

# Réalisation de la germination in-vitro de grains de pollen de fleurs de pomme de terre

Pour obtenir des fleurs de pomme de terre, il faut bien choisir sa variété. En effet certaines variétés comme la **Binje** ne fleurissent pas. Quant à la **Belle de Fontenay**, elle fleurit rarement. En revanche la **Rosa Bonnotte de Noirmoutier** et la **Hollande de Roscoff** ont des floraisons abondantes. Pour augmenter la floraison, il conviendra d'éliminer au fur et à mesure les tubercules. Pour faciliter cette opération il suffira de poser sous le tubercule initial, une brique ou une dalle de pierre.

## Préparation du milieu de germination par le professeur

Pour **100g** d'eau on ajoute:

**10 g** de **saccharose** (sucre en poudre)

**30 mg** de **nitrate de calcium**

**20 mg** de sulfate de magnésium **MgSO<sub>4</sub>**

**10 mg** de nitrate de potassium **KNO<sub>3</sub>**

**Extrait de pistil de pomme de terre**

**1g d'agar agar** (produit gélifiant)

Ajuster le **pH à 6.2** précisément avec l'acide citrique ou l'acide borique.

**Remarque : il est tout à fait possible d'acheter un milieu de culture prêt à l'emploi.**

## Manipulation à réaliser pour chaque binôme d'élèves

### Préparation du milieu de culture

A l'aide d'un compte-goutte, on prélève quelques gouttes de milieu de culture encore chaud (donc liquide) que l'on dépose dans le creux d'une lame à concavité. Puis on place cette lame dans une boîte de pétri qui doit rester ouverte.

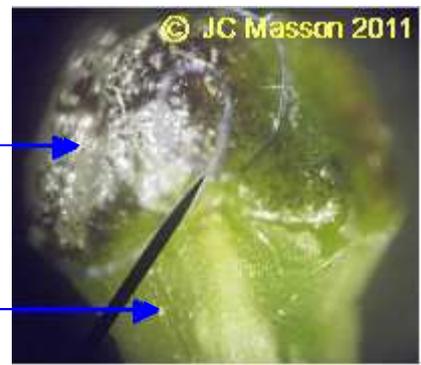


### Dissection des anthères

Pour réaliser cette activité, les **fleurs de pomme de terre doivent être coupées depuis 5 à 8 jours pour que les anthères soient bien déhiscentes.**

Les cinq étamines de la fleur de pomme de terre présentent chacune un filet court inséré sur les pétales et une anthère à deux loges. Les cinq anthères forment un tube autour du pistil. Pour une fleur donnée, la durée de production du pollen et sa réceptivité par le stigmate sont de 48 heures environ. Déposés sur le stigmate (= extrémité du pistil) les grains de pollen germent.





Stigmate d'une fleur de pomme de terre

Grain de pollen

Il conviendra de **choisir les grains de pollen d'au moins trois fleurs** pour s'assurer de la germination d'un lot, chaque anthère et chaque grain n'étant pas au même stade physiologique.

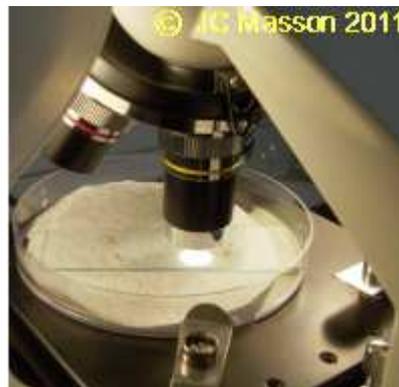
**Sectionnez le filet d'une étamine** avec une pince fine puis **secouez l'anthère** au dessus du milieu de culture de la lame à concavité (éventuellement grattez l'anthère avec une aiguille droite). Recommencez avec deux autres étamines provenant de deux autres fleurs et placez le couvercle de la boîte de pétri.

**Déposez la boîte à l'étuve** réglée entre 26 et 28°C durant 20 minutes.



En attendant le résultat, secouez **une anthère d'étamine** de pomme de terre sur un morceau de feuille de papier millimétré transparent pour une observation à sec (l'eau ferait gonfler les grains de pollen) au microscope optique de manière à observer des grains de pollen non germés.

**Calculez la taille approximative des grains de pollen (1 mm = 1000 µm)**



Pour bien observer les grains de pollen, il conviendra d'utiliser le microscope comme une loupe à savoir avec la source lumineuse au dessus de l'objet

Grain de pollen de pomme de terre sur papier millimétré



**Réalisez un dessin d'observation.**

**Observez** ensuite quelques grains de pollen germés et **réalisez de nouveau un dessin d'observation sur la même feuille que précédemment.**

**Chaque grain de pollen a la faculté d'émettre plusieurs tubes polliniques**

