



Avicultura

Nº
107
ENE/
23

Publicación líder sobre empresas, productos y servicios de Avicultura

Fusión Pampa®
NUTRICIÓN Y SANIDAD ANIMAL

Distribuidor exclusivo de
CARVAL
en Argentina

Nutrición y Sanidad Avícola

Bs.As. • GRAL. RODRIGUEZ
SECTOR INDUSTRIAL PLANIFICADO
Tel.: 0237-4654603/40

C.A.B.A.
Cel.: 11 58797400

Córdoba • RÍO CUARTO
Tel.: 0358-4780129

La Pampa • SANTA ROSA
Tel.: 02954 415800/740220

/FusionPampa /Fusion_Pampa tecnica@fusionpampa.com www.fusionpampa.com

New Gen

Javier Beyer, Gte. de Producción
2664 400940
jbeyer@newgenb.com.ar

Jonatan Galeano, Gte. Comercial
113 916 0515
jgaleano@newgenb.com.ar

Colección de microorganismos en un laboratorio de microbiología: conservación del patrimonio genético



Mario A. Soria* (A) y Dante J. Bueno (A, B)

(A) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Concepción del Uruguay, Ruta Provincial 39 Km 143,5, 3260, Concepción del Uruguay, Entre Ríos, Argentina;

(B) Facultad de Ciencia y Tecnología, sede Basavilbaso, Universidad Autónoma de Entre Ríos, Barón Hirsch Nº 175, 3170, Basavilbaso, Entre Ríos, Argentina.

*Correo electrónico: soria.mario@inta.gov.ar

Introducción

Los microorganismos (también llamados microbios) son un grupo amplio y diverso de organismos microscópicos, que existen como células aisladas o asociadas; también incluye a los virus, que son microscópicos, pero no son células. Estos organismos están presentes en todas partes y juegan un rol fundamental en innumerables procesos naturales tales como, descomposición de materia orgánica, reciclaje de elementos químicos, fijación de nitrógeno en el suelo, entre otras. También pueden establecer relaciones simbióticas o ser causantes de enfermedades en humanos, animales, o plantas, pueden solubilizar minerales o ser productores de enzimas capaces de degradar compuestos tóxicos de desechos domésticos e industriales (Castro, 2020). La inversión cada vez menor en la taxonomía tradicional, la demanda creciente a una aproximación molecular, el continuo agotamiento de los recursos naturales y las preocupaciones sobre bioseguridad y cambios climáticos lleva a una mayor concientización acerca del valor de las colecciones de microorganismos (OECD, 2001). Las colecciones de microorganismos se identifican como depósitos de recursos biológicos y constituyen una manera esencial para conservar nuestra biodiversidad ex situ (Weng Alemán y col., 2003; González y Jiménez, 2014). Por ello, en este manuscrito se describirán las instituciones relacionadas a las colecciones de microorganismos, diferentes aspectos de este tipo de colecciones y los detalles de la colección de microorganismos del Departamento Avicultura del INTA EEA Concepción del Uruguay.

Instituciones relacionadas a las colecciones de microorganismos

La Federación Internacional de Colecciones de Cultivo (del inglés, World Federation for Culture Collection – WFCC-) es una Comisión Multidisciplinaria de la Unión Internacional de Ciencias Biológicas (Internacional Union Biological Sciences- IUBS-) y una Federación dentro de la Unión Internacional de Sociedades Microbiológicas (Internacional Union of Microbiological Societies – IUMS-). La WFCC se ocupa de la recolección, autenticación, mantenimiento y distribución de cultivos de microorganismos y células cultivadas. Su objetivo es promover y apoyar el establecimiento de colecciones de cultivo y servicios relacionados, servir de enlace y establecer una red de información entre las colecciones y sus usuarios, organizar talleres y conferencias, publicaciones y boletines y trabajar para asegurar la perpetuación a largo plazo de colecciones importantes (WFCC, 2017).

A nivel latinoamericano, existe la Federación Latinoamericana de Colecciones de Cultivos (FELACC), que fue instituida en el año 2004 para conformar una organización de especialistas en microbiología, cuyo objetivo es proveer un marco de acción unificada entre varios países de América Latina y El Caribe para el desarrollo y desenvolvimiento de las Colecciones de Cultivos de la Región, estableciendo un contacto efectivo entre las mismas, sus usuarios y personas u organismos comprometidos con estas colecciones (FELACC, 2004).

A nivel nacional, la Subcomisión de Colecciones de Cultivos Microbianos de la Asociación Argentina de Microbiología, plantea la conexión de las colecciones de cultivos argentinas para establecer un marco de acción unificada (Asociación Argentina de Microbiología, 2022). Para ello se propone fomentar el establecimiento y organización de colecciones, difundir y aplicar estándares de calidad internacionales, consensuar políticas de funcionamiento compartido y conocer y difundir las especies preservadas en las distintas colecciones.

Protección del recurso genético

La preservación de los microorganismos debe garantizar la viabilidad, pureza y estabilidad genética de los cultivos, características que coinciden con los objetivos de un buen método de conservación (Weng Alemán y col., 2005). El conocimiento de las peculiaridades de las diferentes técnicas de preservación existentes para su correcta aplicación, así como el seguimiento continuo de las propiedades de las cepas, propician su empleo como inóculo confiable en la industria, la docencia y la investigación (Gutiérrez-Jiménez y col., 2015). Entre las áreas que se ven beneficiadas con la preservación de microorganismos se encuentran la producción de alimentos, la generación de modelos de tratamiento para enfermedades, el desarrollo de tecnologías de diagnóstico, obtención de vacunas y el apoyo de estudios de epidemiología en enfermedades infecciosas (Castro, 2020).

La protección de los recursos microbiológicos de un territorio es indispensable para resguardar el patrimonio genético y para promover el desarrollo de innovación en biotecnología. Garantizar la reproducibilidad de resultados publicados en revistas científicas, tesis y procesos industriales que utilizan microorganismos, sólo se logra mediante la correcta preservación de estos en una colección de cultivos microbianos (Castro, 2020).

Según fundamentos de la Unión Internacional para Conservación de la Naturaleza (UICN), el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y el Fondo Mundial para la Vida Silvestre (WWF), la diversidad biológica debe conservarse como una cuestión de principio, ya que todas las especies merecen respeto, independientemente de si son o no de utilidad para la humanidad (Segura-Correa y Montes-Pérez, 2001). A pesar de los avances tecnológicos como la identificación y transferencia de genes, lo esencial es la disponibilidad del material genético nativo y es ahí donde surge la necesidad de mantener dichos recursos genéticos como amortiguadores frente a nuevos cambios, como por ejemplo cambios climáticos, presencia de nuevas enfermedades o modificaciones en el mercado; ya que dichos recursos genéticos representan un factor que disminuye los riesgos de la pérdida de alimentos (Segura-Correa y Montes-Pérez, 2001).

Es importante diferenciar el uso que pueden tener los recursos genéticos. Por un lado, los recursos genéticos pueden tener un uso comercial donde las empresas los utilizan para protección de cultivos, desarrollo de medicamentos, etc., o no comercial que incluye actividades que van desde la investigación taxonómica al análisis de ecosistemas (Anónimo, 2011).

Consideraciones básicas para una colección de cultivo

La WFCC recomienda (WFCC, 2010):

- 1) La amplitud de materiales y el número de cepas que se van a manejar requiere una consideración cuidadosa y una discusión con la organización madre y cualquier entidad financiera involucrada cuando se establece la colección, ya que esto tendrá implicancias financieras a largo plazo.
- 2) Si se mantienen cepas potencialmente patógenas para el hombre, los animales o las plantas, o producen compuestos tóxicos o alucinógenos, las mismas deben estar claramente etiquetadas y bajo control de seguridad; es obligatorio adherir a cualquier regulación de seguridad. Las legislaciones nacionales ejercen acción sobre este tema y muchos países requieren permisos o licencias para mantener, trabajar y distribuir estos microorganismos.
- 3) Las colecciones varían sustancialmente en su ámbito de acción con respecto al grupo de microorganismos que mantienen, importancia geográfica y orientación del grupo usuario. Es beneficioso establecer desde el comienzo qué tipo de colección se planea priorizar, ya que esta información es de gran valor tanto para potenciales depositantes de cepas como para aquellos que deseen adquirir cepas o requieran otros servicios.
- 4) Al considerar las cepas que se mantendrán, es económicamente prudente esforzarse en completar más que duplicar las que ya están disponibles en otras colecciones. Es deseable que las colecciones incluyan algunas cepas de referencia autenticadas reconocidas internacionalmente. Cuando sea posible, las nuevas colecciones de microorganismos que se establezcan deberían enriquecer en forma colectiva los recursos genéticos disponibles en el mundo más que duplicar los ya existentes.
- 5) Al determinar qué puntos fuertes debería tener una nueva colección con respecto a su contenido, se debe prestar especial atención a aquellas ya existentes en ese país o región, así como las que prestan servicios internacionales.

Todo microorganismo que va a ser conservado debe tener registros tales como fecha de colecta de sustrato, tipo de sustrato, coordenadas geográficas del lugar de colecta, nombre de la persona que colectó la muestra, fecha de aislamiento, identificación al menos al nivel de género, asignación de código de aislamiento, medio de cultivo para su crecimiento incluyendo, tiempo y temperatura de incubación (Sharma y col., 2019; Castro, 2020).

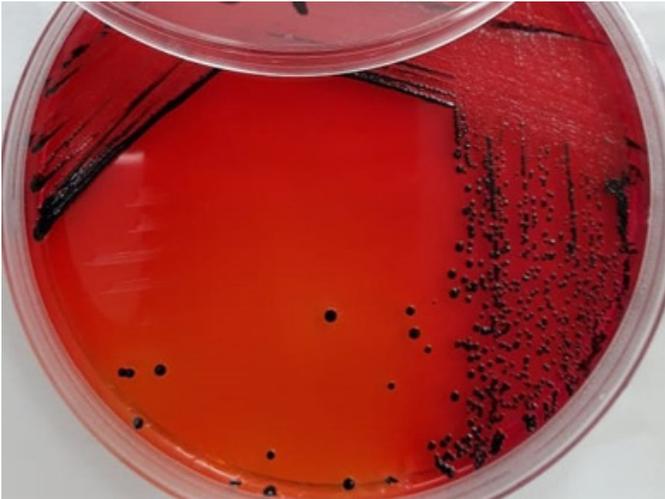
El método de conservación que se elija en los ceparios debe garantizar la supervivencia de al menos el 70 % de las células por un período considerable de tiempo, la conservación de las propiedades de importancia de los cultivos y minimizar la ocurrencia de los eventos genéticos (Weng Alemán, 2005). La preservación bacteriana se basa en la inactivación metabólica del microorganismo por diferentes metodologías, entre las cuales se destacan la preservación a corto, mediano y largo plazo (Weng Alemán, 2005; Arencibia y col. 2008; Anónimo, 2018; Sharma y col., 2019; Castro, 2020).

Colección de bacterias y hongos del Departamento de Avicultura, INTA EEA Concepción del Uruguay

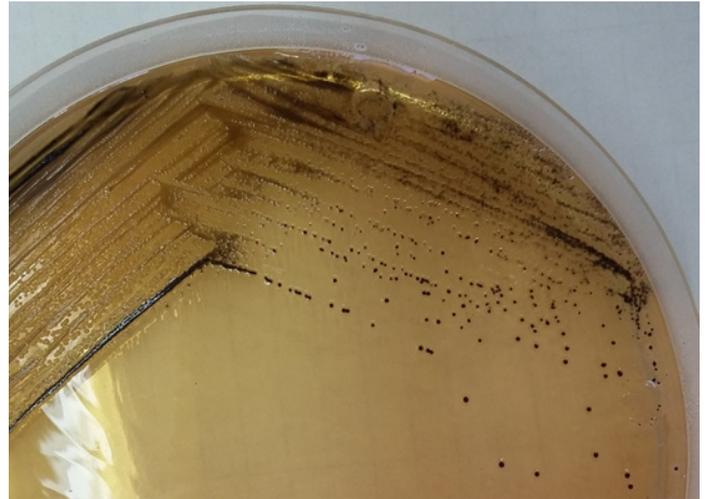
La colección de microorganismos (cepario) del sector de Bacteriología y Micología del Departamento Avicultura dependiente de la Estación Experimental Agropecuaria de INTA Concepción del Uruguay se inició en el año 2005 en el llamado Laboratorio de Sanidad Aviar de dicho INTA, con la finalidad de conservar cepas bacterianas y fúngicas de importancia en la avicultura. En julio del 2020 empezó el traslado de la colección al nuevo edificio de la Unidad de Investigación Avícola (UIA) del Departamento Avicultura del INTA nombrado anteriormente; lugar donde se encuentra actualmente. Es único en su tipo en Argentina por la variedad de microorganismos que conserva, garantizando su disponibilidad para actividades de docencia e investigación. El registro de este cepario cuenta con datos como identificación de la cepa dada por el acrónimo CUB (Concepción del Uruguay Bacteriología), fecha de ingreso al cepario, nombre del microorganismo, lugar del origen, origen del microorganismo, tipo de muestra donde se aisló.

Esta colección se caracteriza por la conservación de bacterias y hongos aislados de aves, sus productos y ambientes de las mismas a lo largo de Argentina. Este tipo de colección ha sido útil para estudios genómicos, de resistencia a los antimicrobianos, de fagos como terapia alternativa para el control de bacterias de importancia en avicultura y para pruebas de productos comerciales utilizados para el control de hongos y bacterias. Hasta diciembre de 2021 se contaba con un total de 3.496 aislamientos conservados, de los cuales 3.357 corresponden a cepas bacterianas y 139 a cepas de hongos. Las bacterias de la colección están representadas principalmente por aislamientos de *Salmonella* spp. También hay conservados aislamientos bacterianos correspondientes a *Avibacterium* spp., *Pasteurella* spp., *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp., *Yersinia* spp., *Enterobacter* spp., y *Pseudomonas* spp. En cuanto a los aislamientos de *Salmonella* spp. (Figura 1), en este cepario se cuentan con 83 serovariedades diferentes, las cuales, en su mayoría, provienen de trabajos de investigación (tesis doctorales, y de maestrías, y tesinas de grado) y, en menor medida de servicios. Con respecto a las cepas fúngicas conservadas, las mismas pertenecen al género *Aspergillus* spp.

Figura 1. Crecimiento de Salmonella spp. en medios selectivos y diferenciales



A: Agar xilosa lisina desoxicolato



B: Agar Salmonella-Shigella.



Dentro de los métodos de conservación de los microorganismos de este cepario, se utilizan dos distintos:

a-A corto plazo (Figura 2), donde las cepas bacterianas se conservan en agar nutritivo a una temperatura de 4 °C. Es el método más simple para mantener la viabilidad de los microorganismos.

Figura 2. Conservación de cepas a corto plazo.

B -A largo plazo (Figura 3), donde las cepas bacterianas se conservan en medio para congelación a una temperatura de $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Figura 3. Conservación de cepas a largo plazo

Como centro de investigación, se necesita contar con cultivos confiables para las investigaciones. Por lo tanto, existe un fuerte deseo de conservación a largo plazo de los recursos genéticos para uso presente y futuro. En este contexto, el cepario del Departamento Avicultura de la Estación Experimental Agropecuaria de INTA Concepción del Uruguay juega un papel crucial en el mantenimiento, conservación y utilización de microorganismos de importancia avícola tanto regional como nacional

Agradecimientos

Los autores agradecen a los tesisistas, que permitieron incorporar microorganismos al cepario del Departamento Avicultura del INTA EEA Concepción del Uruguay. Este trabajo fue realizado gracias a subsidios de INTA (2019-PE-E7-I147-001; 2019-PD-E5-I103-001; 2019-PD-E5-I104-001; Red de Recursos Genéticos -RIST I 112- de INTA) y de la Universidad Autónoma de Entre Ríos (PIDAC “Detección de *Salmonella* spp. en aves y ambientes avícolas y resistencia a los antibióticos utilizados en salud humana y sanidad de las aves”).

Referencias (Consultadas el 7 de diciembre de 2022)

- Anónimo, 2011. Usos de los recursos genéticos. Convenio sobre la diversidad biológica: ABS. Canadá. <https://www.cbd.int/abs/infokit/revised/web/factsheet-uses-es.pdf>
- Anónimo. 2018. Manual de Preservación. Colección de Cultivos Servicio Bacteriología Especial Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".
- Asociación Argentina de Microbiología. 2022. Colecciones de cultivos microbianos. <https://www.aam.org.ar/comisiones-de-trabajo/subcomisiones/3>
- Castro F., Jean Franco (Ed.) 2020. Conformación de colecciones de cultivos microbianos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chillán, Chile. Boletín INIA N° 428, 186 p.
- González G.D.M., y Jiménez Q.J.N. 2014. Colecciones microbianas: Importancia, establecimiento y regulación. *Hechos Microbiológicos*, 4, 23–33.
- Gutiérrez-Jiménez, J., Luna-Cazáres, L.M., Mendoza-Orozco, M.I., Díaz-Marina, G., Burguete-Gutiérrez, J.C., y Feliciano-Guzmán, J.M. 2015. Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), México. *Rev Soc Ven Microbiol.* 35, 95-102.
- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M., D.A. Stahl. 2019. *Brock Biology of microorganisms*. Pearson Education Limited, United Kingdom.
- OECD. 2001. *Biological Resource Centres: Underpinning the future of life sciences and biotechnology*. OECD Publications, Paris, France. pp 66.
- Segura-Correa, J.C., Montes-Pérez, R.C. 2001. Razones y estrategias para la conservación de los recursos genéticos animales. *Rev Biomed.* 12(3):196-206.
- Sharma, S. K., Saini, S., Verma, A., Sharma, P. K., Lal, R., Roy, M., Singh, U., Saxena A.K., & Sharma, A. K. 2019. National agriculturally important microbial culture collection in the global context of microbial culture collection centres. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 89 (2), 405-418.
- UICN, PNUMA y WWF. 1991. *Cuidar la Tierra. Estrategia para el futuro de la vida*. Suiza: Gland; 1991. p. 142.
- Weng Alemán, Z., Díaz Rosa, E., Álvarez Molina, I. 2005. Conservación de microorganismos: ¿qué debemos conocer? *Rev. Cuba Hig. y Epidemiol.* 43(3), 1-4.
- Weng Alemán, Z., Junco Díaz, R., Díaz Rosa, OE. 2003. Colección de cultivos microbianos: Apuntes sobre su desarrollo. *Rev. Cuba Hig Epidemiol.* 41(1).
- WFCC. 2017. About WFCC. https://wfcc.info/about_view
- World Federation for Culture Collections guidelines. 2010. https://wfcc.info/static/pdf/Guidelines_e.pdf