



CLIVIA

ACTION DES PHYTOHORMONES TEST HYPOCOTYLE DE LAITUE

L'allongement de l'hypocotyle de laitue est inhibée par la lumière.

Il existe une concentration optimale à laquelle l'acide gibbérellique lève cette inhibition . Une forte concentration en acide gibbérellique est par contre toxique.

Cette manipulation illustre ce phénomène.

La relation existant entre la quantité d'acide gibbérellique et la longueur de l'hypocotyle peut aussi permettre le dosage biologique des gibbérellines à partir d'un extrait végétal (par exemple à partir de culture de *Fusarium moniliforme*, champignon parasite produisant de la gibbérelline).

PRINCIPE GENERAL

A partir d'une solution mère d'acide gibbérellique, on effectue des dilutions successives et on place des germinations étiolées de laitue en présence de ces différentes solutions. On observe alors l'effet de cette substance sur la germination des graines et on en déduit la quantité optimale nécessaire pour lever l'inhibition de la germination par la lumière.

MATERIEL NECESSAIRE

- 8 boîtes de Petri par série
- éprouvettes ou fioles jaugées
- pipettes
- papier filtre ou papier buvard
- eau distillée

PROTOCOLE

1 Germination des graines :

Semer des graines de laitue à l'obscurité et à une température proche de 25 °C dans des boîtes de Petri contenant 3 disques de papier filtre ou un de papier buvard imbibé de 6 ml d'eau distillée.

Au bout de 3 jours, sélectionner les graines ayant une radicule comprise entre 6 et 8 mm.

2 Préparation de la solution mère :

- ouvrir le tube d'acide gibbérellique
- verser le contenu dans un récipient d'un volume de 100 ml
- ajouter 5 ml d'alcool pour dissoudre l'acide gibbérellique. Cette substance est fixée sur un support inerte insoluble. Quand on ajoute l'alcool, l'acide gibbérellique se dissout mais pas ce support. Sa présence n'aura aucune incidence sur la manipulation.
- compléter qsp 100 ml à l'aide d'eau distillée. On obtient une solution à 100 mg/l.

3 Préparation des dilutions :

Effectuer une série de dilutions afin d'obtenir des solutions à 10 mg/l, 5 mg/l, 2 mg/l, 1 mg/l et 0.1 mg/l de la façon suivante :

- prélever 20 ml de la solution mère et ajouter 180 ml d'eau distillée : on obtient une solution à 10 mg/l

- prélever 50 ml de la solution à 10 mg/l et ajouter 50 ml d'eau distillée : on obtient une solution à 5 mg/l
- prélever 20 ml de la solution à 10 mg/l et ajouter 80 ml d'eau distillée : on obtient une solution à 2 mg/l
- prélever 20 ml de la solution à 10 mg/l et ajouter 180 ml d'eau distillée : on obtient une solution à 1 mg/l
- prélever 10 ml de la solution à 1 mg/l et ajouter 90 ml d'eau distillée : on obtient une solution à 0.1 mg/l.

4 Mise en culture :

Dans les boîtes de Petri, déposer 3 disques de papier filtre ou de papier buvard et imbiber avec 6 ml de solution de gibbérelline.

Repiquer environ 5 germinations par boîte de Petri.

Fermer les boîtes avec une bande de film plastique étirable ou de parafilm.

Placer les boîtes à la lumière.

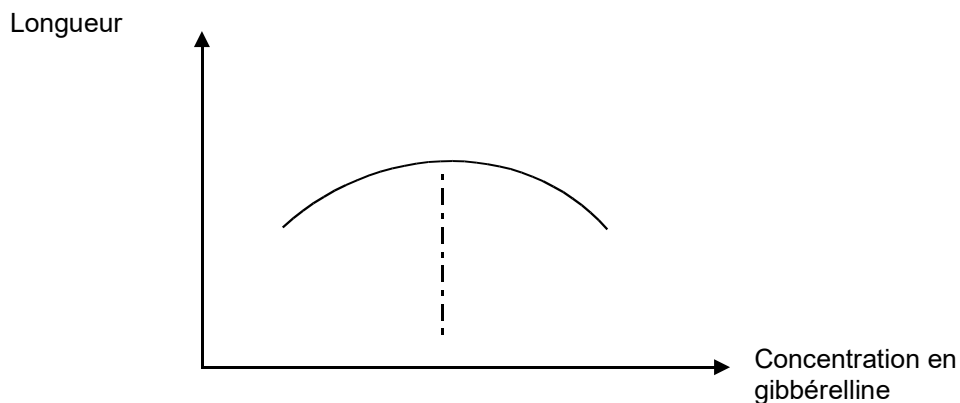
Préparer également 2 boîtes témoin contenant uniquement de l'eau distillée et en placer une à la lumière et une à l'obscurité.

RESULTATS ET INTERPRETATION

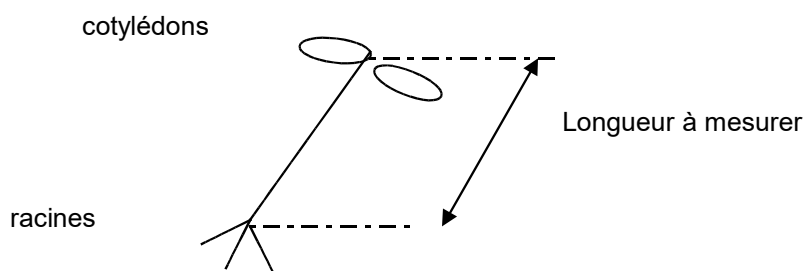
Au bout de 7 jours, mesurer la longueur des hypocotyles en fonction de la concentration en gibbérelline.

On obtient une courbe en cloche. A partir de cette courbe on peut en déduire la quantité de gibbérelline optimum nécessaire à la levée d'inhibition de la germination des hypocotyles.

On note également qu'une concentration de 100 mg/l est toxique pour la laitue.



LONGUEUR DES HYPOCOTYLES EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN GIBBERELLINE



HYPOCOTYLE DE LAITUE