

# Semina di **funghi** su piastra

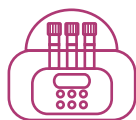
**Obiettivo** Seminare le muffe, isolate a partire da matrici alimentari, su piastre di terreno solido MEA o PGA per coltivarle, studiarne le principali caratteristiche morfologiche macroscopiche e microscopiche e compiere successive analisi.

**Autore** Istituto Augusto Monti di Asti  
Primo classificato Mad for Science 2018  
Progetto “Funghi - Questi sconosciuti”



# Materiali e reagenti

- Matrici alimentari ammuffite
  - Piastre Petri di terreno solido MEA o PGA
  - Lancette o anse da inoculazione sterili monouso
  - Pennarello
- 



## Strumenti

- Cappa biologica a flusso laminare o becco Bunsen



## Sicurezza

- Camice
  - Guanti
- 



## Tempo

20 minuti per la semina delle muffe  
5-7 giorni per la loro crescita



# Procedimento

- 1.** Preparare le piastre Petri di terreno solido, seguendo i protocolli “Preparazione del terreno MEA solido” e “Preparazione del terreno PGA solido”.
- 2.** Accendere la cappa biologica a flusso laminare, pulire il piano di lavoro con Etanolo 70% e posizionare nella parte centrale del piano tutto il materiale necessario:
  - le matrici alimentari ammuffite;
  - tante piastre Petri di terreno, quante sono le muffe da seminare. Marcare le piastre con la provenienza della muffa, avendo cura di scriverlo sul bordo della piastra;
  - le lancette o le anse da inoculazione sterili monouso.
- 3.** Con la punta della lancetta o dell’ansa raschiare delicatamente la muffa dall’alimento e trasferirla nel centro della piastra Petri corrispondente.
- 4.** Ripetere il punto 3 per tutte le muffe da seminare, utilizzando sempre una nuova lancetta o ansa sterile monouso.
- 5.** Al termine della semina liberare la cappa biologica dal materiale utilizzato, pulire il piano di lavoro con Etanolo 70%, chiudere il vetro e sterilizzare l’ambiente interno con la luce a raggi UV.
- 6.** Incubare le piastre a temperatura ambiente (20-25°C) per 5-7 giorni.
- 7.** Procedere con l’analisi macroscopica e microscopica delle muffe cresciute in piastra, seguendo il protocollo “Analisi macroscopica dei funghi” nella sezione “Microbiologia” e “Allestimento di vetrini per l’analisi microscopica dei funghi” nella sezione “Microscopia e istologia”, oppure utilizzare i funghi cresciuti per successive analisi (vedi protocollo “Estrazione di DNA genomico da funghi” nella sezione “Biologia molecolare”).

## Note

- *Per impedire la contaminazione microbica, le operazioni vanno effettuate sotto cappa biologica a flusso laminare. In alternativa è possibile utilizzare un banco da laboratorio, precedentemente pulito con Etanolo 70%, e un becco Bunsen (fare attenzione al rischio incendio!).*
- *Non è sicuro accendere la fiamma del becco Bunsen sotto la cappa biologica, per cui la semina delle muffe sotto cappa deve essere effettuata esclusivamente con lancette o anse sterili monouso.*
- *Se, invece, si effettua la semina sul banco da laboratorio in presenza di un becco Bunsen, è possibile utilizzare lancette o anse in acciaio inox. In questo caso, prima di procedere con il punto 3:*
  - *sterilizzare la punta della lancetta o dell'ansa sulla fiamma del becco Bunsen, fino al raggiungimento del colore rosso;*
  - *raffreddare la punta incandescente, inserendola nel terreno di coltura di una piastra;*
  - *procedere con il prelievo e la semina della muffa in piastra;*
  - *ripetere i passaggi precedenti per ogni nuova muffa da seminare.*
- *Nel lavorare sotto cappa biologica, l'operatore deve adottare alcuni accorgimenti per garantire la sterilità dell'ambiente:*
  - *il piano di lavoro è reso sterile dal flusso dell'aria proveniente dalle griglie: non ostruire il passaggio dell'aria;*
  - *non sovraccaricare il piano di lavoro con troppo materiale;*
  - *disinfettare con Etanolo 70% tutto il materiale necessario allo svolgimento dell'attività, prima di inserirlo sotto cappa;*
  - *evitare di mantenere aperte le piastre di coltura, oltre il tempo necessario alla semina e al prelievo del materiale biologico.*
- *Le lancette in acciaio si prestano meglio alla raccolta e alla semina di muffe alimentari coriacee, ovvero più dure, incrostate e difficili da prelevare.*
- *Per favorire l'adeguato nutrimento dei funghi seminati e il successivo riconoscimento delle caratteristiche morfologiche, evitare che raggiungano una eccessiva confluenza in piastra.*
- *È possibile conservare le muffe cresciute in piastra a 4°C, rivestendo i bordi delle piastre con il Parafilm®.*