



CLIVIA

CULTURE *in vitro* DU ROSIER

La reproduction sexuée résulte de la fécondation entre le pollen (organe mâle) d'une fleur et l'ovule (organe femelle) d'une autre fleur. Par la reproduction sexuée, on obtient des graines. Ces graines, en germant, redonnent un plant présentant soit les caractères du père, soit ceux de la mère, soit toute une série de caractères intermédiaires, voire même des nouveaux caractères.

Ainsi, lorsqu'un horticulteur veut reproduire des plants ayant été sélectionnés selon différents critères, ce mode de reproduction n'est pas possible du fait de la variabilité des caractères obtenus.

La reproduction du rosier a donc suivie d'autres modalités. En particulier, le bouturage et le greffage qui sont des modes de reproduction végétative permettent de reproduire des individus identiques à celui de départ.

Cependant, contrairement à certaines plantes qui se bouturent sans problème, le rosier présente dans ce cas des individus moins robustes. Il est donc indispensable de greffer les rosiers sur des plants présentant un système racinaire vigoureux : c'est le cas de l'églantier. Un écusson de rosier est alors greffé sur un plant d'églantier et lorsque le rosier commence à pousser (environ 8 mois plus tard), on coupe le porte-greffe à 5 mm au dessus de l'écusson. La plante greffée aura la vigueur du porte-greffe et la beauté de la variété ayant offert le greffon.

Cette technique a été longtemps utilisée mais aujourd'hui, la culture *in vitro* a révolutionné la culture du rosier par les nombreux avantages qu'elle procure.

Ainsi lorsqu'il fallait près de 3 ans de culture sur des surfaces de plus de 12 hectares (pour les portes greffes et les rosiers) et ce, à partir de 30 000 rosiers, il est possible d'obtenir en 10 mois, seulement sur ½ hectare et à partir de 2 rosiers, la même quantité de plants (400 000 pour cet exemple). De plus les rosiers obtenus n'ont pas besoin d'être greffés.

Ces nombreux avantages ont contribué au développement de ce type de culture par les grands producteurs de rosiers.

PRINCIPE GENERAL

Dans ce TP, on part d'une touffe de rosier provenant d'une culture *in vitro* et on isole des plantules que l'on repique sur un milieu de multiplication R1. Quand la touffe s'est reformée, on peut soit remultiplier la plante, soit repiquer les plantules isolées sur un milieu d'enracinement R2. Les plants enracinés peuvent être transférés en terre dans une mini-serre pour la phase d'acclimatation.

PREPARATION DU MATERIEL ET DES MILIEUX

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
- flacons pour répartir les milieux
- un bec Bunsen ou une lampe à alcool
- pinces
- scalpels ou ciseaux
- soucoupes stériles ou boîtes de Petri stériles
- alcool à brûler

2 Préparation du milieu :

Verser la poudre dans un récipient et ajouter la quantité d'eau distillée correspondant au volume de la dose.

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 flacons qui serviront pour la culture.

Fermer les flacons.

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 mn à partir du sifflement de la soupape en maintenant la pression au maximum ou à l'autoclave (25 mn à 115°C ou 20 mn à 120°C).

A 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 en position verticale afin qu'ils puissent refroidir et se solidifier (prévoir environ 3 heures).

Avec les milieux de culture, vous pouvez également stériliser les instruments (pinces, scalpels, ciseaux ...) après les avoir enveloppés dans du papier aluminium.

MISE EN CULTURE

1 Matériel et produits nécessaires par groupe :

Matériel :

- 1 verre pour placer les instruments dans l'alcool
- 1 scalpel
- 1 pince
- 1 boîte de Petri stérile ou 1 soucoupe stérile
- 1 bec Bunsen ou 1 lampe à alcool

Solutions :

- alcool à brûler

Plante :

- un plant de rosier pour environ 3 groupes

2 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 ou la lampe à alcool.

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.



A l'aide de la pince stérile, repiquer chaque plantule sur le milieu de multiplication R1 (comme si on repiquait une plante en terre).

Flamber l'encolure du flacon et le reboucher.

Placer les flacons 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 flacons matin et soir avec des lampes de type lumière du jour.

4 Repiquage sur le milieu d'enracinement R2 :

Procéder exactement comme pour la première étape mais dans ce cas, les plantules isolées sont repiquées sur le milieu d'enracinement R2.

TRANSFERT EN TERRE

Quand les racines se sont bien développées, les rosiers peuvent être transférés en serre et le travail en conditions stériles n'est plus nécessaire.

Stériliser du terreau pour repiquage de jeunes plants à la marmite à pression en procédant comme pour les milieux de culture.

Placer ce terreau dans des petits pots et y repiquer les mûriers (bien rincer les racines avant afin d'éliminer toute trace de gélose).

Bien arroser.

Placer ces pots dans une mini-serre et la maintenir fermée une quinzaine de jours.

Au bout de ces 15 jours, vous pouvez entrouvrir progressivement la serre afin d'habituer la plante à passer d'une atmosphère humide à une atmosphère plus sèche.

PLANNING DE LA MANIPULATION

