

Aislamiento de *Paenibacillus* sp. desde muestras ambientales

Daniel Núñez, Tamara Matute, Isaac Núñez, Fernan Federici

Abstract

Este protocolo describe como aislar bacterias móviles del género *Paenibacillus* a partir de muestras ambientales. El protocolo no involucra material de laboratorio especializado.

Parte del proyecto Comunicaciones Especulativas:

datos en <https://osf.io/c542q/wiki/home/>

codigo en <https://github.com/interspecifics/ComunicacionesEspeculativas>

info en <http://interspecifics.cc/comunicacionesespeculativas/>

Citation: Daniel Núñez, Tamara Matute, Isaac Núñez, Fernan Federici Aislamiento de *Paenibacillus* sp. desde muestras ambientales. **protocols.io**

[dx.doi.org/10.17504/protocols.io.nwadfae](https://doi.org/10.17504/protocols.io.nwadfae)

Published: 10 Apr 2018

Guidelines

Paenibacillus sp. es una bacteria móvil presente comunmente en el suelo. De esta forma puede ser colectada a partir de muestras de tierra, suelo, polvo, pelos de animales, etc.

Su identificación puede ser realizada simplemente por inspección visual, por lo que no es necesario utilizar antibióticos ni tinciones especializadas.

Before start

Antes de realizar la recolección se deben tener preparados los contenedos limpios o placas de LB 1.5% agar (en caso de plaqueo directo). Además, se debe tener preparado y autoclavado el glicerol 50% antes de preparar los stock criogénicos.

Protocol

Recolección y preparación de muestras ambientales.

Step 1.

Opción 1: Colectar y almacenar las muestras en un contenedor limpio.

Opción 2: Tocar la muestra con un asa limpia y pasar directamente al paso 3.

Opción 3: Colocar la muestra directamente en una placa de LB 1,5% y saltarse hasta el paso 4.

NOTES

Isaac Núñez 18 Mar 2018

Las muestras a colectar deben involucrar polvo o tierra. De esta manera puede tomarse directamente un par de gramos de tierra del lugar de interés, muestras de pelo de animales/plantas o polvo desde superficies. Éstas deben ser depositadas en un contenedor limpio.

Disolución

Step 2.

En tubos de 1,5 ml disolver las muestras de tierra en agua destilada siguiendo una relación (aproximadamente). Este paso es importante para que la muestra sea diluida y no afecte la composición del medio.

EXPECTED RESULTS



📌 NOTES

Tamara Matute 10 Apr 2018

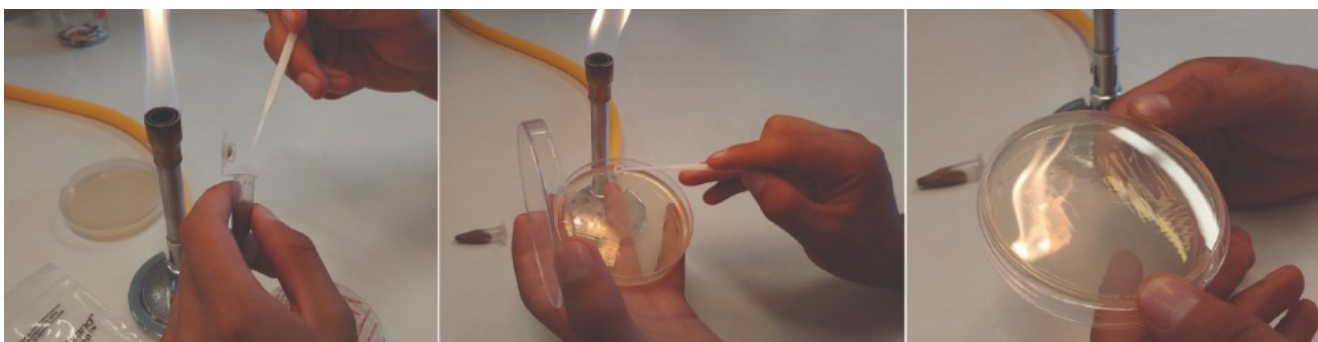
Si la muestra no se puede disolver (e.g. piedras), ésta debe ser mezclada con agua y luego agitada.

Cultivo

Step 3.

Con un asa y en esterilidad, realizar [streaking](#) en placas de LB agar 1.5%.

📈 EXPECTED RESULTS



Sellado de placas

Step 4.

Sellar la placa con parafilm.

Incubación

Step 5.

Incubar a temperatura ambiente. Es recomendable dejar la placa siempre boca abajo a modo de prevenir la condensación en la tapa y posterior goteo sobre el cultivo.

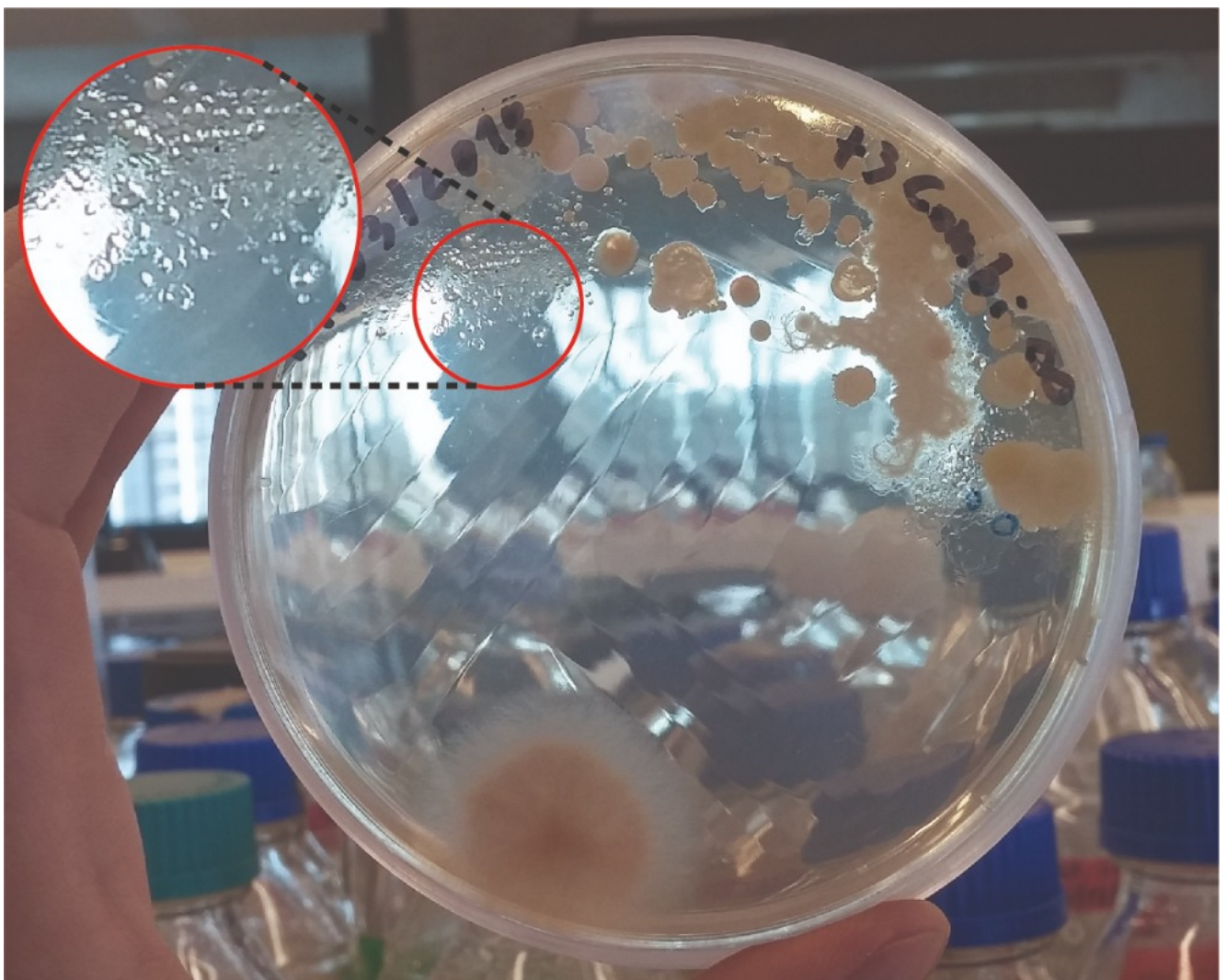
Selección y aislamiento

Step 6.

Realizar una inspección visual del cultivo diariamente.

📈 EXPECTED RESULTS

Las bacterias deberían aparecer en un plazo de 1 día a 1 semana.



NOTES

Tamara Matute 10 Apr 2018

Las placas deben ser revisadas diariamente hasta observar colonias bacterianas con rastros de movimiento.

Re-plaqueo de colonias positivas

Step 7.

Picar colonias identificadas y *re-strikear* en nueva placa.

NOTES

Isaac Núñez 18 Mar 2018

Seleccionar y picar con un asa las colonias identificadas, re-strikeando cada una de ellas en una placa de LB agar 1.5% nueva.

Sellado y re cultivo

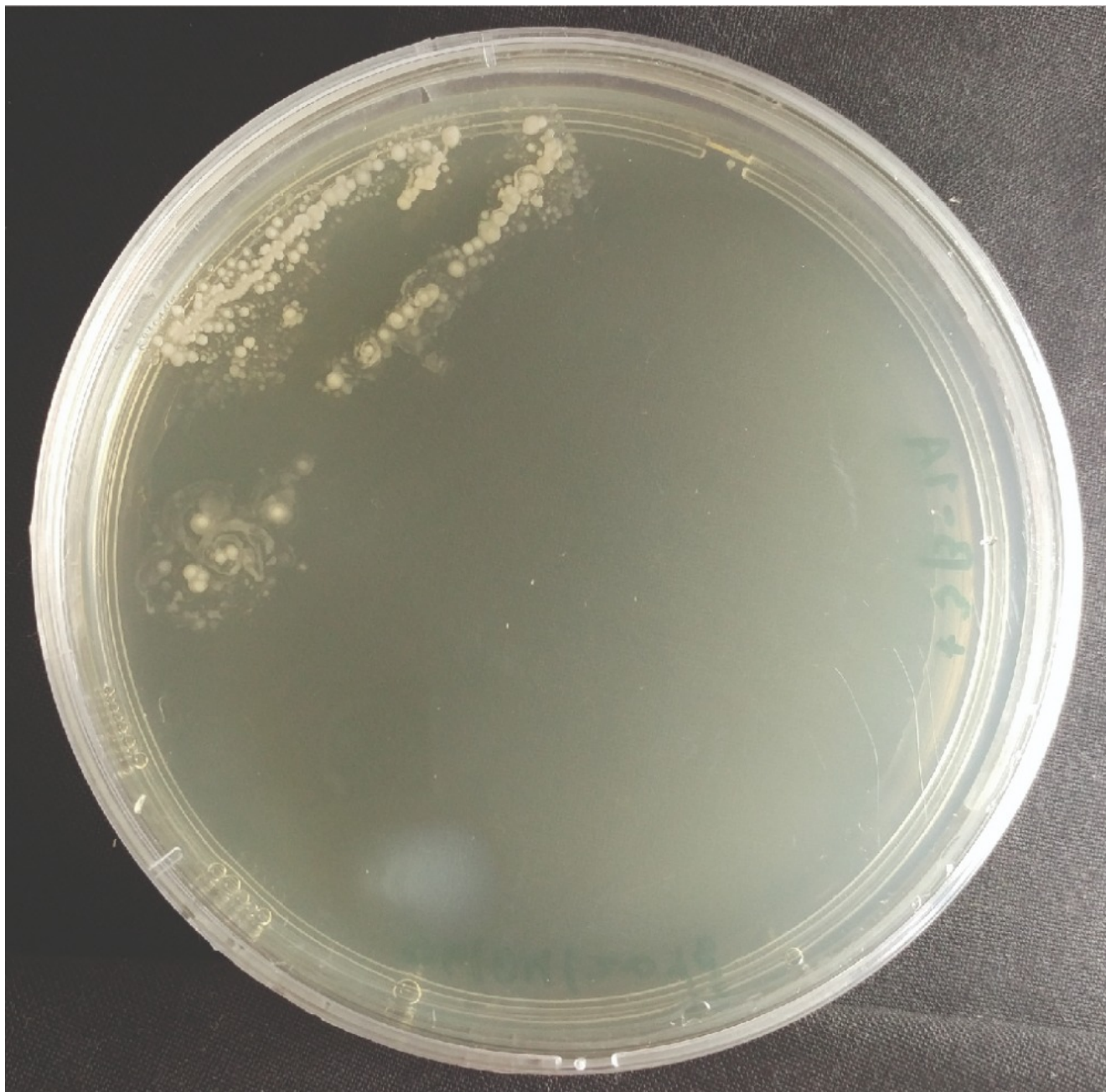
Step 8.

Sellar placas e Incubar a temperatura ambiente.

Step 9.

Repetir pasos 5 al 8 hasta observar cultivos homogéneos en las placas.

EXPECTED RESULTS



Preparación de stock de glicerol

Step 10.

Seleccionar una colonia aislada e inocular en 5 ml de LB líquido.

📌 NOTES

Isaac Núñez 18 Mar 2018

Con la ayuda de un asa se debe picar la colonia seleccionada e introducirla en el medio de cultivo (5 ml de LB en tubo bacteriano).

Cultivo líquido

Step 11.

Cultivar colonias a 37°C con agitación (250 RPM) durante 24h.

📌 NOTES

Tamara Matute 10 Apr 2018

De no contar con shaker termoregulado, dejar cultivo a temperatura ambiente hasta que se vuelva turbio (24 -48 h)

Step 12.

Guardar stock de glicerol (25%) a -25°C o -80 °C.

📌 NOTES

Tamara Matute 10 Apr 2018

En esterilidad, tomar 500 µl de cultivo y mezclar con 500 µl de glicerol 50% en un tubo criogénico y almacenar a -25°C o -80°C. Concentración final del stock será glicerol 25%.

Warnings

Paenibacillus sp. en general no está descrita como un patógeno humano, por lo que no debería representar un peligro para la salud. No obstante, debido a que las muestras provienen del ambiente y poseen **microorganismos no determinados**, es importante manipular los cultivos con cuidado y manejar los desechos de forma responsable.