

**LA CULTURE IN VITRO
DU SAINTPAULIA**

Elsa Orfeuille, académie de Grenoble

- Place de cette activité dans le programme de Terminale spécialité
- Objectif et principe de la CIV du Saintpaulia
- Résumé de la manipulation
- Protocole de la CIV du Saintpaulia
- Quelques photographies
- Variante de l'activité: orienter l'organogenèse de la plante
- Compléments

→ Diapo 3

→ Diapo 4

→ Diapo 5

→ Diapo 6

→ Diapo 7

→ Diapo 8

→ Diapo 9

DANS LE PROGRAMME DE TERMINALE SPECIALITE

Partie du programme	Origine des géotypes des individus/conservation des génomes	Reproduction de la plante	Organisation fonctionnelle des plantes à fleurs
Capacités	Comprendre la notion de clone à partir de divers exemples notamment tirés de l'agriculture	Etudier la régénération de petits fragments tissulaires	Réaliser des expériences sur l'action de l'auxine dans la croissance
Connaissances	La plante obtenue par CIV est un clone de la plante initiale.	La reproduction asexuée repose sur la totipotence des cellules végétales et les capacités de croissance des plantes, à partir de presque n'importe quelle partie du végétal (tige/racines/feuille)	Le développement d'une plante est contrôlé par des hormones végétales et influencés par les conditions du milieu

- **Objectif:** montrer qu'à partir d'un fragment de tissu végétal (ici fragment de feuille de Saint Paulia), on peut régénérer une plante entière.

- **Totipotence des cellules végétales:**

Les cellules végétales sont dites totipotentes c'est à dire qu'elles sont capables de se différencier. Ainsi cultivées in vitro dans des conditions contrôlées, elles sont capables de régénérer une plante entière identique à la plante mère (un clone).

- **Principe:** Une feuille de St Paulia est désinfectée, rincée, découpée. Les fragments de cette feuille ou explants sont déposés sur un milieu de multiplication (SP1*) contenant notamment des phytohormones. Après 4 à 6 semaines apparaissent de petites feuilles.

On peut alors diviser cet amas de petites feuilles et repiquer les plantules sur un 2^{ème} milieu dit d'enracinement (SP2*). 6 à 8 semaines plus tard, les plantules enracinées peuvent être transférées dans de petits pots.

Pour éviter lors de ces 2 phases la contamination et le développement de micro-organismes étrangers présents dans l'air, il convient de manipuler en conditions stériles.

* voir dans les ressources

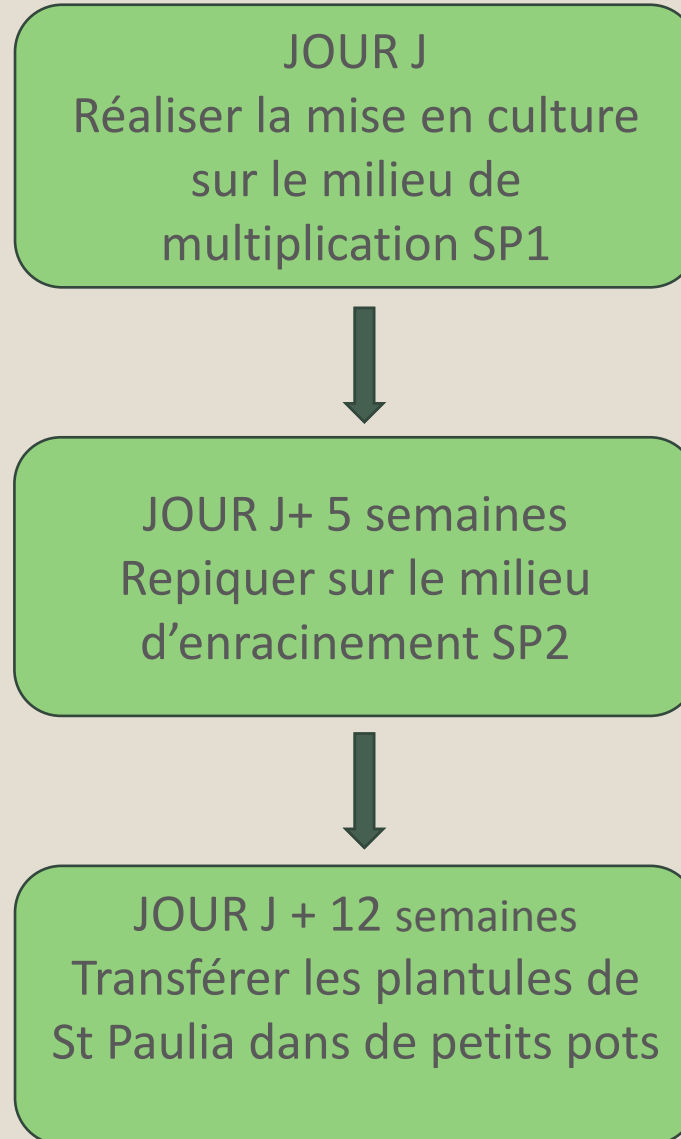
SAINTPAULIA OU VIOLETTE DU CAP OU VIOLETTE AFRICAINE

Saintpaulia ionantha



<https://www.flickr.com/photos/carllewis/2832421084>

RESUME DE LA MANIPULATION



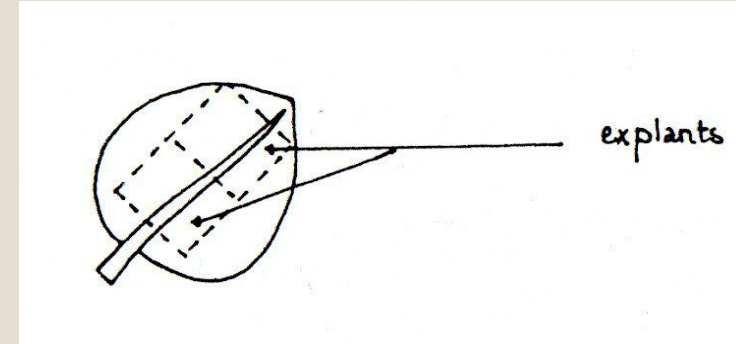
PROTOCOLE DE LA CIV DU SAINTPAULIA (JOUR J)

Désinfecter la feuille à cultiver

1. Prélever à l'aide de ciseaux une feuille complète (pétiole+limbe) sur la plante mère.
2. Rincer la feuille à l'eau pour enlever terre et poussières.
3. Désinfecter:
 - *pour faciliter la pénétration du désinfectant, plonger la feuille 5 minutes dans un agent mouillant (1 goutte de liquide vaisselle dans de l'eau stérile)
 - *plonger la feuille 10 minutes dans de l'eau de javel (ou eau de javel diluée plus longtemps suivant les protocoles)

Mettre en culture en conditions stériles (plan de travail désinfecté à l'eau de Javel):

1. Tous les instruments auront été désinfectés en amont. Pour cela, faire tremper dans l'eau de Javel, sur les trois-quarts de leur longueur, les instruments pendant dix minutes et les placer sur le plan de travail en les couvrant de papier imbibé d'eau de Javel.
2. Allumer le bec électrique et à partir de cet instant, manipuler en conditions stériles: ne pas parler, travailler près du bec électrique, éviter les déplacements.
3. Sortir la feuille de l'eau de javel avec une pince.
4. Effectuer 3 à 4 rinçages successifs de 2 minutes chacun dans des flacons d'eau déminéralisée stérile.
5. Placer la feuille dans une boîte de Pétri stérile.
6. Découper avec le scalpel stérile 2 carrés de tissus foliaires (1 cm de côté chacun). Ce sont les explants.



7. Dans la zone stérile, ouvrir le flacon de culture, enlever le coton cardé (poser le bouchon et le coton dans la zone stérile)
8. Placer les explants à la surface de la gélose (face inférieure légèrement enfoncée dans la gélose).
9. Refermer le flacon
10. Déposer le flacon dans une armoire de culture in vitro dans les conditions optimales de lumière (environ 16h de lumière/24h) et de température (20-22°C).



QUELQUES PHOTOGRAPHIES

Explant de Saintpaulia (feuille) sur un milieu SP1 (début)



<https://clivia.fr/>



Saintpaulia sur un milieu SP1, au bout de 2 mois



<http://ateliersciencesvt.free.fr/>

Saintpaulia après culture sur SP2 et transfert



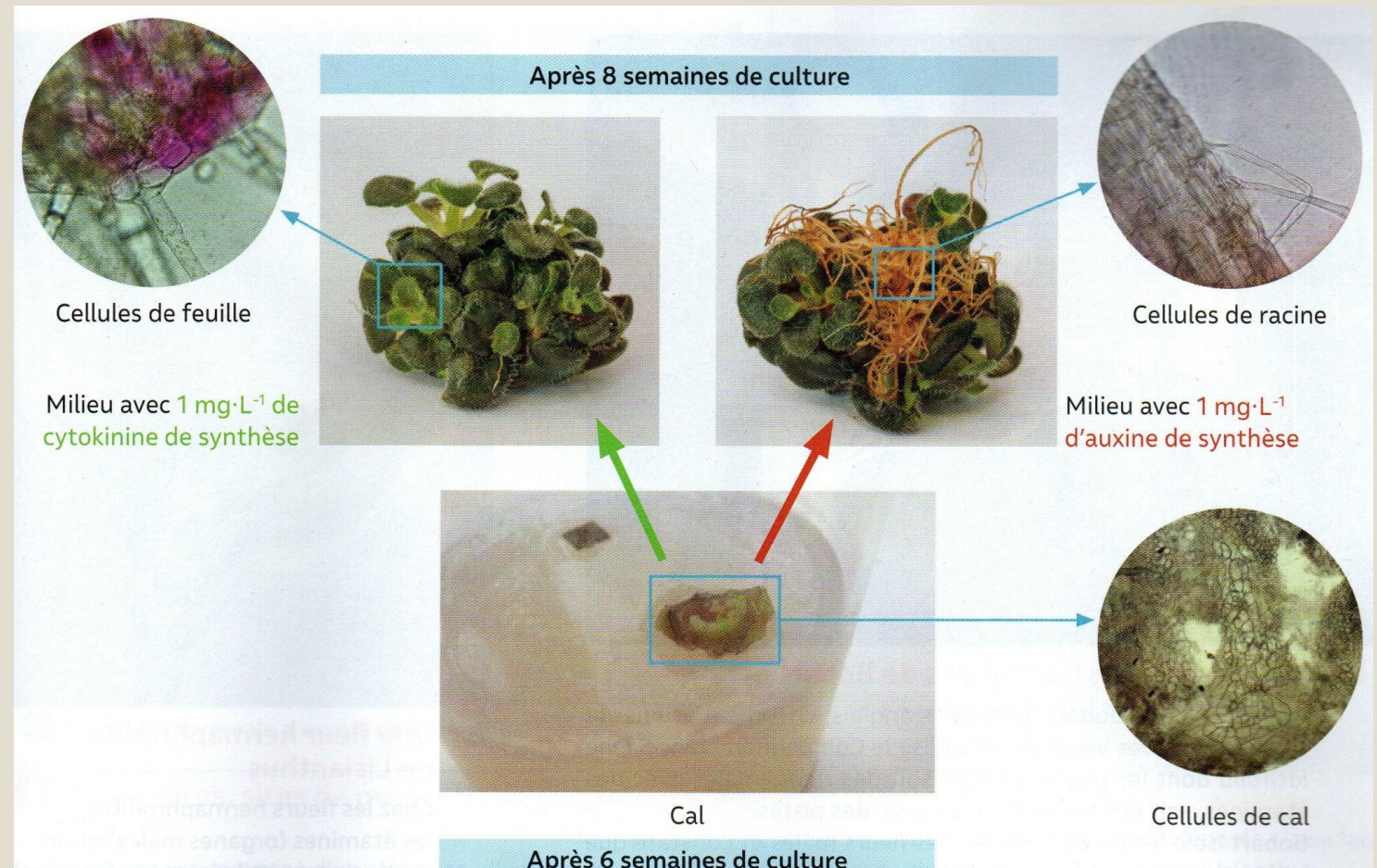
http://sciences-lycee-valentinelabbe.fr/index.php?option=com_phocagallery&view=category&id=2:biovegetale

VARIANTE DE L'ACTIVITE: ORIENTER L'ORGANOGENÈSE DE LA PLANTE

L'organogenèse de la plante est contrôlée par le rapport des concentrations en phytohormones, cytokine et auxine. En culture in vitro, il est possible d'orienter l'organogenèse en jouant sur la balance hormonale.

- [auxine] > [cytokine] alors la formation des racines est stimulée.
- [auxine] < [cytokine] alors la formation des tiges est stimulée.

https://www.cnrs.fr/cnrs-images/sciencesdelavieaulyce/org_vegetal/contrôle_morpho.htm



Les cellules d'un cal sont indifférenciées (totipotence des cellules végétales). Le milieu de culture, notamment sa composition en hormones végétales, détermine leur avenir

COMPLÉMENTS

* La même séance peut être réalisée avec la **carotte**, la **pomme de terre**, etc.