

Laboratorio della Micoteca

Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi

Università degli Studi di Torino

Sede: Viale Mattioli, 25 – 10125 Torino

Preparazione terreni nutritizi agarizzati per la coltura di isolati fungini.

Agar Amido di Patate (AM)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--------------------------------------|--------|
| MnSO ₄ 5H ₂ O | 0.05g |
| NaCl | 0.1g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CoCl ₂ 6H ₂ O | 0.01g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.001g |
| AlK(SO ₄) ₂ | 0.001g |
| H ₃ BO ₃ | 0.001g |
| NaMoO ₄ 2H ₂ O | 0.001g |

Portare al volume finale di 100 ml con acqua distillata per preparare una soluzione stock di micro elementi.

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Amido di patate | 18 g |
| Ammonio tartrato | 2 g |
| KH ₂ PO ₄ | 2 g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.5 g |
| CaCl ₂ 2H ₂ O | 0.1 g |
| Agar | 18 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere quindi 10 ml di una soluzione di micro elementi. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Agar Estratto di Malto (MEA)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------|------|
| Glucosio | 20 g |
| Estratto di malto | 20 g |
| Peptone micologico da caseina | 2 g |
| Agar | 20 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Agar Estratto di Malto (MEA Ab) addizionato di antibiotici

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------|------|
| Glucosio | 20 g |
| Estratto di malto | 20 g |
| Peptone micologico da caseina | 2 g |
| Agar | 20 g |

| | |
|----------------|---------|
| Cloramfenicolo | 0.05 g |
| Streptomina | 0.015 g |

Unire tutti i reagenti, tranne gli antibiotici, in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min. Lasciare raffreddare e aggiungere in ambiente sterile la soluzione di antibiotici precedentemente sterilizzata tramite filtrazione (20 µm).

Agar Estratto di Malto per alofili (MEA NaCl 15%)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------|-------|
| Glucosio | 20 g |
| Estratto di malto | 20 g |
| Peptone micologico da caseina | 2 g |
| Agar | 20 g |
| NaCl | 150 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Agar Estratto di Malto cicloesimide (MEACX)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------|------|
| Glucosio monoidrato | 20 g |
| Estratto di malto | 20 g |
| Peptone micologico da caseina | 2 g |
| Agar | 20 g |

Sciogliere in 3 ml di acetone il contenuto di un flacone di Dermasel Selective Supplement (OXOID cat. n. SR075E). Unire tutti i reagenti, contenuto del flacone di Dermasel compreso, in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Agar segatura

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

Agar 12 g
 Segatura finemente macinata (di latifoglia o di conifera opp. mista, in relazione alle caratteristiche del fungo da coltivare) 10 g

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Blakeslee Malt Extract Autolysate agar (BMEA)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------|------|
| Estratto di malto | 30 g |
| Peptone micologico da caseina | 1 g |
| Glucosio | 20 g |

| | |
|-------------------------------------|---------|
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.005 g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| Agar | 20 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Bold's Basal Medium (BBM)

Pesare le seguenti soluzioni stock in acqua demineralizzata, pesando i singoli reagenti utilizzando una bilancia analitica:

| | |
|--|-------------------|
| a) NaNO ₃ | 0.2 g in 80 ml |
| b) CaCl ₂ | 0.1 g in 40 ml |
| c) MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.3 g in 40 ml |
| d) K ₂ HPO ₄ | 0.3 g in 40 ml |
| e) KH ₂ PO ₄ | 0.7 g in 40 ml |
| f) NaCl | 0.1 g in 40 ml |
| g) H ₃ BO | 1.142 g in 100 ml |
| h) FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.498 g |
| + ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.882 g |
| + MnCl ₂ 4H ₂ O | 0.144 g in 100 ml |
| i) MoO ₃ | 0.071 g |
| + CuSO ₄ 5 H ₂ O | 0.157 g |
| + Co(NO ₃) ₂ 6 H ₂ O | 0.049 g in 100 ml |
| l) EDTA | 5 g |
| + KOH | 3.100 g in 100 ml |

Prelevare le seguenti aliquote di ciascuna soluzione stock:

- a 20 ml,
- b, c, d, e, f 10 ml
- g, h, i, l 1 ml

Aggiungere 15 g di Agar e portare a volume di 1 L con acqua demineralizzata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Creatine Sucrose Agar (CREA)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--|---------|
| Creatina | 3 g |
| Saccarosio | 30 g |
| KH ₂ PO ₄ 3 H ₂ O | 1.6 g |
| MgSO ₄ 7 H ₂ O | 0.5 g |
| KCl | 0.5 g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.005 g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| Rosso di Bromocresolo | 0.05 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al

raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.
Avvenuta la sterilizzazione controllare con l'ausilio di cartine tornasole il pH del terreno nutritizio.
Aggiustare il pH a 8.00.

Czapek's (CZ)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|--------|
| NaNO ₃ | 3 g |
| KH ₂ PO ₄ | 1 g |
| MgSO ₄ 0.5 g | |
| KCl | 0.5 g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| Saccarosio | 30 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata.
Aggiungere un'ancoretta. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Czapek's 70 % per alofoli (CZ 70%)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|--------|
| NaNO ₃ | 3 g |
| KH ₂ PO ₄ | 1 g |
| MgSO ₄ 0.5 g | |
| KCl | 0.5 g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| Saccarosio | 700 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata.
Aggiungere un'ancoretta. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Czapek's 40 % per alofoli (CZ 40%)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|--------|
| NaNO ₃ | 3 g |
| KH ₂ PO ₄ | 1 g |
| MgSO ₄ 0.5 g | |
| KCl | 0.5 g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| Saccarosio | 400 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata.
Aggiungere un'ancoretta. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Czapek's 20 % per alofoli (CZ 20%)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|---------------------------------|-------|
| NaNO ₃ | 3 g |
| KH ₂ PO ₄ | 1 g |
| MgSO ₄ 0.5 g | |
| KCl | 0.5 g |

| | |
|-------------------------------------|--------|
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| Saccarosio | 200 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Czapek Yeast Autolisate (CYA) Agar

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--|---------|
| NaNO ₃ | 3 g |
| KH ₂ PO ₄ 3 H ₂ O | 1.3 g |
| MgSO ₄ 7 H ₂ O | 0.5 g |
| KCl | 0.5 g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.005 g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| Estrattodi lievito | 5 g |
| Saccarosio | 30 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Dichloran 18% Glycerol Agar (DG18)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

Dichloran-Glycerol (DG18) Agar Base (Oxoid cat n. CM 729) 15.75 g

Porre i 15,75 g in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 500 ml di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Aggiungere quindi 110 g di Glicerolo (puro per analisi). Ricostituire asepticamente il contenuto di un flacone di Chloramphenicol Selective Supplement (Oxoid cat n. SR0078E) con 3 ml di etanolo e agitare fino a completa dissoluzione. Asepticamente aggiungere quindi il contenuto del falcone alla bottiglia contenente il DG 18 e il glicerolo. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Dichloran Rose Bengala Chloramphenicol Agar (DRBC)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

Dichloran Rose Bengala Agar 15.75 g (Fluka cat. n. 17147)

Porre i 15,75 g in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 500 ml di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Ricostituire asepticamente il contenuto di un flacone di Chloramphenicol Selective Supplement (Oxoid cat n. SR0078E) con 3 ml di etanolo e agitare fino a completa dissoluzione. Asepticamente aggiungere quindi il contenuto del falcone alla bottiglia contenente il DRBC. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

EQ

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--------------------------------------|--------|
| MnSO ₄ 5H ₂ O | 0.05g |
| NaCl | 0.1g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CoCl ₂ 6H ₂ O | 0.01g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.001g |
| AlK(SO ₄) ₂ | 0.001g |
| H ₃ BO ₃ | 0.001g |
| NaMoO ₄ 2H ₂ O | 0.001g |

Portare al volume finale di 100 ml con acqua distillata per preparare una soluzione stock di micro elementi.

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Glucosio | 20 g |
| Ammonio tartrato | 2 g |
| KH ₂ PO ₄ | 2 g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.5 g |
| CaCl ₂ 2H ₂ O | 0.1 g |
| Agar | 18 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere quindi 10 ml di una soluzione di micro elementi. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

GN1

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--------------------------------------|--------|
| MnSO ₄ 5H ₂ O | 0.05g |
| NaCl | 0.1g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CoCl ₂ 6H ₂ O | 0.01g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.001g |
| AlK(SO ₄) ₂ | 0.001g |
| H ₃ BO ₃ | 0.001g |
| NaMoO ₄ 2H ₂ O | 0.001g |

Portare al volume finale di 100 ml con acqua distillata per preparare una soluzione stock di micro elementi.

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Glucosio | 10 g |
| Ammonio Tartrato | 1 g |
| KH ₂ PO ₄ | 2 g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.5 g |
| CaCl ₂ 2H ₂ O | 0.1 g |
| Agar | 18 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1L di acqua distillata. Aggiungere quindi 10 ml di una soluzione di micro elementi. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

GN 0.1

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--------------------------------------|--------|
| MnSO ₄ 5H ₂ O | 0.05g |
| NaCl | 0.1g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CoCl ₂ 6H ₂ O | 0.01g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.001g |
| AlK(SO ₄) ₂ | 0.001g |
| H ₃ BO ₃ | 0.001g |
| NaMoO ₄ 2H ₂ O | 0.001g |

Portare al volume finale di 100 ml con acqua distillata per preparare una soluzione stock di micro elementi.

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Glucosio | 10 g |
| Ammonio Tartrato | 0.1 g |
| KH ₂ PO ₄ | 2 g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.5 g |
| CaCl ₂ 2H ₂ O | 0.1 g |
| Agar | 18 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere quindi 10 ml di una soluzione di micro elementi. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

GN4

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--------------------------------------|--------|
| MnSO ₄ 5H ₂ O | 0.05g |
| NaCl | 0.1g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CoCl ₂ 6H ₂ O | 0.01g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.001g |
| AlK(SO ₄) ₂ | 0.001g |
| H ₃ BO ₃ | 0.001g |
| NaMoO ₄ 2H ₂ O | 0.001g |

Portare al volume finale di 100 ml con acqua distillata per preparare una soluzione stock di micro elementi.

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Glucosio | 10 g |
| Ammonio Tartrato | 4 g |
| KH ₂ PO ₄ | 2 g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.5 g |
| CaCl ₂ 2H ₂ O | 0.1 g |
| Agar | 18 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere quindi 10 ml di una soluzione di micro elementi. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

GN 0.44

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--------------------------------------|--------|
| MnSO ₄ 5H ₂ O | 0.05g |
| NaCl | 0.1g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CoCl ₂ 6H ₂ O | 0.01g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.001g |
| AlK(SO ₄) ₂ | 0.001g |
| H ₃ BO ₃ | 0.001g |
| NaMoO ₄ 2H ₂ O | 0.001g |

Portare al volume finale di 100 ml con acqua distillata per preparare una soluzione stock di micro elementi.

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|--------|
| Glucosio | 10 g |
| Ammonio Tartrato | 0.44 g |
| KH ₂ PO ₄ | 2 g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.5 g |
| CaCl ₂ 2H ₂ O | 0.1 g |
| Agar | 18 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1L di acqua distillata. Aggiungere quindi 10 ml di una soluzione di micro elementi. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

HAGEM

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|---------------------------------------|----------------------------|
| KH ₂ PO ₄ | 0.5 g |
| MgSO ₄ * 7H ₂ O | 0.5 g |
| NH ₄ Cl | 0.5 g |
| FeCl ₃ * 6H ₂ O | 0.5 ml di una soluzione 1% |
| Glucosio | 5 g |
| Estratto di malto | 5 g |
| Agar | 15 g |
| Tiamina | 0.05 g |
| Biotina | 0.001 g |

Unire tutti i reagenti, tranne gli antibiotici, in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata.

Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Lasciare raffreddare e aggiungere in ambiente sterile la soluzione di antibiotici precedentemente sterilizzata tramite filtrazione (20 µm).

HAGEM addizionato di antibiotici

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|-------------------------------|
| KH ₂ PO ₄ | 0.5 g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.5 g |
| NH ₄ Cl | 0.5 g |
| FeCl ₃ 6H ₂ O | 0.5ml di una soluzione all'1% |
| Glucosio | 5 g |
| Estratto di malto | 5 g |
| Agar | 15 g |
| Tiamina | 0.05 g |
| Biotina | 0.001 g |
| Cloramfenicolo | 0.05 g |
| Streptomycina | 0.015 g |

Unire tutti i reagenti, tranne gli antibiotici, in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min. Lasciare raffreddare e aggiungere la soluzione di antibiotici precedentemente sterilizzata tramite filtrazione (20 µm).

M102 per endofiti delle Poaceae

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|---------------------------------|-------|
| Saccarosio | 30 g |
| Estratto di malto | 20 g |
| Peptone micologico da caseina | 2 g |
| KH ₂ PO ₄ | 1 g |
| MgSO ₄ | 0.5 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea e quindi portare il pH a 6.00 utilizzando NaOH 10 N. Aggiungere 20 g di Agar miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.
Referenze bibliografiche: C.W. Bacon Appl.Envir.Microb. 54:2615-2618 1998.

M102 per endofiti delle Poaceae addizionato di antibiotici

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|---------------------------------|--------|
| Saccarosio | 30 g |
| Estratto di malto | 20 g |
| Peptone micologico da caseina | 2 g |
| KH ₂ PO ₄ | 1 g |
| MgSO ₄ | 0.5 g |
| Cloramfenicolo | 0.05 g |
| Agar | 20 g |

Unire tutti i reagenti, tranne gli antibiotici e l'Agar, in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea e quindi portare il pH a 6.00 utilizzando NaOH 10 N. Aggiungere l'Agar e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di

una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min. Lasciare raffreddare e aggiungere in ambiente sterile la soluzione di antibiotici precedentemente sterilizzata tramite filtrazione (20 µm).

M20

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------|-------|
| Glucosio | 20 g |
| Estratto di malto | 20 g |
| Peptone micologico da caseina | 2 g |
| Saccarosio | 200 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

M40

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------|-------|
| Glucosio | 20 g |
| Estratto di malto | 20 g |
| Peptone micologico da caseina | 2 g |
| Saccarosio | 400 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

M40Y

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|---------------------|-------|
| Estratto di malto | 20 g |
| Estratto di lievito | 5 g |
| Saccarosio | 400 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

MPGT

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------|-------|
| Estratto di malto | 30 g |
| Peptone micologico da caseina | 5 g |
| Glucosio | 2,5 g |
| Trealosio | 20 g |
| Agar | 18 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Oats Agar (OA)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|------------------|------|
| Fiocchi di avena | 30 g |
| Agar | 15 g |

Fare bollire, a fuoco lento, utilizzando una pentola e un becco bunsen, i fiocchi di avena in 1 L di H₂O distillata per 2 ore. Trascorse le 2 ore filtrare il tutto utilizzando un colino da cucina. Riportare al volume di 1 litro e quindi aggiungere 15 g di Agar. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

PIAM

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--|----------------------|
| Estratto di malto vitaminizzato P.I.A.M. | 20 g (Vecchi e PIAM) |
| Petone | 2 g |
| Glucosio | 20 g |
| KH ₂ PO ₄ | 0.2 g |
| FeCl ₃ | tracce |
| Agar | 16 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

PIAM glicerolo (PIAM Gly)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--|----------------------|
| Estratto di malto vitaminizzato P.I.A.M. | 20 g (Vecchi e PIAM) |
| Petone | 2 g |
| Glucosio | 20 g |
| KH ₂ PO ₄ | 0.2 g |
| FeCl ₃ | tracce |
| Agar | 16 g |
| Glicerolo | 50 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Phytone Yeast Extract (PYE)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|---------------------|------|
| Phytone | 20 g |
| Glucosio | 40 g |
| Estratto di lievito | 5 g |
| Agar | 20 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al

raggiungimento di una soluzione omogenea
Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Potatoe Glucose Agar (PGA)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

Potatoe Glucose Agar (Fluka cat n. 70139) 39 g

Porre i 39 g in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata.
Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

Sabouraud

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------|------|
| Peptone micologico da caseina | 10 g |
| Glucosio | 40 g |
| Agar | 15 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata.
Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min

SINT

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--------------------------------------|--------|
| MnSO ₄ 5H ₂ O | 0.05g |
| NaCl | 0.1g |
| FeSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CoCl ₂ 6H ₂ O | 0.01g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.001g |
| AlK(SO ₄) ₂ | 0.001g |
| H ₃ BO ₃ | 0.001g |
| NaMoO ₄ 2H ₂ O | 0.001g |

Portare al volume finale di 100 ml con acqua distillata per preparare una soluzione stock di micro elementi.

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Glucosio | 40 g |
| Ammonio Tartrato | 2 g |
| KH ₂ PO ₄ | 2 g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.5 g |
| CaCl ₂ 2H ₂ O | 0.1 g |
| Agar | 18 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata.
Aggiungere quindi 10 ml di una soluzione di micro elementi. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.

V8

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|----------------------|-------|
| Minestrone congelato | 300 g |
| CaCO ₃ | 2g |

Fare bollire il minestrone in 1 L di H₂O distillata per 20min a fuoco lento, utilizzando una pentola e un becco bunsen. Filtrare il minestrone con un colino da cucina. Riportare al volume di 1 L e quindi aggiungere 2 g di CaCO₃ e aggiustare il pH a 7-7.3. Aggiungere 18 g di Agar e sterilizzare a 110 °C in autoclave per 30 min.

Yeast Extract Sucrose (YES)

Pesare utilizzando una bilancia analitica i seguenti reagenti:

| | |
|--------------------------------------|---------|
| Saccarosio | 15 g |
| MgSO ₄ 7 H ₂ O | 0.5 g |
| CuSO ₄ 5H ₂ O | 0.005 g |
| ZnSO ₄ 7H ₂ O | 0.01 g |
| Agar | 20 g |

Unire tutti i reagenti in una bottiglia in vetro pirex da un litro e aggiungere 1 L di acqua distillata. Aggiungere un'ancoretta magnetica e miscelare bene con l'ausilio di un agitatore magnetico, fino al raggiungimento di una soluzione omogenea. Sterilizzare a 121 °C in autoclave per 20 min.