## Kit Saint-Paulia



Réf. STPAULIA, modifiée le 09/06/23

#### **A RECEPTION DU COLIS:**

☑ **Vérifier la composition** du colis indiquée ci-dessous

☑ Stocker les articles du colis dans les bonnes conditions :

Placer les bouteilles à 4°C

Conservation: 1 mois à 4 °C

Notice technique et pédagogique disponible sur notre site.

☑ Avant toute manipulation, étudier la fiche sécurité

#### **COMPOSITION**

#### **MILIEUX:**

- 400 ml de milieu SP1 = milieu de multiplication végétative 0,2 mg/L d'auxines + 0,2 mg/L de cytokinines
- 400 ml de milieu SP2 = milieu de développement et d'enracinement (sans facteur de croissance) Les milieux sont fournis en bouteilles de 200 ml en version préstérilisée à couler.

#### Matériel nécessaire :

Plants de Saint-Paulia

#### **OPTIONS:**

50 tubes de culture stériles en polypropylène autoclavable

#### **CONDITIONS DE STERILITE LORS DES MANIPULATIONS**

- nettoyage de la paillasse à l'alcool ou à l'eau de javel
- travail dans un rayon de 30 cm autour de la flamme d'un bec bunsen

La flamme d'un bec bunsen permet de créer un cône de stérilité d'une trentaine de centimètre de diamètre quand celle-ci mesure 7 à 10cm de haut.

Le bec bunsen doit être placé au milieu de la paillasse et toutes les manipulations réalisées à proximité.

- mains passées à l'alcool jusqu'au poignets et entre les doigts, port d'une blouse en coton
- instruments et milieux stérilisés ouverts et utilisés autour de la flamme
- ne pas poser le matériel sur la paillasse ni toucher le col des tubes ou la partie du matériel qui sera en contact avec le matériel végétal, les milieux ou les solutions
- éviter les mouvements brusques, ne pas parler devant des boîtes ouvertes
- Les instruments sont régulièrement stérilisés à l'alcool et à la flamme au cours de la manipulation, il est important de les laisser refroidir avant de manipuler.
- pot avec alcool pour stériliser le matériel

couvercle pour priver le feu d'oxygène au cas où l'alcool s'enflammait. Ce réflexe doit être appris aux élèves avant toute manipulation!

\*

**NB**: une technique pratique permet de distribuer le matériel aux élèves tout en conservant sa stérilité : il suffit de stériliser une dizaine de serviettes en papier (type essuie-main) enveloppées dans une feuille de papier aluminium = champ stérile. Fournir à chaque binôme un champ stérile, ainsi il suffit de glisser le matériel entre les deux premières serviettes (première épaisseur) et il reste stérile. De plus chaque binôme disposera de 10 serviettes donc au fur et à mesure de la manipulation, les élèves auront la possibilité de se servir de plusieurs épaisseurs pour poser leur matériel.

#### **PRINCIPE**

### 1) PLANNING

## La veille du TP ou quelques jours avant :

Préparer les milieux ainsi que tout le nécessaire à la manipulation en conditions stériles.

#### Le jour du TP:

Mise en culture sur SP1.

# Kit Saint-Paulia



Réf. STPAULIA, modifiée le 09/06/23

#### 3 à 6 semaines plus tard :

Obtention d'une touffe de feuilles.

Préparation du milieu SP2.

Mise en culture des touffes de feuilles sur SP1 neuf pour micropropagation et sur SP2 pour enracinement.

#### 3 à 6 semaines plus tard :

Mettre les plants en culture en serre.

#### 2) PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE

Faire chauffer les bouteilles de milieu au bain-marie bouillant (eau jusqu'au col de la bouteille) jusqu'à totale dissolution (30 à 60 minutes). Penser à dévisser légèrement le bouchon pour éviter l'explosion. Laisser légèrement refroidir, puis verser le milieu dans les tubes (de préférence avec une pipette stérile). Ne pas visser les bouchons à fond, laisser refroidir le milieu jusqu'à la solidification puis visser les bouchons à fond.

**Attention**: Les auxines et cytokinines sont des produits thermolabiles, il ne faut surtout pas chauffer trop fort les milieux. Surveiller les milieux pour éviter l'ébullition.

Les milieux doivent être coulés devant la flamme d'un bec bunsen.

Ne pas couler les milieux plus de quatre jours avant le TP pour conserver au mieux les facteurs de croissance.

#### 3) MANIPULATION

Il est possible de mettre en culture feuille ou pétiole de Saint-Paulia, nous vous conseillons de travailler sur la feuille.

#### a) Désinfection des feuilles de Saint-Paulia

Les feuilles débarrassées de leur pétiole seront successivement passées dans des bains de désinfection :

- 1 goutte de liquide vaisselle dans 200 ml d'eau stérile : 5 minutes
- Alcool à 70°: 20 secondes
- Dosmestos dilué à 20% ou gel javel dilué à 20 %: 15 minutes
- 3 bains d'eau stérile successifs de 5 minutes

### b) Ensemencement d'explants de feuilles

A l'aide de scalpels et de pinces stériles, découper des explants de feuilles de Saint-Paulia désinfectées d'un centimètre de côté (si possible proche de la base de la feuille).

Transférer ces explants sur milieu SP1 face inférieure de la feuille contre le milieu.

Mettre en culture à 20-22°C avec un cycle de lumière classique.

#### c) Passage sur milieu SP2 ou SP1 neuf

Une fois que les touffes de microfeuilles sont apparues (3 à 6 semaines après l'ensemencement), prélever le tout avec une pince stérile et diviser les touffes avec un scalpel stériles.

Ensemencer sur SP2 pour l'enracinement.

Ensemencer sur SP1 neuf pour la micropropagation

## d) Transfert en serre

6 semaines après le passage sur SP2, les racines sont apparues et les feuilles se sont développées.

Prélever la plantule à l'aide d'une pince forte. Cette opération est délicate, il ne faut pas endommager la plante car le passage en terre entraînerait une nécrose des tissus endommagés.

Débarrasser la plantule de la gélose restant sur les racines.

Couper l'extrémité des racines et les faire tremper dans un mélange d'eau et de terreau.

Mettre la plante en terre dans un pot contenant 50% de tourbe et 50% de terreau nutritif bien humide.

Recouvrir d'une demi-bouteille en plastique. Placer à une température d'environ 20°C et en lumière indirecte, vaporiser de temps en temps avec de l'eau déminéralisée. Puis au bout de 10 à 15 jours ouvrir le bouchon, une semaine à 10 jours plus tard enlever la demi-bouteille pour effectuer une acclimatation. On pourra par la suite mettre les plants dans des pots à l'air libre.