

Autores: Ana Abigail Vega Aragón*¹, Bárbara Hernández Macías¹, Lidia Guadarrama Valencia,¹ José Gustavo Torres Martínez,¹ Abel López Buenfil ¹Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. ana.vega.i@senasica.gob.mx

Introducción

El cuidado de microorganismos contempla métodos de conservación de largo plazo, con los que se paraliza el crecimiento de las células microbianas sin causar pérdida de viabilidad. Así, se avala la estabilidad genética al limitar la aparición de generaciones sucesivas y la latencia durante varios años. Dentro de los métodos más efectivos esta la: criopreservación y la liofilización.

La liofilización es el método más utilizado para la conservación de microorganismos por las colecciones internacionales de cultivos. Se basa en paralizar el metabolismo por deshidratación celular sometiendo la muestra a congelación y sublimación. La disminución en el contenido de humedad residual da lugar a un material compacto que se disuelve posteriormente con facilidad (Rico et al., 2004). Es un proceso muy importante para la conservación y almacenamiento de las bacterias las cuales son sensibles al calor y a cualquier cambio ambiental que puede alterar su viabilidad. Tanto la liofilización como la criopreservación permiten la óptima supervivencia del microorganismo por un largo periodo de tiempo sin alterar sus características morfológicas y biológicas (P., et al., 1983)

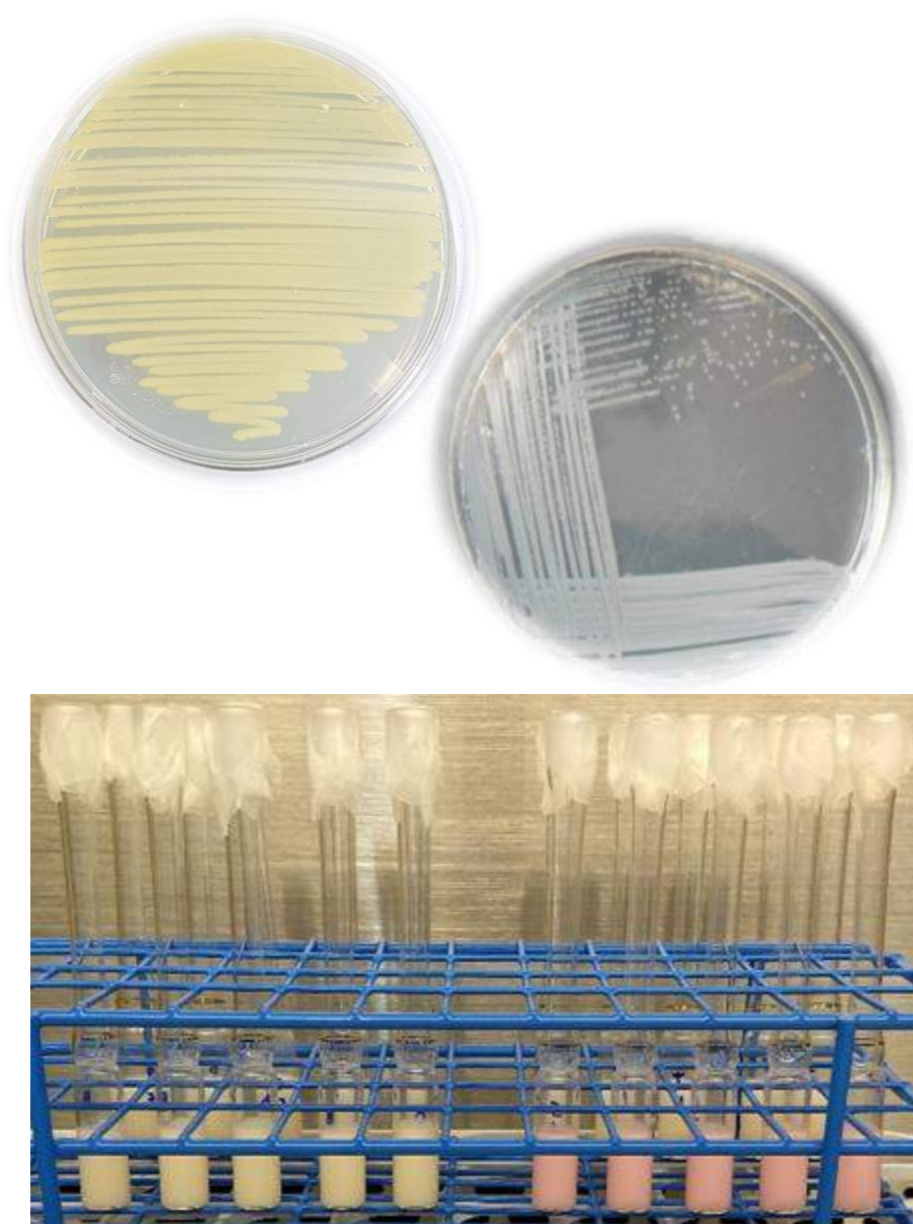
Objetivo

Conservar y resguardar las bacterias fitopatógenas del cepario del CNRF.
Estandarizar el método de liofilización.
Estandarizar la conservación a -20°C y -80°C

Materiales y Métodos

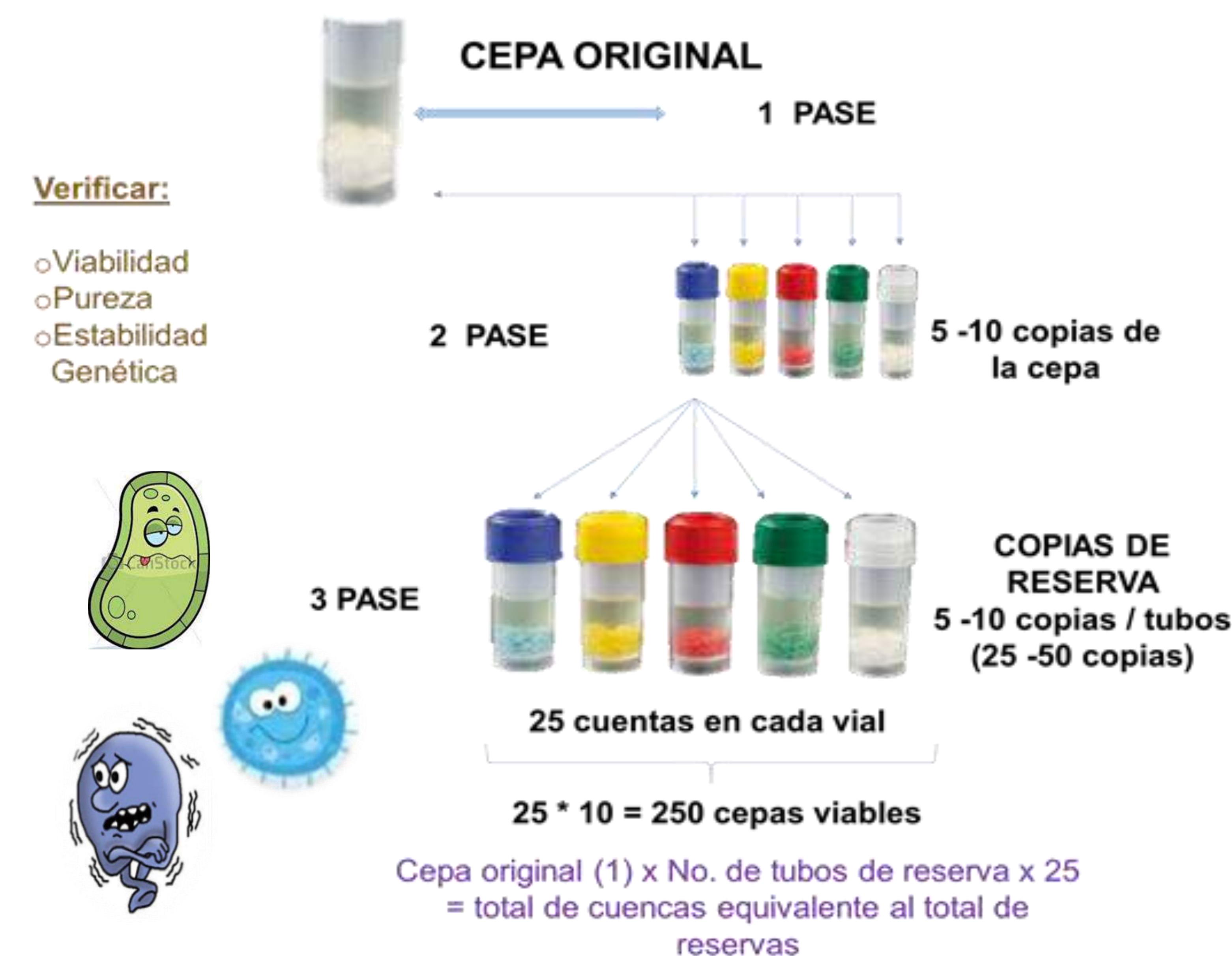
El trabajo se realizó en el Laboratorio de Bacteriología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) las cepas se obtuvieron de muestras vegetales que se reciben en el laboratorio para su diagnóstico y aislados bacterianos que se deben corroborar su identidad por medio de la caracterización e identificación.

Preparación de de la muestra. Se debe contar con el aislamiento bacteriano y verifica que se cumplan con los parámetros necesarios para poder ser procesada por el método de conservación. Los cuales son **PUREZA, ESTABILIDAD Y VIABILIDAD** a través de pruebas de rigor (Morfología colonial, tinción de Gram, catalasa, oxidasa) y en algunos caso se incluyen pruebas específicas para el genero; una vez verificada estas condiciones se procede a prepara la muestra.



Método lote-semilla

Consiste en tener el resguardo de la cepa original la llamada cepa madre, de ahí se obtienen la primer replica y posterior a esa se hacen las siembras que sean necesarias, conservando así la cepa original, de esta forma aseguramos que se mantengan las características originales.



Resultados

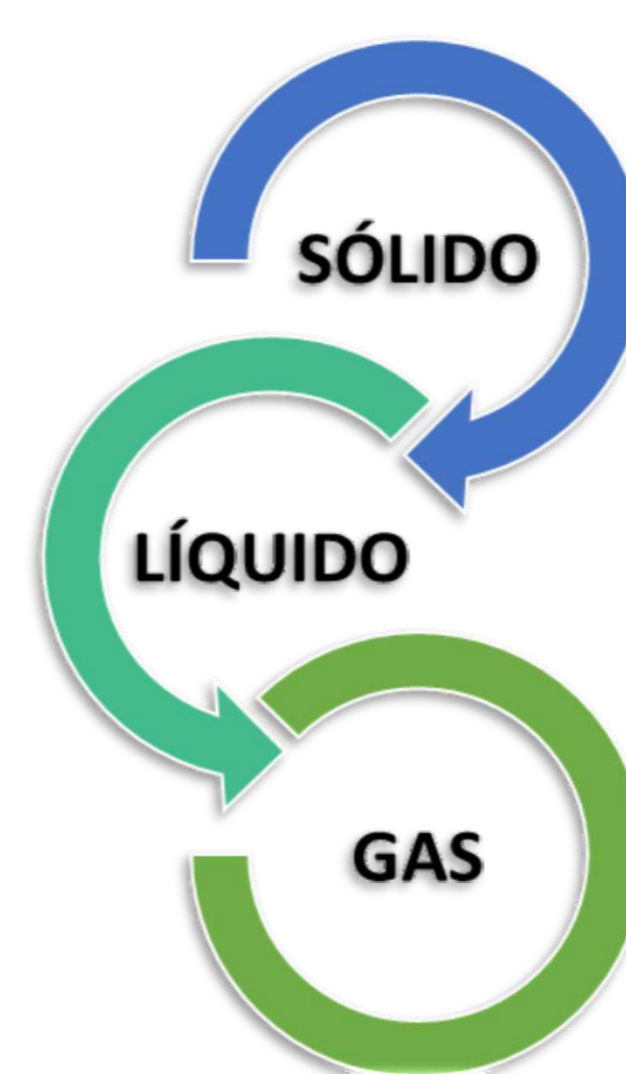
- Alto grado de pureza de las cepas bacteriológicas
- Estandarización del Proceso de liofilización, a la fecha se cuenta con 50 con sus replicas haciendo un total de 150 cepas liofilizadas, las cuales se encuentran almacenadas a temperatura ambiente.
- Se minimiza al máximo el riesgo de cambio genético en las células y las mantienen viables hasta por 10 años.
- Se obtiene un tiempo de supervivencia prolongado sin alterar características morfológicas y genéticas.
- Implementación del Sistema lote-semilla.
- Almacenamiento de 18°C a 20°C

Método de Liofilización

Es el método más utilizado para la conservación de microorganismos por las colecciones internacionales de cultivos.

Se basa en paralizar el metabolismo por deshidratación celular sometiendo la muestra a congelación y sublimación, las células son protegidas por un lioprotector.

La disminución en el contenido de humedad residual da lugar a un material compacto que se disuelve posteriormente con facilidad (Rico et al., 2004).



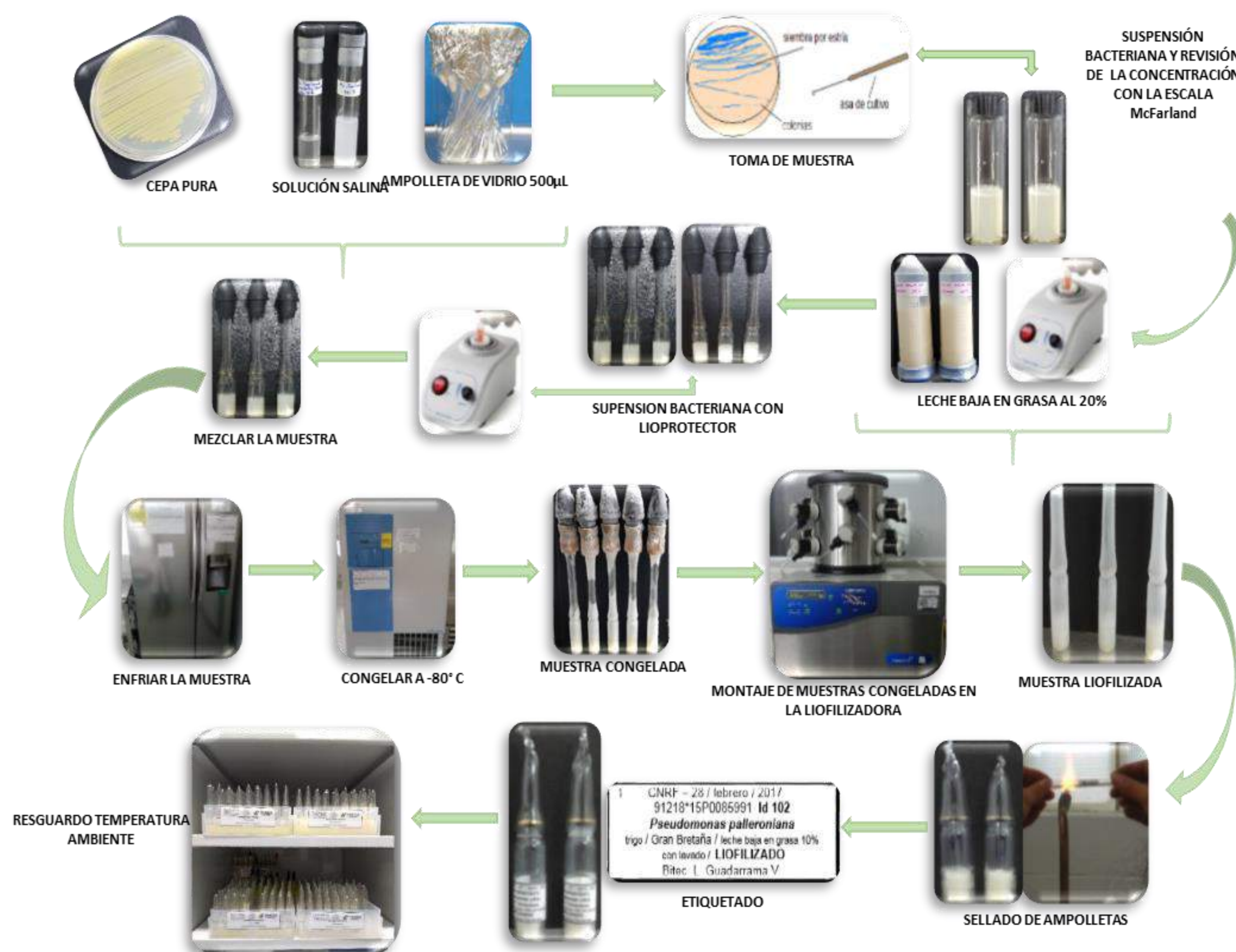
Se basa en la limitación del metabolismo celular por falta de agua: congelación y sublimación

Utilización de crioprotectores

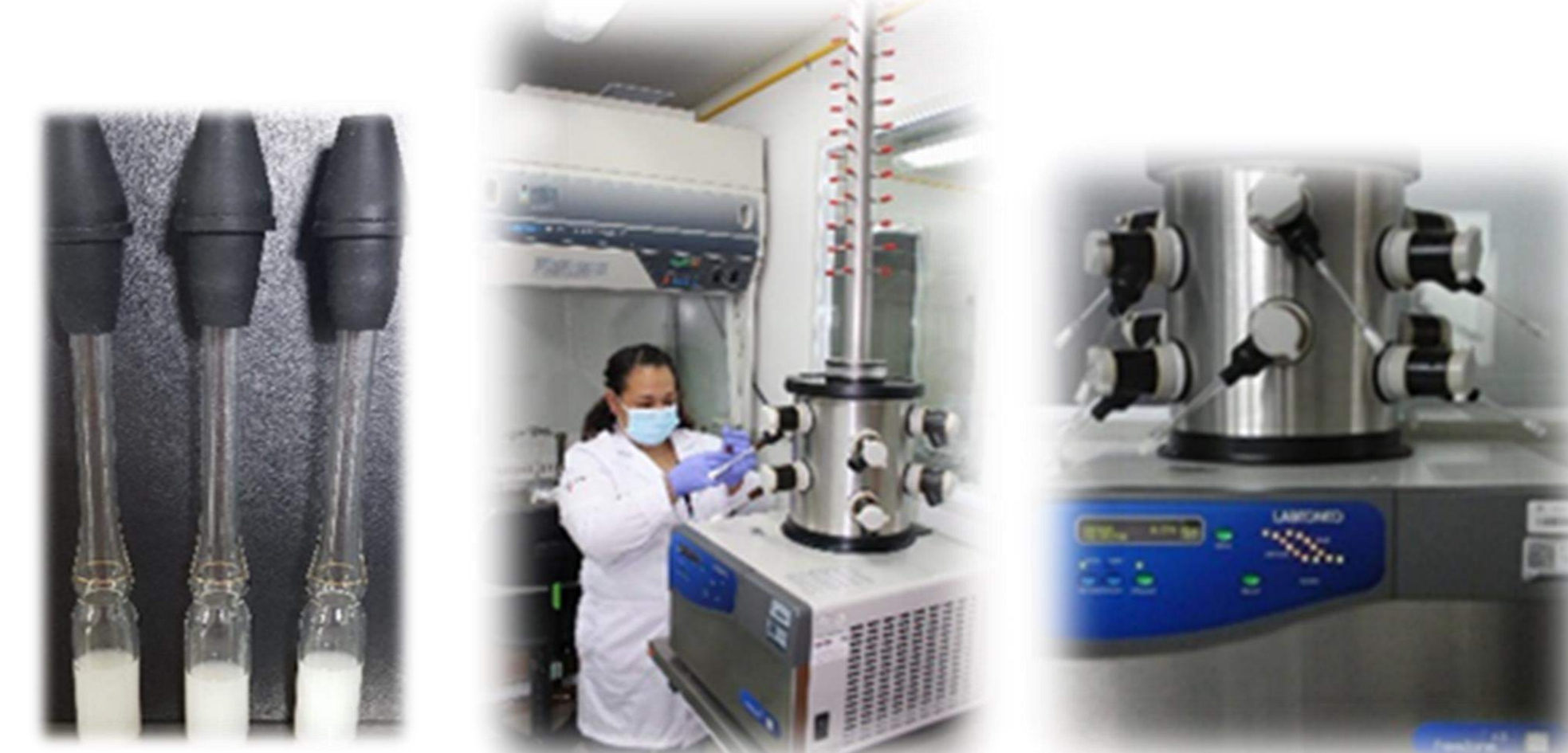
Su acción es proteger ala célula tanto en la etapa de congelación como en todo el proceso de liofilización.

Es permear la pared y membrana celular

PROCESO DE LIOFILIZACIÓN



Montaje



Resguardo



Bibliografía:

Rico, M. y otros, 2004. Variabilidad de cepas fúngicas conservadas mediante métodos. *Fabibib.* *P., C. F., G., J. P. & New, S. W., 1983. Plant Bacterial Diseases A Diagnostic Guide Sponsored. Australasian Plant Pathology SOCIETY.