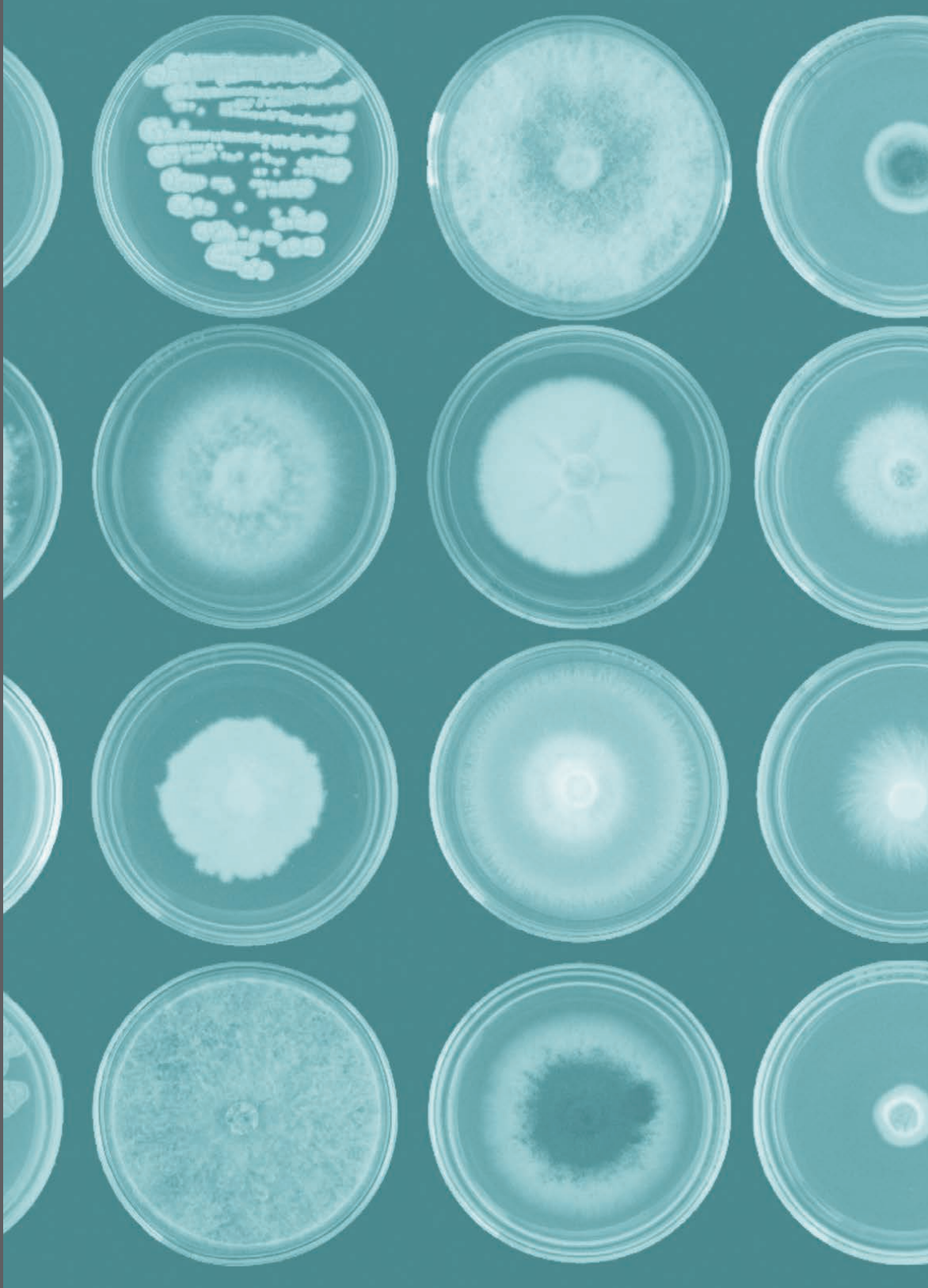


1

Introducción a las colecciones de cultivos microbianos



Capítulo 1

Introducción a las colecciones de cultivos microbianos

Jean Franco Castro F.
Bioingeniero, Dr., INIA Quilamapu

1.1. Los microorganismos y la importancia de preservarlos

La microbiología es una disciplina de la ciencia que se encarga de estudiar aquellos organismos de pequeño tamaño que no pueden ser visualizados a simple vista, si no que a través de un microscopio. Estos organismos son conocidos como microorganismos.

Los microorganismos pueden ser clasificados en procariontes y eucariontes. Los primeros no poseen organelos delimitados por membrana y su material genético se encuentra libre en el citoplasma, mientras que los segundos sí poseen organelos delimitados por una membrana y su material genético se encuentra confinado en una estructura llamada núcleo. En el grupo de los procariontes se encuentran las bacterias y arqueas, todos organismos unicelulares, a diferencia del grupo de los eucariontes, compuesto por hongos, protistas, plantas y animales, los cuales son organismos pluricelulares, a excepción de los protistas que en su mayoría son unicelulares. Los microorganismos 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 plantas, animales o insectos, pueden solubilizar minerales o ser productores de enzimas capaces de degradar compuestos tóxicos de desechos domésticos e industriales.

Debido a su versatilidad en la realización de múltiples funciones, los microorganismos tienen una amplia aplicación en procesos industriales para la obtención de productos biotecnológicos de utilidad para la humanidad (Cuadro 1.1.). Desde el punto de vista económico y según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), la biodiversidad y la preservación de los recursos genéticos entregan la materia prima para el desarrollo de productos biotecnológicos en países desarrollados y emergentes. Dada la gran cantidad de ejemplos que señalan que los microorganismos pueden proveer soluciones a los problemas mundiales en salud pública, ambiente, entre otras, es crucial que esta diversidad microbiana no se pierda y que sea identificada, caracterizada y explotada de una manera sostenible en el tiempo para el beneficio de toda la sociedad.

En este contexto, para preservar la biodiversidad microbiológica es necesario disponer de un lugar seguro y adecuado para mantener las propiedades genotípicas y fenotípicas originales de los microorganismos, asegurando la reproducibilidad en los procesos industriales o de investigación en que se utilizan. Estos lugares existen y son denominados *colecciones de cultivos microbianos*, los cuales tienen como misión la preservación de los microorganismos por largos períodos de tiempo en forma pura y viable.

Cuadro 1.1. Principales usos de los microorganismos en procesos industriales.

Industria	Aplicación
Alimentaria	Producción de yogurt, queso, pan, vinagre.
Minera	Lixiviación de minerales de baja ley.
Agrícola	Control biológico de plagas y enfermedades, promoción de crecimiento de plantas.
Bebidas alcohólicas	Producción de vinos y cervezas.
Farmacéutica	Producción de antibióticos y vacunas.
Medioambiental	Remediación de suelos o efluentes contaminados, degradación de compuestos clorados, degradación de plásticos.

1.2. ¿Qué es una colección de cultivos microbianos y cuál es su función?

Una colección de cultivos microbianos es una entidad que preserva la diversidad de los recursos genéticos microbianos de forma *ex situ*. En otras palabras, se encarga de mantener componentes de la biodiversidad fuera de

sus hábitats naturales de forma ordenada, pura y viable. Su misión se puede resumir en tres grandes objetivos: (i) preservar microorganismos por largos períodos de tiempo, (ii) recibir depósitos o donaciones de microorganismos, donde cada colección de cultivos microbianos establece el número de cepas o grupos microbianos específicos para recibir; (iii) distribuir o suministrar cepas correctamente identificadas a la comunidad científica o industrial (Figura 1.1.).

En términos generales, las actividades realizadas en una colección de cultivos se enmarcan en la preservación y en la autenticación del material preservado, es decir, en la correcta identificación de un microorganismo a nivel de género y especie de acuerdo a las taxas válidamente publicadas, utilizando claves taxonómicas basadas en morfología, marcadores moleculares y propiedades bioquímicas del microorganismo.

Toda colección de cultivos tiene que ser correctamente administrada, lo cual implica llevar un registro al día de todos los microorganismos preservados y su respectiva identificación dentro de un sistema de gestión de calidad, con procedimientos de trabajo establecidos y estrictas medidas de bioseguridad para garantizar la seguridad de sus trabajadores y del entorno. Estas actividades son arduas y demandantes de tiempo, las cuales requieren de un equipo multidisciplinario de profesionales especializados y constantemente capacitados en ámbitos de manipulación de microorganismos y en gestión de calidad.

Otra de las labores de una colección de cultivos es vincularse con el medio científico e industrial para apoyar sus actividades de investigación y desarrollo, a través de asesorías, prestación de servicios y distribución de microorganismos a terceros cuando sea requerido. De este modo, una colección de cultivo debe utilizar sistemas de preservación para mantener los microorganismos puros y viables en el tiempo, que aseguren la estabilidad genética y sus características fenotípicas originales para ponerlos al servicio de la comunidad. Para garantizar la vinculación con el medio, se recomienda la confección de un catálogo de cepas y una paleta de servicios, disponibles en internet para que cualquier solicitante pueda obtener la información de la cepa o servicios que desee solicitar.

Dependiendo del tipo de la colección de cultivos, existen diferentes categorías en las cuales un cultivo microbiano puede ser depositado:

a) Depósito público. El microorganismo y la información asociada a este queda disponible para la comunidad y, por tanto, puede ser solicitado por cualquier

persona asociada a alguna institución que demuestre disponer de instalaciones para el trabajo con microorganismos; el objetivo principal es la protección de la biodiversidad.

b) Depósito privado. Toda información asociada al depósito y al microorganismo queda bajo confidencialidad y, en este caso, la cepa sólo puede ser solicitada por el depositante; el objetivo es la valoración comercial.

c) Depósito privado para fines de patentamiento. Sólo puede ser realizado en colecciones de cultivo con la categoría de Autoridad Internacional de Depósito (IDA), otorgado por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI) e implica que el microorganismo permanece preservado por al menos 30 años bajo los términos que estipula el Tratado de Budapest, para el resguardo de la propiedad industrial de una invención que involucre el uso de microorganismos.



Figura 1.1. Principales funciones de una colección de cultivos microbianos.

1.3. Colecciones de cultivos en el contexto internacional

Sin lugar a dudas, las colecciones de cultivo juegan un rol importante en la preservación *ex situ* de microorganismos, entregando una fuente de recursos microbiológicos para apoyar las investigaciones en biotecnología, y ofreciendo servicios a la comunidad, ya sea para depósitos de microorganismos en catálogos públicos, privados o para fines de patentamiento. Según cifras de la *World Data Centre for Microorganisms* (WDCM), y el *Culture Collections Information Worldwide* (CCINFO), existen 798 colecciones de cultivos registradas en esta base de datos, provenientes de 78 países, las cuales en conjunto preservan más de 3 millones de microorganismos, comprendiendo un gran número de especies y subespecies entre las que destacan las de hongos y bacterias. Estas cifras respaldan la labor y la importancia que tienen las colecciones de cultivo en el ámbito de la preservación de la diversidad microbiana a nivel mundial (Figura 1.2.).

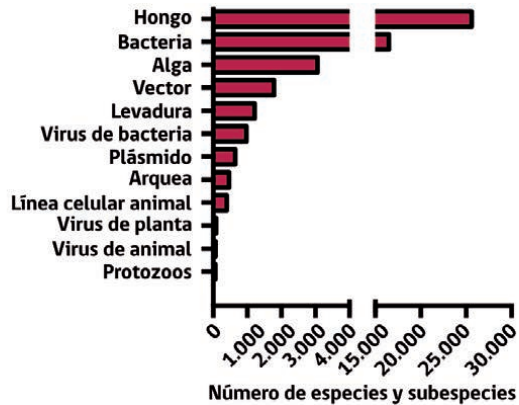


Figura 1.2. Número de especies y subespecies depositadas en colecciones de cultivo a nivel mundial, según datos de 2019 de la *World Data Centre for Microorganisms* (WDCM).

Las primeras colecciones de cultivos del mundo comienzan a aparecer en Europa hacia fines del siglo XIX, siendo la establecida por el profesor Frantisek Král en el año 1890 en la Universidad Alemana de Praga (República Checa) la primera colección de cultivos microbianos del mundo (Figura 1.3.). Posteriormente, otras colecciones de cultivo de importancia en la actualidad fueron establecidas en Estados Unidos, por ejemplo, la Colección Americana de Cultivos Tipo (1925, *American Type Culture Collection*, ATCC) y la colección de cultivo del Servicio de Investigación en Agricultura (*Agricultural Research Service*, ARS) que se establece en el año 1940 por el departamento de agricultura de ese país. En el Reino Unido, el Centro de Biociencia y Agricultura Internacional (*Centre for Agriculture and Bioscience International*, CABI) establece una colección de cultivo en el año 1947, bajo el nombre de Colección de Recursos Genéticos CABI (*CABI Genetic Resource Collection*), la cual ha tenido una destacada participación en taxonomía de hongos y en la agricultura a nivel mundial. Otras colecciones de importancia aparecen en España (1960, Colección Española de Cultivos Tipo, CECT) y en Alemania (1969, *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen*, DSMZ) las cuales están activas y vigentes hasta nuestros días, siendo referentes en temas de preservación y distribución de cepas microbianas a nivel mundial.

En el año 2012, el gobierno de Chile adhiere al Tratado de Budapest y, a través de los ministerios de Economía, Agricultura y Relaciones Exteriores, inaugura la Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos (CChRGM) bajo el alero del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), siendo la primera Autoridad

Internacional de Depósito (IDA) a nivel latinoamericano, y en la actualidad es un referente en Chile y en el extranjero sobre el depósito de microorganismos.

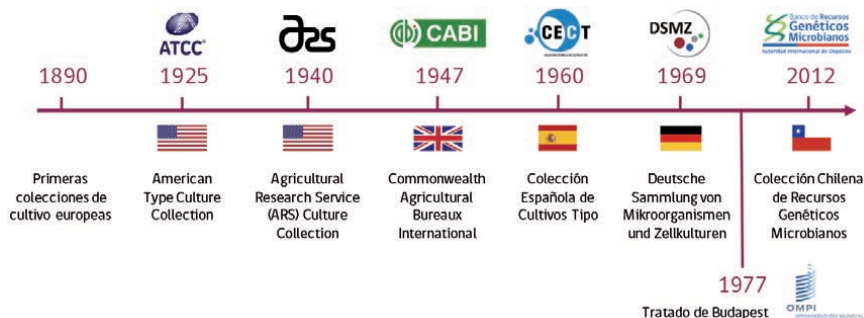


Figura 1.3. Línea de tiempo sobre el establecimiento de algunas colecciones de cultivos y el Tratado de Budapest.

1.4. El Tratado de Budapest y el reconocimiento internacional del depósito microbiano

Las colecciones de cultivos que ofrecen servicios de preservación bajo la categoría de depósito privado para fines de patentamiento se encuentran bajo el marco regulatorio del Tratado de Budapest (1977). Este tratado fue impulsado por la OMPI para crear un sistema internacional uniforme de depósito de microorganismos para fines de patentamiento. Así, ciertas colecciones de cultivo en el mundo fueron reconocidas como "Autoridad Internacional de Depósito" o IDA, dado que el país contratante del Tratado nominara formalmente a una colección de cultivo que asegure la preservación del material microbiano de forma íntegra, pura y viable en el tiempo, dando cumplimiento a estándares y requerimientos del Tratado.

La importancia de este tratado es que todos los países contratantes reconocen el depósito de un microorganismo en una colección IDA, sin importar el país en que se encuentre dicha autoridad, lo que significa que se suprime el requisito de depositar el microorganismo ante cada una de las autoridades nacionales en las que se desea obtener protección de la invención mediante patente, siendo una vía costo-efectiva para todas las invenciones que buscan protección. De esta forma, se establece el reconocimiento internacional del depósito de microorganismos para los procedimientos de patentes mediante la realización de un depósito único, sin necesidad de depositar múltiples muestras, país por país, donde se requiera la protección de la invención.

Este depósito único debe realizarse en colecciones de cultivos IDA reconocidas por la OMPI, ya que cumplen con estándares internacionales de preservación, protección del material biológico y donde la muestra almacenada queda disponible para ser distribuida por autorización del depositante. De las colecciones de cultivo registradas a nivel mundial, sólo 48 poseen la categoría de IDA (actualizado a septiembre, 2020). Entre todas las colecciones de cultivos se han preservado un total de 107.890 accesiones microbianas entre los años 2001 y 2018 (Cuadro 1.2).

Cuadro 1.2. Cepas microbianas depositadas en una colección microbiana con la categoría de Autoridad Internacional de Depósito en el mundo (2001-2018). (Fuente: información publicada por la OMPI).

País	Número de cepas depositadas en una Autoridad Internacional de Depósito (IDA)
Estados Unidos	37.192
China	25.654
Japón	11.150
Alemania	8.379
Corea del Sur	7.174
Reino Unido	5.510
Francia	4.716
Países Bajos	1.314
España	1.120
India	1.067
Bulgaria	1.012
Bélgica	925
Australia	615
Canadá	504
Rusia	378
Hungría	352
Polonia	309
República Checa	131
Italia	130
Chile	92
Letonia	71
México	49
Finlandia	41
Eslovaquia	5
Suiza	0

1.5. Objetivo del presente boletín

El objetivo de este boletín es servir de guía al investigador, encargado de laboratorio, gerente de I+D o estudiante sobre los requerimientos mínimos necesarios para implementar y mantener una colección microbiana en un laboratorio de forma ordenada y con trazabilidad de los procedimientos. En los siguientes capítulos, se abordarán temas prácticos sobre la conformación de una colección de cultivos, basándose en la experiencia adquirida por el personal de la Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos y del Banco de Recursos Genéticos Microbianos del Instituto de Investigaciones Agropecuarias en estas materias.

1.6. Literatura consultada

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.

Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P. K. (2016). Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, 6(2), 174.

Smith, D. (2003). Culture collections over the world. *International Microbiology*, 6(2), 95-100.

WDCM (2019). WDCM CCINFO Cover. Retrieved December 28, 2019, from <http://www.wfcc.info/ccinfo/>.

World Federation for Culture Collections (WFCC). (2010). For the establishment and operation of collections of cultures of microorganisms. 3rd Edition. 06/11/2019, de World Federation for Culture Collections (WFCC) Sitio web: http://www.wfcc.info/pdf/Guidelines_e.pdf

WIPO (2010). World Intellectual Property Indicators 2018. Geneva: *World Intellectual Property Organization*, 113-115.

WIPO (2018). World Intellectual Property Indicators 2018. Geneva: *World Intellectual Property Organization*, 72.