المحاضرة الثالثة

تحضير الأوساط الغذائية

الطريقة المتعارف عليها في تحضير الأوساط تقتضي تحضير محاليل خزينة مركزة من 10 الى 100 مرة وتستعمل مواد كيميائية عالية النقاوة وماء مقطر في اذابتها، تخزن المحاليل الخزينة في عبوات زجاجية أو بلاستيكية تحت ظروف التجميد وتستعمل حين الحاجة، مع هذا انتجت الشركات المتخصصة أوساط مختلفة على شكل مسحوق جاهزة للاستعمال بعد اذابتها مما وفر الوقت والجهد واستبعاد احتمالية الخطأ الذي قد يحصل نتيجة تحضير الأوساط وتوفير اليد العاملة .

اختيار الوسط المناسب:

من المعتاد استعمال مكونات الوسطين **MS** أو **B5** من أجل انتخاب وسط مناسب للجزء والنوع النباتي المطلوب زراعته نسيجيا , واذا لم يكونا كفوئين فيتم استبدالهما بوسط اخر . يتم عادة اختبار 3 – 5 تراكيز من منظمات النمو وبتوليفات مختلفة وانتخاب التوليفة الأفضل عند حصول استجابة . ولا بد من التأكيد على ضرورة استعمال الكيميائيات عالية النقاوة وضبط التراكيز المستعملة، اذ أن اي خطا يسبب في خسارة كبيرة علما بأن أغلب منظمات النمو لا تذوب في الماء المقطر ويجب اذابتها في الكحول أو **NAOH** يتم عمل محاليل خزينة من مكونات الوسط عند الرغبة في تحضير الوسط داخل المختبر.

ضبط الاس الهيدروجيني (PH of the medium):

يكون **PH** الوسط المناسب لأغلب المزارع النسيجية ضمن المدى 5 الى6. ينخفض عموما بعد التعقيم البخاري بحوالي0.3 الى 0.5 وحدة. يضبط**PH** الوسط عند تحضيره وقبل التعقيم الى القيمة المناسبة وليس هناك ضرورة لإضافة دوارئ **(Buffers)** للمحافظة على قيمته تتوقف الخلايا النباتية عن النمو في قيم**PH** تزيد عن 7.0 وتقل عن 4.5 ويستبدل الوسط في حالة انخفاض قيمتها ويصبح الوسط اكثر صلابة عند وصولها الى 6.0 وصعودا ولا يتصلب الوسط اذا انخفضت الى اقل من 5.

تعقيم الاوساط: يتم تعقيم الاوساط الغذائية بعد اكمال تحضيرها في مؤصدة **(Autoclave)** على درجة حرارة 121 م وضغط 10 باسكال **(psi)** لمدة 20 دقيقة بالرغم من احتمالية رفع درجة الحرارة والضغط والوقت حسب حجوم الأوساط الداخلة الى التعقيم . تعقم منظمات النمو والمواد العضوية الحساسة للحرارة العالية بالفلترة بوحدة المليبور ذات الاقطار0.45 أو 0.22 مايكروميتر ومن ثم تضاف الى الوسط بعد تعقيمه وقبل تصلبه ويخلط جيدا ويترك لحين اكمال التصلب على درجة حرارة المختبر.