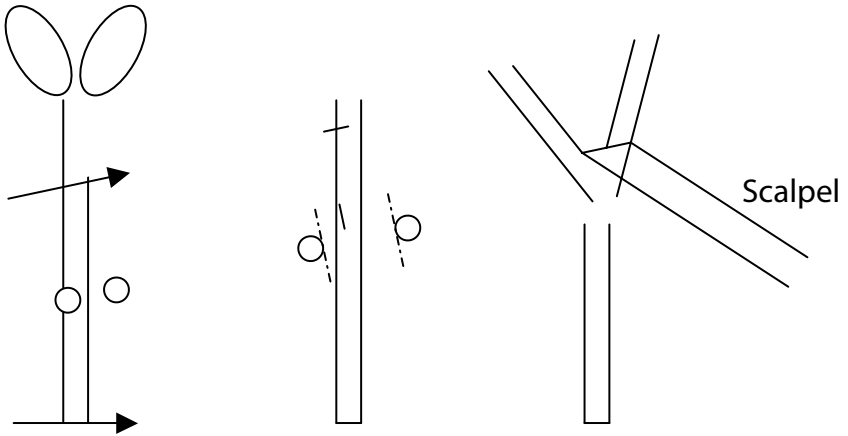
\* Refermer chaque boîte de Petri et laisser la réaction se développer à température ambiante pendant 6 à 24 heures

## Résultats

- Mesurer le zéro expérimental sur les lots témoins
- Mesurer l'angle de courbure provoqué par chacune des solutions
- Tracer le graphique du degré de courbure en fonction de la concentration en auxine (et par rapport au zéro expérimental)

On observe que l'angle de courbure dépend de la concentration en auxine et qu'il existe une concentration optimum.

## Préparation des plants





Aucun entretien particulier n'est nécessaire au fonctionnement du produit.

Les matériels livrés par PIERRON - ASCO & CELDA sont garantis, à compter de leur livraison, contre tous défauts ou vices cachés du matériel vendu. Cette garantie est valable pour une durée de 2 ans après livraison et se limite à la réparation ou au remplacement du matériel défectueux. La garantie ne pourra être accordée en cas d'avarie résultant d'une utilisation incorrecte du matériel.