

Medii de cultură pentru ciuperci

Necesitățile nutritive ale ciupercilor sunt atât de diverse încât nu există un mediu standard pentru toate speciile. Unele medii de cultură (Czapek-agar, cartof-dextroză-agar, malț-agar etc.) permit dezvoltarea unui număr mare de ciuperci, iar altele sunt specifice unui număr restrâns sau chiar unei singure specii. Mediile de cultură se folosesc în stare lichidă sau în stare solidă. Solidificarea mediilor de cultură se realizează prin adăugare de agar sau silicagel (Constantinescu, 1974).

Pentru cultivarea ciupercilor, în literatură s-au descris câteva sute de medii nutritive, dintre care, în continuare, sunt prezentate câteva.

Apă-agar

Mediul de cultură apă-agar se prepară din:

Agar ----- 20 g
Apă distilată----- 1000 ml

Agarul se dizolvă în apă timp de 30 minute și apoi se sterilizează 20 minute, la 121⁰C. Acest mediu specific este folosit pentru cultivarea și identificarea drojdiilor (Constantinescu, 1974).

Bere (must)-agar

Mediul de cultură se prepară din:

Agar 30 g
Must de bere 1000 ml

Agarul se topește în must de bere, prin fierbere pe baie de apă, timp de 15 minute. După ajustarea pH-lui la 5,0-5,5, se sterilizează 10 minute la 116⁰C (Constantinescu, 1974).

Cartof-dextroză-agar

Mediul cartof-dextroză-agar este cel mai utilizat în micologie și este foarte favorabil pentru creșterea majorității ciupercilor.

Se prepară din:

Cartof 200 g
Dextroză 20 g
Agar 20 g
Apă distilată 1000 ml

Pentru prepararea mediului, se spală și se curăță cartofii, iar apoi se taie în cuburi de circa 12 mm. Se cântăresc 200 g cartofi, se clătesc repede în apă și se fierb într-un vas de sticlă sau smălțuit, timp de o oră, până se înmoaie. Se sfărâmă cartofii și se strecoară cât mai multă pulpă printr-o sită fină sau printr-un tifon. Se adaugă agarul și se fierbe până se dizolvă. Se ia de pe foc, se adaugă dextroza și se amestecă până se dizolvă. Se completează la un litru cu apă distilată. În timpul turnării în eprubete, se va agita soluția, pentru a repartiza în fiecare eprubetă o parte din substanța solidă. Se sterilizează la 121⁰C, timp de 15 minute. În funcție de calitatea agarului, se poate folosi 15 g la un litru de mediu (Constantinescu, 1974).

Față de formula standard, există mai multe variante ale acestui mediu. Pentru producerea de conidii la *Venturia inaequalis*, se recomandă acest mediu preparat din 40 g cartofi, 5 g dextroză, 17 g agar și 1000 ml apă distilată (Boone și Keitt, 1956, citat de Constantinescu, 1974).

Czapek-agar

Soluție A 50 ml	Soluția A	Soluția B
Soluție B 50 ml	NaNO ₃ 40 g	K ₂ HPO ₄ 20 g
Sucroză 30 g	KCl 10 g	Apă distilată....1000 ml
Agar..... 20 g	MgSO ₄10 g	
Apă distilată ...900 ml	FeSO ₄0,2 g	
	Apă distilată...1000 ml	

Preparare. Se dizolvă sucroza în 50 ml soluție A, diluată cu aproximativ 500 ml apă distilată. Se adaugă 50 ml soluție B, se completează la un litru cu apă distilată, se adaugă agarul și se topește. Se sterilizează 20 minute, la 121°C (după Booth, 1971, citat de Constantinescu, 1974).

Czapek soluție-agar

Compoziție/l:

Sucroză 30 g	KCl 0,5 g
Agar 15 g	MgSO ₄ · 7H ₂ O 0,5 g
NaNO ₃ 2 g	FeSO ₄ · 7H ₂ O0,01 g
K ₂ HPO ₄ 1 g	

pH: 7,3 ± 0,2 la 25 °C

Componentele se amestecă în apă distilată și se aduce la volum de 1,0 l. Se distribuie în vase și se autoclavează 15 minute la 121°C. Se folosește pentru cultivarea speciilor de *Aspergillus*, *Penicillium* și altor ciuperci (Atlas, 2004).

Fasole-agar

Rețeta de preparare cuprinde:

Fasole 100 g
Agar 15 g
Apă distilată 1 000 ml

Fasole lima (*Phaseolus lunatus*) proaspătă sau înghețată se umectează într-un litru de apă caldă timp de 30 minute. Se înlătură lichidul și se completează cu apă, se filtrează prin sită, se adaugă agarul și se fierbe până la topirea agarului. Se filtrează prin vată. Se sterilizează 20 minute, la 121°C. Acest mediu este recomandat pentru cultivarea speciei *Phytophthora infestans*.

Malț (extract)-agar

Rețeta standard cuprinde:

Extract malț 30 g
Agar 15 g
Apă distilată 1000 ml

Se încălzește extractul de malț în apă până se dizolvă, se adaugă agarul și se fierbe până se topește. Se ajustează pH-ul final la 5,5 ± 0,2, la 25°C. Se sterilizează prin autoclavare la 121°C, timp de 15 min. (Samson și Van Reenen-Hoekstra, 1988).

Sabouraud-glucoză-agar

Rețeta standard cuprinde:

Glucoză 40 g
Peptonă granulată 10 g
Apă distilată 1000 ml

Se amestecă ingredientele, se fierb până la dizolvare și se ajustează pH-ul la 5,6. Se sterilizează la 120⁰C, timp de 10 minute. Acest mediu este foarte sensibil și nu trebuie supraîncălzit, la sterilizare. Se folosește în dermatologie pentru cultivarea ciupercilor care produc micoze ale pielii și părului, la om (Constantinescu, 1974).

Extract de orez-agar

Compoziție/l:

Agar 20 g pH: 6,6±0,2 la 25 °C
Orez alb (extract) 5,0 g
Polisorbat 80 10,0 ml

Se amestecă componentele, cu excepția polisorbatalui 80, în apă distilată/deionizată și se aduce la un volum de 990 ml. Se fierbe până la dizolvare și apoi se adaugă polisorbatal 80. Se sterilizează 15 minute, la 121⁰C. Mediul este folosit pentru cultivarea și diferențierea speciilor de *Candida albicans* și *Candida stellatoidea*, de alte specii de *Candida*, pe baza formării clamidosporilor (Atlas, 2004).

Sterilizarea mediilor de cultură

Vasele (eprubete, plăci Petri, flacoane Erlenmeyer etc.) folosite pentru prepararea mediului de cultură trebuie spălate, uscate și sterilizate. Sterilizarea sticlăriei se realizează în etuvă, la 180⁰C, cel puțin 30 minute sau la 170⁰C, cel puțin o oră.

Mediul de cultură se toarnă în vase, cu ajutorul unei pâlnii de sticlă, așa încât să nu murdărească marginea vasului. După distribuirea mediului, eprubetele și flacoanele Erlenmeyer sunt închise cu dopurile lor de vată, iar vasele Petri sunt acoperite cu capacele lor. Astfel pregătite, vasele de cultură sunt puse în coșuri de sârmă, iar apoi se sterilizează.

Sterilizarea vaselor se face prin căldură umedă, în autoclav. După sterilizare, vasele cu medii se scot din autoclav și pot fi folosite pentru cultivarea ciupercilor.

Culturile în vase Petri se folosesc, în special, pentru izolarea ciupercilor, prin însămânțări repetate. Aceste culturi nu se păstrează multă vreme, deoarece se uscă mai repede și se pot infecta mai ușor prin deschiderea vaselor. De asemenea, ciupercile pot fi cultivate pe medii de cultură în eprubete și în flacoane Erlenmeyer și pot fi păstrate la temperaturi scăzute (2-4⁰C) 2-3 luni, după care trebuie reînsămânțate.