



Kit saint paulia Culture in vitro

13671

NOTICE



Retrouvez
l'ensemble
de nos gammes sur :
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

La multiplication végétative in vitro du saint paulia est un exemple remarquable du phénomène de différenciation cellulaire caractéristique du monde végétal.

Partant d'un fragment de feuille saine, on peut obtenir des milliers de plantes identiques à la plante mère et ceci dans un temps très court et indépendamment des saisons.

Obtenir une telle multiplication de plantes à partir d'un fragment de feuille serait impossible avec les techniques classiques de multiplication des végétaux (bouturage en terre...) : la contamination par les bactéries du sol, les champignons et la nécrose détruiraient le fragment.

En revanche, dans des conditions aseptiques, on maîtrise complètement la multiplication de la plante et on peut faire varier les conditions physiques (lumière, température...), la composition chimique du milieu et l'action des phytohormones.

C'est l'exemple d'une biotechnologie.

Principe général

Une feuille de saint paulia est désinfectée, rincée à l'eau déminéralisée stérile, découpée avec un scalpel (ou des ciseaux) et déposée sur le milieu de multiplication SP1.

Après environ 4 à 6 semaines, sous l'effet des phytohormones, on voit apparaître un grand nombre de microfeuilles de quelques millimètres. À ce stade, on peut diviser cette touffe en plusieurs petits plants et les remultiplier en les repiquant sur le milieu SP1 (micropropagation). Cette opération peut être répétée plusieurs fois.

Après la phase de multiplication, on peut diviser la touffe et repiquer les petites plantules sur le milieu d'enracinement SP2.

6 à 8 semaines plus tard, les plantules enracinées peuvent être transférées en serre pour la phase d'acclimatation.

Le kit peut être conservé à température ambiante.

Il permet de faire travailler 6 binômes.

1 - Matériel et produits nécessaires

- Une marmite à pression ou un autoclave
- Éprouvettes pour mesurer l'eau
- Erlenmeyer ou ballon ... pour faire fondre le milieu de culture
- 6 bocaux pour la désinfection des pousses
- Flacons pour répartir les milieux
- Bec Bunsen
- Pincés
- Scalpels ou ciseaux
- Soucoupes stériles ou boîtes de Petri stériles
- Eau distillée ou déminéralisée
- Eau de Javel
- Alcool à brûler

2 - Préparation du milieu de culture

Verser la poudre dans un récipient et ajouter 250 ml d'eau distillée. Faire fondre le milieu dans un bain-marie bouillant ou au four à micro-ondes. Quand le milieu est totalement fondu, il est limpide. **Il est très important que le milieu soit entièrement fondu avant de le stériliser.**

Répartir le milieu dans les pots qui serviront pour la culture. Fermer les pots.

Si vous stérilisez à l'aide d'une marmite à pression, placer environ 2 litres d'eau au fond de la marmite et poser les flacons dans le panier. Stériliser 30 min à partir du sifflement de la soupape en maintenant la pression au maximum ou à l'autoclave (25 mn à 115°C ou 20 min à 120°C).

À la fin du temps de stérilisation, laisser refroidir sans enlever la soupape (ce qui ferait sauter les bouchons).

Sortir les flacons encore chauds et les poser afin qu'ils puissent refroidir et se solidifier (prévoir environ 3 heures).

Prévoir également de stériliser l'eau distillée servant à la désinfection de la plante (4 bocaux par groupe). Le temps de stérilisation peut dans ce cas être un peu plus long.

Avec l'eau, vous pouvez également stériliser les instruments (pincés, scalpels, ciseaux ...) après les avoir enveloppés dans du papier aluminium.

3 - Matériel et produits nécessaires par groupe

Matériel :

- 2 bocal pour la désinfection
- Un verre pour placer les instruments dans l'alcool
- Un scalpel ou une paire de ciseaux
- Une 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 diluée selon les conseils du fabricant
- 4 bocal d'eau distillée stérile

Plante :

- un plant de saint paulia

4 - Préparation du plan de travail

Avant de manipuler, se laver soigneusement les mains et les avant-bras au savon.

Nettoyer le plan de travail avec de l'eau de javel. Placer au centre le bec Bunsen.

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

5 - Désinfection de la plante

Prélever une feuille mature, c'est à dire située à la périphérie de la plante. La rincer à l'eau du robinet. La placer 5 min dans un mouillant composé d'une goutte de liquide vaisselle dans de l'eau. Désinfecter ensuite par passage de 12 min dans l'eau de javel.

La feuille étant désinfectée, les étapes suivantes doivent être réalisées en milieu stérile avec du matériel stérile. Pour stériliser les instruments, les placer dans l'alcool puis les flamber rapidement afin d'éliminer l'alcool. Répéter cette opération 2 à 3 fois avant chaque utilisation. Rincer la feuille par 4 bain de 5 min chacun dans l'eau distillée stérile.

Attention : pendant la manipulation, ne jamais toucher l'extrémité des instruments ou la plante avec les mains, ne pas parler, ne pas faire de courants d'air, bien fermer portes et fenêtres.

Dans la boîte de Petri ou la soucoupe stérile, couper selon la taille de la feuille entre 1 et 6 carrés d'environ 1 cm de côté, de préférence à la base de la feuille. Ces carrés sont appelés explants.

Ouvrir un pot de milieu SP1 à côté du bec Bunsen.

Placer un explant dans le pot, face inférieure de la feuille en contact avec le milieu de culture. Flamber l'encolure du pot et le reboucher.

Placer les pots à la lumière du jour en évitant l'ensoleillement direct (qui risquerait de brûler la plante). L'hiver, en période de jours courts, vous pouvez éclairer les pots matin et soir avec des lampes de type lumière du jour.

Multiplication des vitroplants

Cette étape est facultative.

Au bout de 4 à 6 semaines, on voit de nombreuses touffes de saint paulia à la surface de l'explant.

Ces touffes peuvent être divisées et chaque plantule isolée peut être repiquée sur le milieu SP1 pour obtenir une nouvelle multiplication.

Pour effectuer cette étape, poser la touffe sur une soucoupe ou une boîte de Petri stérile sur le plan de travail servant pour la manipulation et à l'aide d'un scalpel stérile, la diviser.

Repiquer les plantules obtenues sur un milieu SP1.

Passage sur milieu d'enracinement

Quand les plants se sont suffisamment multipliés, repiquer chaque plantule obtenue sur le milieu SP2.

1 - Matériel nécessaire

- Bec Bunsen ou lampe à alcool
- Scalpel
- Pince
- Boîte de Petri ou soucoupe stérile

2 - Préparation du milieu SP2

Procéder comme pour le milieu SP1.

3 - Manipulations

Placer le pot de milieu SP1 près de la flamme du bec Bunsen ou de la lampe à alcool près du plan de travail préparé comme indiqué auparavant.

Flamber l'encolure du pot de milieu SP1 et sortir délicatement la touffe avec la pince stérile et la poser dans la boîte de Petri stérile.

Isoler des plantules à l'aide du scalpel et les repiquer sur le milieu d'enracinement SP2.

Flamber l'encolure du pot et refermer.

4 - Évolution

Les plantules se développent et les racines se forment. Quand les racines se sont développées, au bout d'environ 6 semaines, elles peuvent être transférées en pots sous serre.

Transfert en serre

Stériliser du terreau pour repiquage de jeunes plants en procédant comme pour l'eau distillée. Placer ce terreau dans des petits pots.

Prélever les plantules à partir des pots de milieu SP2 en faisant attention à ne pas casser les racines. Éliminer la gélose qui adhère aux racines en les trempant dans de l'eau.

Repiquer les plantules enracinées dans les petits pots. Bien arroser.

Placer les pots dans une mini-serre.

Au bout d'environ 15 jours, on peut commencer à entrouvrir progressivement la mini-serre afin d'acclimater la plante à une atmosphère plus sèche. Lorsque le plant de saint paulia paraît suffisamment vigoureux, on peut le sortir de la serre.

JOUR J-1 : Préparation des milieux et du matériel

JOUR J : Mise en culture sur le milieu SP1

JOUR J + 6 semaines : Repiquage sur le milieu SP2
OU multiplication sur le milieu SP1

JOUR J + 12 semaines : Transfert en serre

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.