

CHAPITRE 5- LA CULTURE IN VITRO

Définition :

C'est la culture d'explants de plantes sur un milieu nutritif artificiel, en conditions stériles, dans un environnement contrôlé et dans un espace réduit.

Les explants peuvent être des parties d'organes ou des organes entiers (tige, feuille, racine, fleur), des tissus, des pièces florales, des graines, des embryons, des bourgeons, des apex, des méristèmes, des cellules sexuelles, des cellules végétales sans parois ou sans protoplastes.

L'explant est choisi en fonction de la technique utilisée, de l'objectif visé, et de l'espèce sur laquelle on travaille.

Conditions générales de la culture in vitro :

Le Milieu de culture :

Il y a trois types de milieux :

Milieu d'activation, milieu de multiplication, et milieu d'enracinement.

Tous ces milieux sont constitués de sels minéraux, substrats organiques, extraits naturels (lait de coco, jus de fruits...).

Les macro-éléments : N ; P, K, S, Mg, Ca.

Les micro-éléments : Bo, Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Mo, Al, I, Fe.

*La lumière :

Elle n'est pas nécessaire pour la photosynthèse puisque l'énergie est fournie par les glucides du milieu, mais elle est indispensable pour le déclenchement et le déroulement des autres processus. Par exemple, l'apparition des boutons floraux nécessite des jours longs.

La température :

Elle est régulée à 20-25°C en continu.

*L'humidité :

Elle doit être de 100% dans les flacons.

***La stérilité :**

Les manipulations doivent se faire dans des conditions d'asepsie : le matériel doit être passé à l'alcool ou flambé, et les plantes doivent désinfectées à la javel puis rincées à l'eau distillée avant l'extraction de l'explant.

Croissance des végétaux :

***La multiplication :**

La croissance des plantes se fait en plusieurs étapes qui passent d'une graine à une plante. Il faut une prolifération des cellules par mitose qui se fait au niveau des méristèmes. Les méristèmes correspondent à la zone de prolifération cellulaire, il y a deux types :

Les méristèmes primaires : apex des racines, extrémités des tiges, bourgeons apicaux.

Les méristèmes secondaires : ce sont les tissus responsables de l'épaississement.

Après la croissance, il y a différenciation de cellules : les unes serviront à la circulation de la sève (phloème et xylème), d'autres pour la photosynthèse (les feuilles), et d'autres pour la nutrition (les racines).

***Les substances de croissance**

Le développement végétal est régulé par des phytohormones qui ont une action à distance du lieu de production.

Il y a trois types : les gibberellines, les cytokinines et les auxines.

Les différentes méthodes de culture in vitro :

La micropropagation ou la multiplication végétative.

L'embryogénèse ou la culture d'embryons.

L'haplométhode.

La culture de protoplaste.

1-La micropagation ou la multiplication végétative :

C'est la première technique de culture in vitro dans le monde, elle fut développée par Morel et Martin en 1950 sur la pomme de terre.

Elle consiste en une culture de méristèmes. Après multiplication et différenciation des cellules, ces dernières deviennent **tripotentes** et il y aura ensuite la régénération d'une plante entière.

Les étapes de cette méthode sont :

- Mise en culture de l'explant.
- Formation d'un cal (un cal est un amas de cellules).
- Multiplication avec apparition de bourgeons.
- Chaque bourgeon est repiqué sur un milieu de propagation.
- Les bourgeons redonnent des plantes.

Avantages de cette méthode :

- Le taux de multiplication est très élevé.
- La multiplication est possible toute l'année.
- Les plants obtenus sont dépourvus de virus.
- L'obtention de pieds mères.

2-L'embryogénèse ou la culture d'embryons :

Etapes :

- Mise en culture d'un organe et obtention d'un cal.
- Dissociation des cellules du cal en une suspension cellulaire.

Dans certaines conditions spéciales, les cellules redonnent des cals avec méristème caulinaire spécial et un méristème racinaire appelé embryon somatique.

3-L'haplométhode :

Elle consiste à mettre en culture des gamètes males ou femelles pour obtenir une plante à génome haploïde. Ces plantes sont traitées chimiquement pour récupérer la diploïdie, on aura ainsi des plantes homozygotes.

Cette technique est utilisée surtout pour l'amélioration des espèces et des variétés.

4-La culture de protoplaste :

Un protoplaste est une cellule végétale qui a perdu sa paroi, elle est de forme sphérique. Cette technique permet d'introduire facilement de nouveaux gènes dans le génome de la plante.

Avantages de la culture in vitro :

- La production de plants à n'importe quel moment de l'année.
- Le taux de multiplication est élevé par rapport aux techniques traditionnelles.
- L'obtention de plants sélectionnés pour leurs caractères intéressants.
- L'assainissement des végétaux c'est-à-dire l'élimination d virus et bactéries et obtention donc de plants sans virus.
- Le raccourcissement du cycle de développement de la plante.

Inconvénients de la culture in vitro :

- Le cout élevé du plant par rapport à la méthode classique.
- Elle demande une main d'œuvre qualifiée et spécialisée.
- Phénomène de vitrification : apparition de malformations dues à un déséquilibre hormonal.

