



PROTOCOLO GENERAL DEL LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES (LCTV)

Titulo principal: ASPECTOS BASICOS	Confeccionó:	C. Dalzoto
Sub-titulo: 2. Preparación de medios de Cultivo	Revisó:	C. Billard (2014)
Nº: 2.3. Medio Básico M&S para un litro de solución concentrada x [10]	Publicado	SI NO x WEB x
Año de creación: 2010	Impreso	SI x NO

Medio Básico Murashige – Skoog (M&S) para un 1 L. de solución concentrada x [10]

Para preparar el medio básico M&S con macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y otros complementos se deberá confeccionar previamente las soluciones **A** y **B**, luego los macronutrientes (**C**) hasta confeccionar el litro de medio de cultivo concentrado M&S.

A - Solución con compuestos que complementan a las sales básicas del M&S

Pesar y disolver cada uno de los siguientes compuestos por separado, sin superar los 500 ml de agua destilada, luego en un matraz aforado, agregar 100 ml de agua destilada y cada uno de los compuestos previamente disueltos, enrazar a 500 ml.

(g)	Compuesto	Composición química
5	Myo – inositol	meso-Inositol C ₆ H ₁₂ O ₆
0,025	Ácido nicotínico	C ₆ H ₅ NO ₂ Vitamina B ₃
0,025	Piridoxina HCL	Vitamina B ₆
0,1	Glicina	Aminoácido H ₂ NCH ₂ COOH
0,005	Tiamina HCl	Bitamina B ₁

Ver tabla final del protocolo 25_preparacion de soluciones hormonales

B - Solución micronutrientes

Pesar y disolver cada uno de los siguientes compuestos por separado, sin superar los 1000 ml de agua destilada (enrasar utilizando un matraz aforado).

(g)	Compuesto	Composición química
0,62	Ácido bórico	H ₃ BO ₃
1,69	Sulfato de manganeso monohidratado	MnSO ₄ + H ₂ O
0,68	Sulfato de zinc	ZnSO ₄ + 7H ₂ O
0,083	Ioduro de potasio	IK
0,025	Molibdato de sodio bihidratado	Na ₂ MoO ₄ + 2 H ₂ O
0,0025	Sulfato de cobre	SuSO ₄ + 5H ₂ O
0,0025	Cloruro de cobalto	CoCl ₂ +6H ₂ O

C - Solución de macronutrientes

1) Pesar y disolver cada uno de los siguientes compuestos por separado, utilizando para cada uno 50 ml de agua destilada.

(g)	Compuesto	Composición química
3,7	sulfato de magnesio	MgSO ₄ + 7H ₂ O
4,4	cloruro de calcio	CaCl ₂ + 2 H ₂ O
19	nitrate de potasio	KNO ₃
16,5	nitrate de amonio	NH ₄ NO ₃
1,7	fosfato monopotásico	KN ₄ NO ₃
0,696	sulfato ferroso de hierro	FeSO ₄ + 7H ₂ O
0,931	ácido etilendiamino – tetracético (Sal disódica)	Na ₂ EDTA

- 2) Colocar 100 ml agua destilada en un matraz de 1 L
- 3) Agregar cada uno de los macronutrientes disueltos en agua destilada
- 4) Agregar 100 ml de la solución A.
- 5) Agregar 100 ml de la solución micronutrientes B, agitar para homogeneizar la solución.
- 6) Completar a 1000 ml con agua destilada, controlar que no se precipite ningún componente.
- 7) Fraccionar la solución concentrada, en envases de 50 y 100 ml, conservar a temperatura bajo 0°C (freezer).

Confeccionó: Carlos Dalzotto (13/04/10), reviso y actualizó C.E. Billard setiembre 2014

- **Medio Básico Murashige-Skoog.**

Se colocan en un erlenmeyer la cantidad correspondiente de Soluciones de Macronutrientes y Micronutrientes, de acuerdo al siguiente cuadro:

SOLUCIONES	Cantidad de medio		
	500 ml.	1000 ml.	2000 ml.
MACRONUTRIENTES			
Solución A X100	5 ml	10 ml	20 ml
Solución B X 10	50 ml	100 ml	200 ml
Solución C X 100	5 ml	10 ml	20 ml
MICRONUTRIENTES 100X			
Fe EDTA	5 ml	10 ml	20 ml
Glicina (400ppm)	2,5 ml	5 ml	10 ml
Vitaminas MS 50x	1 ml	2 ml	4 ml
Mio-Inositol	0,05 g.	0,1 gr	0,2 gr
Sacarosa	15 gr	30 gr	60 gr
Control pH: 5,6 - 5,8			
Agar	4 g.	8 g	16 g
Gelrite (gellan gum)	0,8 – 0,9 g	1,6 – 1,8 g	3,2 – 3,6 g

Luego se enrasa a volumen correspondiente y se controla el pH.
Se procede entonces a calentar la solución y se le agrega de a poco el agar, agitando de vez en cuando. Dejar hasta que se vea transparente.
Agregar las hormonas, si corresponde.
Distribuir en los tubos o frascos de vidrio y tapar con aluminio. Luego autoclavar.

Bibliografía

Murashige, T; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*. 15:473-497.

Consultas de los autores con integrantes de las cátedras de Fisiología Vegetal de UNNE, y Rosario.

Ultima Actualización: Mayo de 2015 (Víctor Lallana)

Como citar este documento:

Dalzotto, C.A.; Billard, C.E. (2014). Protocolo N° 23. Medio Básico M&S para un litro de solución concentrada x [10]. Disponible en: <http://www.orquier.fca.uner.edu.ar/> [Consulta: dd/mm/aa]