

Semina di batteri per **striscio**

Obiettivo Seminare ceppi batterici su piastre di LB agar per ottenere colonie singole.

Autore Assunta Croce, PhD



Materiali e reagenti

- Piastre di terreno solido LB agar
 - Ceppi batterici da seminare
 - Anse da inoculazione sterili monouso
 - Pennarello indelebile
-



Strumenti

- Termostato
- Cappa biologica a flusso laminare o becco Bunsen



Sicurezza

- Camice
 - Guanti
-



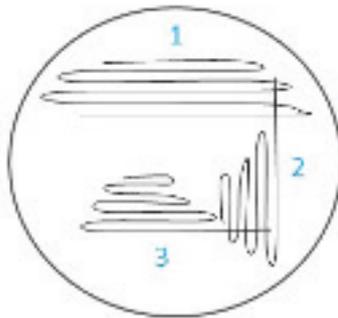
Tempo

20 minuti per la semina
1 notte per la crescita



Procedimento

- 1.** Il punto di partenza di questo protocollo sono le piastre ottenute dal protocollo “Preparazione del terreno LB solido”.
- 2.** Predisporre tante piastre di terreno LB solido quanti sono i ceppi batterici da seminare. Marcare le piastre con il nome del ceppo batterico, avendo cura di scriverlo sul bordo della piastra.
- 3.** Con un’ansa sterile trasferire una colonia singola del ceppo batterico da seminare sulla piastra corrispondente. Spargere la colonia in modo da utilizzare tutta la superficie della piastra, con un movimento che segue il punto 1 nell’illustrazione di seguito. Proseguire seguendo i movimenti 2 e 3 come riportato nell’illustrazione:



- 4.** Procedere in questo modo fino al completamento dei ceppi da seminare.
- 5.** Incubare le piastre nel termostato a 37°C per una notte (se si tratta di ceppi di *E. coli*) o alla temperatura ottimale di crescita.
- 6.** Conservare i ceppi cresciuti a 4°C.

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 (pericolo di incendio!).*
- *Per ridurre il numero delle anse sterili monouso impiegate, è anche possibile utilizzare anse di inoculazione in acciaio inox o platino-iridio che possono essere sterilizzate alla fiamma. In questo caso, prima del prelievo della colonia, l'ansa va sterilizzata alla fiamma, fino al raggiungimento del colore rosso, poi stemperata introducendola nell'agar e infine usata per prelevare la colonia. L'ansa va sterilizzata ogni volta che viene prelevata una colonia di batteri.*
- *Questa metodica permette di ottenere colonie batteriche singole, dal momento che i movimenti di spargimento della colonia su piastra hanno l'obiettivo di diluire la quantità di batteri trasportati dall'ansa. Il risultato dopo l'incubazione è mostrato nell'immagine.*

