

## Preparare il terreno di coltura per i batteri

a cura di V. Soglio adattato da Sambrook and Russel, *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*

*In moltissimi laboratori di ricerca, da quelli di microbiologia fino a quelli di biologia molecolare, si fanno crescere i batteri in provette o su piastre. Per ottenere colture ricche di microrganismi sono stati messi a punto dei terreni di crescita provvisti di tutti i nutrienti necessari. Anche nei laboratori scolastici, almeno in quelli dotati di strumenti come l'autoclave, è possibile preparare questi terreni. In caso contrario, il mercato offre diverse opportunità per l'acquisto di terreni pronti all'uso. Avere a disposizione questo materiale costituisce un punto di partenza per moltissime attività con i batteri, dalle più semplici, adatte anche agli allievi delle scuole secondarie di primo grado, a quelle più complesse.*

### Obiettivo

Preparare dei terreni liquidi o solidi che consentano la crescita di batteri.

### Procedimento

1. Pesare 10 g di triptone, 5 g di estratto di lievito e 10 g di NaCl.
2. Metterli in un becher contenente 950 ml di acqua deionizzata e mescolare fino a quando tutta la polvere si è sciolta.
3. Con la cartina tornasole o con il pHmetro, misurare il pH: se è inferiore a 7, aggiungere NaOH 5 N (circa 0,2 ml) fino a raggiungere pH 7.
4. Portare il volume a 1 L aggiungendo acqua deionizzata e trasferire in una bottiglia. Per preparare un terreno liquido procedere seguendo il punto 5, per un terreno solido il punto 6.
5. Sterilizzare in autoclave per 20 minuti a 121°C.
6. Aggiungere 15 g di bacto agar per ogni litro di terreno.
7. Sterilizzare in autoclave per 20 minuti a 121°C.
8. Lasciare raffreddare il terreno e versarne 25 ml circa in ogni piastra.
9. Quando il terreno si è solidificato, conservare le piastre in frigorifero.

### Osservazioni

- Il terreno per colture batteriche descritto in questo protocollo è chiamato LB, Luria-Bertani, dal nome dei due scienziati che lo hanno preparato per la prima volta. Esso è uno dei più usati nei laboratori di ricerca.
- Il passaggio di sterilizzazione in autoclave è necessario per eliminare ogni traccia di spore, muffe o batteri dal terreno che verrà usato per gli esperimenti di microbiologia. In questo modo gli unici batteri che cresceranno sul terreno saranno quelli piastrati dal ricercatore.

### Referenze

Sambrook and Russel. "Molecular Cloning: a Laboratory Manual" CSHL Press



### Tempo previsto

40 minuti

### Materiali e Reagenti

- ✓ Triptone
- ✓ Estratto di lievito
- ✓ NaCl
- ✓ Soluzione di NaOH 5 N
- ✓ Acqua deionizzata
- ✓ Becher
- ✓ Bottiglia
- ✓ Piastre Petri di plastica per la coltura di batteri
- ✓ Pipette Pasteur

### Strumentazione

- ✓ Bilancia
- ✓ Autoclave
- ✓ pHmetro se in dotazione, altrimenti cartina tornasole