

Notice de semis / repiquage

Matériel nécessaire :

De l'hypochlorite de calcium

2 flacons de 100 ml mini

Une balance de cuisine

Un entonnoir de cuisine

Des filtres à café

De l'eau de javel

Un pulvérisateur

Une glovebox (Voir notre fiche de construction dans le menu des milieux)

Un ou des tubes à essais avec bouchon de fermeture

Une spatule

Une pipette

De l'eau stérile (Optionnel)

Un scalpel

Une pince à épiler pour le repiquage uniquement.

Temps de préparation :

10 Min pour le matériel.

30 Min pour stériliser la Glovebox.

10-15 Min pour le semis et la finalisation.

Préparation de la solution d'hypochlorite de calcium :



Attention ce produit est corrosif et dégage des vapeurs de chlore, utilisez le avec gants et lunettes de sécurité dans un endroit ventilé

Pesez 5g d'hypochlorite de calcium.

Diluez dans 100ml d'eau (Osmosée ou distillée) en agitant 5-10 min puis laissez décanter, la solution étant saturée, le trouble est normal.

Après 10 min de décantation filtrez la solution sur filtre à café en prenant soin d'entraîner le moins possible de dépôt qui se trouve au fond du flacon.

La solution finale appelée solution mère est utilisable 3-4 heures, pour sa conservation jusqu'à 1 semaine, disposez au réfrigérateur à l'abri de l'air et de la lumière.

Pour la désinfection des graines, utilisez 10ML de solution mère diluée dans 100ML d'eau pour les graines de Phalaenopsis et 20ML pour les autres graines et la désinfection des capsules (« Semis en vert »), cette solution finale doit être préparée juste avant utilisation.

Préparation de la solution de désinfection de la glovebox :



Attention ce produit est corrosif et dégage des vapeurs de chlore, utilisez le avec gants et lunettes de sécurité dans un endroit ventilé

Préparez une solution d'eau de javel diluée à 50% dans l'eau (Attention, toujours verser l'eau de javel dans l'eau et non l'inverse).

Disposez cette solution dans un pulvérisateur.

Préparation de votre matériel pour le semis :

Placez vos graines dans un tube et bouchez celui-ci avec un bouchon fritté ou un bouchon caoutchouc (Autant de tubes que de types de graines à semer, assurez-vous avant de ne pas saturer votre espace de travail, vos mouvements doivent rester libres).

En cas de « Semis en vert », placez votre capsule dans un flacon rempli de solution finale de désinfection et prévoyez un scalpel.

Préparez une spatule pour la récupération des graines dans vos tubes (Vérifiez au préalable que celle-ci est de taille adaptée à la taille de vos tubes).

Préparez une pipette pour l'aspiration de la solution de désinfection des graines ainsi que le flacon de solution finale de désinfection.

Préparez autant de pots de semis que vous l'estimez nécessaire.

Préparez votre pulvérisateur avec la solution de désinfection de la glovebox.

Si vous le souhaitez, vous pouvez ajouter un flacon d'eau stérile afin de rincer vos tubes et d'ajuster la quantité de liquide dans vos flacons.

Préparation de votre glovebox et semis :

Cette étape est primordiale, une bonne disposition de votre espace de travail vous permettra un travail sain et évitera des contaminations, gardez toujours en tête que vos mouvements doivent se limiter au maximum et se faire le moins possible au-dessus de vos flacons de semis ouverts. En cas de doute pour les débutants, n'hésitez pas à faire des simulations au préalable avec des pots vides et de tubes vides afin de trouver l'organisation qui vous convient.

Disposez le couvercle de votre glovebox sur votre espace de travail et recouvrez d'une couche de sopalin.

Pulvérisez ce sopalin avec votre solution de désinfection de la glovebox.

Placez y ensuite votre matériel listé ci-dessus en le pulvérisant de solution de désinfection de la box ainsi que vos flacons et éventuellement l'eau stérile de façon à avoir un maximum de choses aux emplacements dont vous avez besoin.

Placez enfin le pulvérisateur à solution de désinfection de la glovebox ainsi que vos graines.

Retournez alors votre box sur son couvercle de façon à créer une enceinte close.

Introduisez alors vos bras dans les gants et pulvérisez l'ensemble de l'enceinte interne de votre box, laissez ensuite agir 30 Min.

Votre glovebox est maintenant stérile, répétez les opérations suivantes autant de fois que vous avez de boites et de graines.

1. Pour semis en gaine :
 1. Pour chaque tube de graines, retirer le film alimentaire de vos boîtes, ouvrez les et reposez délicatement le couvercle dessus afin qu'elles soient prêtes à accueillir vos graines.
 2. Ouvrez ensuite le tube de graines et, à l'aide de la pipette, introduisez la solution finale de désinfection des graines (Les graines doivent être bien réparties dans la solution).
 3. Laissez alors agir 2 minutes en agitant toutes les 15-30 secondes.
 4. Repérez pendant cette phase si vos graines flottent ou coulent dans le liquide (L'ensemble des phases 3 et 4 ne doit pas excéder 3 min).
 - Si les graines flottent, retournez alors le tube et évacuez le liquide en ouvrant doucement le bouchon, les graines vont progressivement rester collées sur la surface du tube.
 - Si les graines coulent, laissez-les se déposer au fond puis inclinez délicatement le tube ouvert pour évacuer le liquide et récupérer les graines au fond.
2. Pour « Semis en vert » :
 1. Pour chaque flacon de capsule, récupérez la capsule et ouvrez-la avec votre scalpel.
3. Récupérez alors vos graines avec votre spatule et étalez les délicatement sur le milieu, reproduisez l'opération autant de fois que vous souhaitez faire de boîtes de semis.
4. Si vous avez opté pour l'option Eau stérile, vous pouvez rincer vos tubes de graines et ajuster l'eau dans vos boîtes à l'aide d'une pipette (Les graines ne doivent pas nager mais ne doivent pas être « à sec » sur le milieu).
5. Fermez alors vos boîtes hermétiquement dès que votre semis est terminé et passez à la boîte suivante.

Vous pouvez maintenant passer au semis suivant en prenant soin au préalable de rincer votre matériel (Scalpel et spatule) afin de ne pas faire de pollution croisée dans vos semis.

Attention dès que vous devez réintroduire du matériel dans la glovebox, l'opération de stérilisation de celle-ci doit être renouvelée.

Lorsque vos semis sont terminés, placer un film alimentaire sur vos boîtes afin d'en augmenter l'étanchéité.

Repiquage de protocormes et/ou plantules :

Cette opération se déroule comme pour le semis sauf qu'il n'est plus nécessaire de stériliser des graines, vous aurez pris soin d'ajouter une pince à votre matériel afin d'attraper les protocormes et/ou plantules et de les repiquer dans une nouvelle boîte.