

Autores: Ana Abigail Vega Aragón*¹ Bárbara Hernández Macías¹, Abel López Buenfil¹ Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. ana.vega.i@senasica.gob.mx

Introducción

El CNRF realiza las actividades de diagnóstico y referencia con oportunidad, transparencia y sustento científico, tiene como misión servir de referencia en la detección de plagas vegetales de manera oportuna, preservando la sanidad vegetal del país. Dentro de los principales fitopatógenos que afectan los cultivos se encuentran las bacterias, las cuales están distribuidas en todas las regiones agrícolas del mundo. Estos microorganismos atacan árboles, plantas, flores, frutos, semillas, etc., y se diseminan a través de material propagativo.

La preservación de bacterias fitopatógenas es de suma importancia, ya que permite la óptima supervivencia del ejemplar por diferentes periodos de tiempo sin alterar sus características morfológicas y biológicas (Fahy, Persley y South, 1983)

Con la finalidad de conservar las bacterias fitopatógenas como controles positivos e investigación, se tienen resguardados los ejemplares que han sido detectados a través de un diagnóstico eficaz y confiable, el Laboratorio de Bacteriología cuenta con distintas técnicas de caracterización de cepas bacterianas, aisladas de diversos cultivos nacionales e internacionales, las cepas son de suma importancia biológica, agrícola y económica. Esta colección servirá como material de referencia y de consulta, para personal relacionado con el diagnóstico e investigadores cuyos estudios contribuyan al manejo de plagas dentro del país.

Objetivo

Mantener vivo o en dormancia un cultivo celular por largos periodos
Contar con resguardo del material, que servirá de apoyo para la referencia
Mantener la viabilidad y las propiedades genéticas
Posteriormente reproductividad

Materiales y Método

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Bacteriología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) las cepas se obtuvieron de muestras que llegan a laboratorio para su diagnóstico y de verificaciones.

Es necesario contar con una buena caracterización e identificación

Preparación de de la muestra.

Tener una correcta caracterización del patógeno

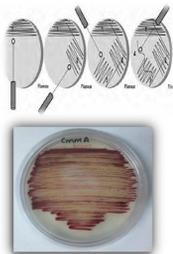
Activación de las cepas

- Conocer el patógeno
- Hacer el aislamiento en medios: generales, semiselectivos y selectivos

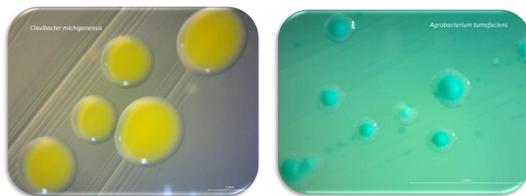


Siembra

- Estría cruzada
- Estría simple



Verificar la morfología colonial



Con la ayuda de un microscopio estereoscópico se observa que la colonia bacteriana este pura y la morfología corresponda al genero.

Verificar de puntos claves

- Cultivo (**PURO**)
- Que este viva (**VIABILIDAD**)
- No tenga cambios (**ESTABILIDAD GENETICA**)

Utilización de crioprotectores



Es importante usar un protector:
Leche descremada

Proceso de congelación

Enfriar a 4°C un par de horas
Posteriormente pasar -20°C "o" -80°C de ser



Resultados

- Estandarización del Proceso de conservación qa bajas temperaturas
- Se minimiza al máximo el riesgo de cambio genético en las células y las mantienen viables hasta por un periodo de 6 meses a 1 año.
- Con el método de crioconservación se cuenta con 50 y sus replicas con un total de 2250 cepas almacenadas a temperaturas de -20°C y -80°C
- Utilizando este método se obtiene un tiempo de supervivencia prolongado sin alterar características morfológicas y genéticas.
- Implementación del Sistema lote-semilla para conservar a -20°C y -80°C

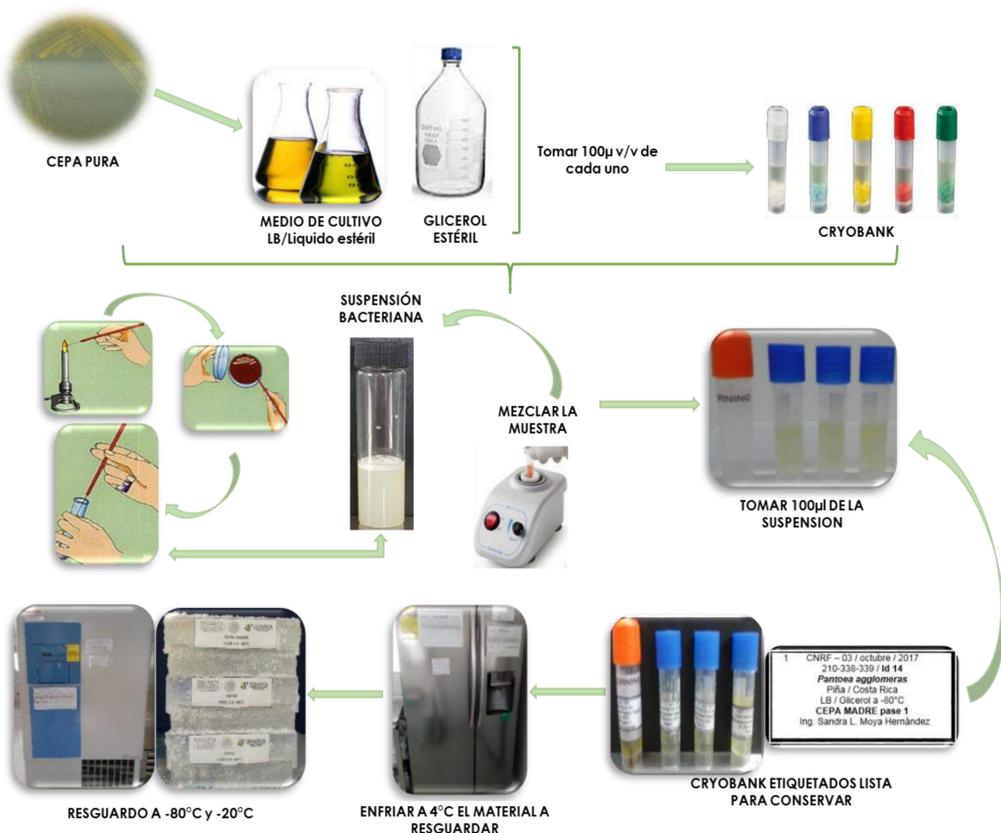
Método lote-semilla

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.



Conservación a -20°C y -80°C

Este método se basa en la limitación del metabolismo usando un agente protector que recubre la célula. Los llamados que actúan el proceso proceso de congelación el cual debe ser gradual para evitar daños.



Resguardo

OBJETIVOS

- Que el cultivo se conserve puro
- Que sobrevivan de 70-80% las células
- Permanezcan genéticamente estables



Bibliografía:

Fahy, P., Persley, S. 1983. Plant Bacterial Diseases. A Diagnostic Guide. Academic Press. Sponsored. Australasian Plant Pathology Society.