***Tp 3 La multiplication des explants* –**

1. **La Stérilisation des instruments :**

Tous les instruments métalliques (pinces, pointes, bistouris ...) ou verreries (Béchers, tubes de culture, boîtes de Petris ...) sont enrobés avec du papier aluminium, et sont mis à l‟étuve à une température de 170° à 200° C pendant 2 heures de temps. Au cours des manipulations les instruments métalliques sont plongés dans l‟alcool à 70%, puis passés aux flammes du bec Benzen afin de brûler l‟alcool.

1. **Ensemencement des microboutures :**

Avant de commencer la manipulation, on se lave les mains avec du savon suivi de l‟alcool à 70°. On prépare la hotte par stérilisation et la mise en marche de la ventilation. On prépare tout le nécessaire et on laisse la hotte ou entre 2 bec fonctionner pendant 30 minutes avant de commencer l‟ensemencement des microboutures .

Après la croissance de 15 jours des vitro plant on les prélevé de milieux de culture puis on les coupe directement avec des lame de bistouri stérile en gardant les bourgeons

Le repiquage des explants sur les milieux de culture est effectué à l‟aide de pince stérilisée et prés de la flamme du bec bensen, tout en flambant l‟ouverture du tube avant et après l‟opération sous la hotte ou entre les bec

1. **Incubation des explants :**

**Dans des boites en verre :**

Les conditions environnementales fréquemment utilisées sont 20 à 28° C, sous la lumière fluorescente à raison de 16 heures jour /8 heures nuit pour une intensité utilisée de l‟ordre de 300 lux.

1. **Mesures et notation effectuées:** Les mesures effectuées sont de l‟ordre morphologique, on mesure la taille de la tige, le nombre de feuilles, le nombre de racines, la longueur des racines aussi le taux de contamination;