

Protocole de TP

Régénérer une plante à partir d'un fragment de feuille

► **Matériel nécessaire :**

- 3 plants de tabac stériles
- 400 ml de milieu minéral (Murashige et Skoog ou MS) + Auxines à 1 mg/L
- 400 ml de milieu minéral (MS) + Auxines à 1 mg/L + Cytokinines à 1 mg/L
- 400 ml de milieu minéral (MS) + Cytokinines à 1 mg/L + Auxines à 0,1 mg/L
- boîtes de Petri stériles
- scalpels stériles, pinces stériles, eau de javel, alcool
- bec bunsen

► **Protocole :**

1. Allumer le bec bunsen et manipuler désormais dans le cône de stérilité.
2. Utiliser une pince stérile (si possible recourbée à l'extrémité) pour déraciner le plant de tabac. Placer le plant de tabac entre deux feuilles d'un champ stérile.
3. A l'aide d'un scalpel stérile, séparer les feuilles de la tige.
4. Découper avec un scalpel stérile des carrés de 0,7 cm à 1 cm de côté dans les feuilles de tabac, la nervure médiane de la feuille doit être au centre de l'explant.
5. À l'aide d'une pince stérile, déposer un explant de tabac par boîte de milieu, à plat et en prenant soin de placer vers le haut la face de la feuille dirigée vers le ciel dans la nature.
6. Placer les boîtes (ou tubes) à la lumière du jour et à température ambiante dans un endroit très propre pendant trois semaines à un mois.