

Protocole pour réaliser 1L de milieu de culture Murashige et Skoog (MS) :

****Matériel requis :****

1. Eau distillée
2. Agar-agar : 7 g
3. Sels minéraux (milieu de Murashige et Skoog - MS) : 4,4 g
4. Sucrose : 30 g
5. Vitamines
6. pH-mètre ou papier pH
7. Autoclave ou autoclave à pression pour stérilisation
8. Flacon en verre ou en plastique avec bouchon à vis
9. Cuillères ou spatules pour mesurer les ingrédients

****Étapes du protocole :****

****Étape 1 : Préparation des ingrédients****

1. Mesurez les quantités nécessaires d'agar-agar, de sels minéraux (MS), et de sucrose pour réaliser 1L de milieu de culture.

****Étape 2 : Préparation du milieu de culture****

1. Dans un bécher propre, ajoutez environ 800 mL d'eau distillée.
2. Ajoutez 7 g d'agar-agar, 4,4 g de sels minéraux (MS), et 30 g de sucrose dans l'eau distillée tout en remuant doucement pour bien dissoudre les ingrédients.
3. Ajoutez les vitamines (le cas échéant) dans le mélange et remuez à nouveau pour bien les disperser.

****Étape 3 : Réglage du pH****

1. Utilisez un pH-mètre ou du papier pH pour mesurer le pH du milieu de culture.
2. Si nécessaire, ajustez le pH à la valeur appropriée (généralement autour de 5,5 à 6,5 pour la plupart des plantes) en ajoutant de l'acide ou de la base, comme de l'acide chlorhydrique ou de l'hydroxyde de sodium.

****Étape 4 : Compléter le volume à 1L****

1. Complétez le volume du milieu de culture à 1L en ajoutant de l'eau distillée supplémentaire jusqu'à ce que vous atteigniez le volume souhaité.

****Étape 5 : Stérilisation du milieu de culture****

1. Versez le milieu de culture dans des flacons en verre ou en plastique stériles avec des bouchons à vis.
2. Assurez-vous que les flacons sont bien fermés.
3. Stérilisez le milieu de culture en utilisant un autoclave ou un autoclave à pression à 121 °C et 15 psi pendant environ 15 à 20 minutes.

****Étape 6 : Refroidissement et solidification du milieu de culture****

1. Laissez les flacons refroidir à température ambiante jusqu'à ce que le milieu de culture soit solide en raison de l'agar-agar.

****Étape 7 : Ajout d'auxines et de cytokinines (facultatif)****

1. Si vous voulez stimuler la formation de racines ou de bourgeons sur les explants, vous pouvez ajouter des hormones de croissance comme les auxines (par exemple, l'acide 3-indole acétique (IAA)) et les cytokinines (par exemple, la kinétine). Ajoutez-les au milieu de culture après la stérilisation et avant que le milieu ne se solidifie.