

محیط های کشت:

مواد غذایی تهیه شده در آزمایشگاه را که جهت رشد میکروارگانیسم ها مورد استفاده قرار می گیرد، را محیط کشت می گویند. اولین مشخصه یک محیط کشت دارا بودن مواد مغذی ضروری و مورد نیاز میکروارگانیسم های خاصی است که قصد دارند رشد نمایند. محیط کشت در ابتدا باید استریل باشد، یعنی باید عاری از هر میکروارگانیسم زنده باشد.

برای تهیه ی اسلاید از میکروارگانیسم ها باید ابتدا آنها را کشت دهیم. در آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی این کار را در محیط کشت انجام می دهیم. در آزمایشگاه، محیط های کشت بسار متنوعی جهت کشت میکروارگانیسم در دسترس است. آنتی بیوتیکها را می توان برای جلوگیری از رشد باکتری ها به محیط کشت اضافه کرد. آنتی بیوتیکها توسط یک سرنگ تنها بعد از استریلیزاسیون و وقتی که آگار سرد و به دمای ۴۵-۴۸ درجه سانتی گراد رسید، به محیط کشت اضافه می شوند. هر قارچ نیاز غذایی خاص خود را دارد. قارچهای مختلف و حتی ایزوله های (جدایه های) مختلف یک گونه نیز اغلب دارای نیازهای خاص هستند. به همین دلیل است که برخی از محیط های کشت، برای رشد برخی از قارچها از بقیه بهتر هستند. محیط های کشت خاصی برای قارچهای مشخصی تهیه شده است. این محیط کشت ها به عنوان محیط کشت خاص یا انتخابی شناخته می شوند.

انواع محیط های کشت:

- الف) محیط کشت عمومی: اجازه رشد به همه نوع میکروارگانیسمی را می دهد.
- ب) محیط کشت نیمه اختصاصی: اجازه رشد به یک گروه یا گونه ای خاص از میکرو ارگانیسم ها را می دهد.
- ج) محیط کشت اختصاصی: فقط اجازه رشد به میکرو ارگانیسم خاص و مورد نظر ما را می دهد.
- د) محیط کشت افتراقی: میکرو ارگانیسم های خاص و مورد نظر ما به رنگی خاص در محیط کشت قابل مشاهده هستند.

محیط های کشت عمومی:

آب – آگار (W.A) Water Agar

سیب زمینی – دکستروز – آگار (P.D.A) Potato – Dextrose – Agar

ذرت آگار (C.M.A) Corn Meal – Agar

نوترینت – آگار (N.A) Nutrient – Agar

محیط کشت آب – آگار (W.A)

۸۰۰ سی سی آب مقطر را حرارت داده، وقتی دمایش به ۵۰-۶۰ درجه سانتیگراد رسید، آگار (۲۰ گرم) را تدریجاً به آن اضافه می‌کنیم و پس از حل شدنش حجم محلول را به ۱۰۰۰ سی سی می‌رسانیم و سپس باید برای استریل کردن محیط کشت باید اتوکلاو شود. این محیط کشت جهت خالص سازی قارچها استفاده می‌شود. این محیط کشت از آب و آگار تشکیل شده و یک محیط کشت جامد، عمومی و مصنوعی به حساب می‌آید. این محیط کشت یک محیط ضعیف است و باعث رشد کم و ضعیف قارچ می‌شود. کاربرد اصلی آن برای برداشتن نوک ریشه در جهت خالص کردن کشت قارچی است. میزان آگار آن را بالا می‌برند تا محیط برای خالص سازی سفت تر و مناسب تر باشد.

محیط کشت سیب زمینی – دکستروز – آگار (PDA)

محیط کشت PDA یک محیط کشت غنی و کلی برای انواع مخمرها و قارچ ها است و برای جلوگیری از رشد باکتری ها می تواند حاوی آنتی بیوتیک و یا اسید باشد.

این محیط کشت از عصاره سیب زمینی، دکستروز و آگار تشکیل شده است.

عصاره سیب زمینی: ۲۰۰ گرم

دکستروز: ۲۰ گرم

آگار: ۱۸ گرم

سیب زمینی یک پایه مغذی قوی دارد که امکان رشد و تکثیر سریع را برای بسیاری از قارچ ها را فراهم می کند و دکستروز نیز به عنوان یک محرک رشد عمل می کند. همچنین آگار پلی ساکاریدی است که از یک نوع جلبک دریایی بدست می آید، این ماده برای سفت کردن محیط های کشت میکروبی بکار می رود.

این محیط کشت به صورت آماده در بازار موجود هست، اما برای تهیه دستی آن می توان به روش زیر اقدام کرد.

نحوه تهیه محیط کشت سیب زمینی - دکستروز - آگار (PDA) به صورت زیر است:

این محیط کشت از جمله محیط کشت های عمومی، مصنوعی و جامد هستند که در آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی از آن استفاده می شود. معمولاً برای تهیه محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار، ۲۰۰ گرم سیب زمینی تازه پوست کنده را در یک ظرف به مدت ۲۰ دقیقه روی اجاق گاز می گذاریم تا کاملاً بجوشد. زمانی که کاملاً پخته شدند عصاره آن را به وسیله پارچه ای می گیریم بطوریکه زلال باشد و هیچ نشاسته ای در آن وارد نشود. در محلول به دست آمده ۲۰ گرم دکستروز اضافه می کنیم و به آرامی بهم می زنیم. سپس آن را روی چراغ الکلی یا اجاق گاز قرار می دهیم تا کاملاً حل شود. بعد از این ۲۰ گرم آگار به آن اضافه می کنیم و پس از بهم زدن آن را به مدت ۲ دقیقه روی اجاق گاز قرار می دهیم تا کاملاً حل شود بدون اینکه حبابی ایجاد شود و در نهایت حجم این محیط کشت را به وسیله آب مقطر به یک لیتر می رسانیم. آنگاه آن را در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه و فشار یک و نیم کیلوگرم بر سانتی متر مربع استریل می کنیم. سپس وقتی که درجه حرارت تقریباً ۴۵ درجه سانتیگراد و فشار به صفر درجه رسید آن را از اتوکلاو خارج می کنیم و آن را در روی چراغ الکلی قرار می دهیم. وقتی که دمای محیط کشت استریل تقریباً به ۴۵ درجه سانتیگراد رسید قابل ریختن در محیط کشت است. بعد محیط کشت را در کنار چراغ الکلی در پتری دیش (Petri dish) می ریزیم.