

Evaluación del método de siembra en placa "traza de la dilución" en el control de calidad de bancos de mutantes de *Escherichia coli* K12

Diliana C Pérez Reytor, Iveldris Domínguez Vázquez, ✉ Ángela E Sosa Espinosa

Laboratorio Colección Central de Microorganismos. Departamento de Seguridad y Ambiente. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Ave 31 e/ 158 y 190. Playa, Ciudad de La Habana, AP 6162, CP 10600, Cuba. Telf.: (53-7) 2718070; Fax: (53-7) 336008; E-mail: angela.sosa@cigb.edu.cu

RESUMEN

El método que más se usa para la enumeración de microorganismos viables requiere de diluciones seriadas de la muestra seguida de la dispersión de 50 a 100 μ L de cada dilución en medio sólido. En general para alcanzar una buena exactitud las diluciones se hacen por triplicado. Después de un tiempo de incubación, las colonias se cuentan y se estima la concentración bacteriana en la muestra original. Esta técnica es relativamente exacta pero tiene la desventaja de implicar el uso de una gran cantidad de materiales y de tiempo. Recientemente se desarrolló un método alternativo para la cuantificación de microorganismos viables llamado "método de la traza de la dilución" que reduce el tiempo y la cantidad de materiales. Con esta técnica la muestra con un número de bacterias desconocidas se siembra en una sola placa con agar nutriente. En este trabajo se aplicó el método traza de la dilución al control de calidad de bancos de ocho cepas mutantes de *E. coli* K12 con el objetivo de reducir los costos y observar si no hay afectación en la calidad de los resultados. Además de las ventajas en cuanto a costo y simplicidad, se encontró que en el caso de la verificación de cepas este método permitió una mejor caracterización de las mismas al poder comparar en una misma placa el comportamiento fenotípico de diferentes cepas. El método propició además tener un criterio acerca de la pureza de los bancos debido a que crecen todas las diluciones que se hacen del cultivo.

Palabras claves: chequeo *E. coli*, enumeración de bacterias, fenotipo *E. coli*, método simplificado

Biotecnología Aplicada 2002;19:169-173

ABSTRACT

Evaluation of the track dilution plating method in the quality control of mutant banks of *Escherichia coli* K12.

The most used method for bacterial enumeration requires successive dilutions followed by dispersion of 50-100 μ L of each dilution in plates that contain solid medium. In general, in order to achieve a good accuracy in the determination, the dilution is made for triplicate. After a time of incubation, the colonies are counted and the concentration of viable cells in the original sample is esteemed. This technique is relatively exact but has the disadvantage of implying the use of a great amount of materials and time. Recently, researchers unfolded an alternative method for counting viable cells, which reduces time and the amount of materials used. This method was termed "method of track dilution". In this method all the dilutions of unknown bacteria are inoculated in a single plate. In the Center for Genetic Engineering and Biotechnology, in Havana, Cuba, the method of track dilution was applied to verify eight strains of *E. coli* K12, mutants with the aim of reducing the costs and observe if the quality of the results is not affected. We found that besides the well-known advantages as for cost and simplicity, in the case of strain verification this method permitted a better phenotypic characterization of several strains in a same plate. The method allowed also to have an approach of the purity.

Keywords: bacterial enumeration, *E. coli* phenotype, single method, *E. coli* verification

Introducción

Muchas aplicaciones microbiológicas requieren de una determinación del número de bacterias presentes en una muestra. En un laboratorio especializado del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) de La Habana, Cuba, como parte del control de calidad de los bancos que conforman la colección, se verifica la viabilidad y el fenotipo de mutantes auxotróficos y fermentativos de *E. coli*. Este tipo de prueba es muy influenciado por la pureza de la muestra y cualquier contaminación puede alterar el resultado.

Existen diferentes criterios para el cálculo de los viables [1, 2]. El número más probable (NMP) [3] es usado particularmente para muestras con bajas concentraciones de microorganismos, especialmente para leche y aguas. Sólo los organismos viables son enumerados por la determinación del NMP. Las bacterias en la muestra en cuestión pueden estar unidas formando

cadena que no son separadas por la preparación, por tanto, el NMP es considerado como un estimado de la densidad de unidades de crecimiento microbiano por mililitro de muestra. La experiencia indica que cuando para este tipo de chequeo se utilizan diluciones seriadas que permiten el aislamiento de las colonias sobre la superficie de un medio con agar, el resultado es más confiable.

Existen diferentes métodos de siembra sobre medios sólidos para el conteo total de aerobios, los más conocidos son extensión en placa y verter en placa [4].

En los últimos años la literatura ha publicado pocos estudios acerca de métodos de enumeración bacteriana por lo que la cuantificación se realiza en muchos casos por los métodos tradicionales [4, 5]. En los métodos convencionales se utilizan un gran número de placas para lograr homogeneidad en los datos pero ya se han

1. Koch AL. Bacterial growth and form. New York: Chapman and Hall; 1995

2. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Biology of Microorganisms. Oxford (England): Blackwell Scientific Publications; 1997.

3. Woormer P, Bennet J, Yost R. Overcoming the inflexibility of most-probable-number procedures. *Agron J* 1990;82:349-53.

4. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual. Cold Spring Harbor University: Cods Spring Harbor University Press; 1992.

5. Jett BD, Hatter KL, Huycke MM, Gilmore MS. Simplified agar plate method for quantifying viable bacteria. *Biotechniques* 1997;23:648-50.

desarrollado métodos de siembra simplificados con el objetivo de reducir la manipulación [5-8].

El método más usado para la enumeración de unidades formadoras de colonias (ufc) incluye diluciones seriadas del cultivo seguidas de la dispersión de 50-100 µL de cada dilución sobre la superficie de un medio con agar. Para alcanzar una buena exactitud en la determinación, la dilución se realiza por triplicado [4]. Después de un tiempo de incubación, las colonias se cuentan y se estima la concentración bacteriana para la muestra original. Esta técnica es relativamente exacta pero tiene la desventaja de implicar el uso de una gran cantidad de materiales y de tiempo. Para eliminar esta desventaja Miles y Misra describieron en 1938 un método donde se inocula sobre la superficie de la placa una sola gota de cada dilución la cual tiene un volumen aproximado de 50 µL de la suspensión celular; de esta forma en una placa se siembran cuatro diluciones [6].

Otro método desarrollado es el de conteo de placas en espiral [7, 8] donde se usa un dispensador mecánico que inocula una muestra líquida sobre la superficie de agar en placas de 100-150 mm siguiendo una distribución en espiral. En el método el volumen de muestra dispensado decrece a partir del centro hasta los extremos a medida que ocurre la rotación de la placa sin hacer diluciones previas de la muestra. La concentración microbiana es determinada por el conteo de las colonias en la parte de la placa donde éstas sean más fácilmente contables, y se divide por el volumen dispensado en ese sector de la placa en que se cuenta. Este método tiene ventaja sólo si la concentración celular no excede de 5×10^6 ufc/mL ya que a estas concentraciones es necesario realizar diluciones adicionales que permitan el conteo. Este método es utilizado para la evaluación de pureza en muestras con bajo contenido de microorganismos como en leche, alimentos y cosméticos [7, 8].

En 1997 Jett y colaboradores [5] desarrollaron un método para el conteo de las células viables en muestras gastrointestinales de roedores, al que llamaron "traza de la dilución". Este método es similar al de Miles y

Misra [6] pero se diferencia en que una gota de cada dilución se deja correr por la superficie del agar.

En este trabajo se modificó el método de la traza de la dilución en dos aspectos: el tipo de placa de siembra empleado y en que la técnica se aplicó no sólo para el recuento de gérmenes como describieron sus autores sino también a la verificación de mutantes auxotróficos y metabólicos de *E. coli* [5].

El objetivo de este trabajo es aplicar el método de siembra "traza de la dilución" en las determinaciones de control de la calidad de los bancos de cepas que tienen un número de 10^9 ufc/mL y que se realizan de rutina en el laboratorio de la colección central de microorganismos del CIGB. La verificación de ocho mutantes sirvió para evaluar los resultados.

A pesar de que para las determinaciones de control de la calidad la concentración de la muestra que se emplea es superior en tres o cuatro órdenes de magnitud con relación a las muestras para la cual el método que se aplica fue descrito, el interés de lograr reducción de los costos y una mayor simplicidad en las determinaciones sin afectar la calidad, motivó a los autores a la realización de esta investigación.

Materiales y Métodos

Todas las cepas que constituyen la colección del laboratorio y que se utilizaron en este trabajo son mutantes derivados de *E. coli* K12 que se encontraban conservadas por ultracongelación en glicerol a -70 °C. Sus características genéticas y fenotípicas se describen en la Tabla 1.

Confección de los bancos de trabajo

En todos los casos las cepas provinieron de un banco primario conservado en medio Luria-Bertani (LB) [4] suplementado con glicerol al 15% conservado a -70 °C. Se inocularon 100 µL de cada cepa en erlenmeyers con 100 mL de medio LB y se mantuvieron a 37 °C y 250 rpm de agitación durante 6 h para propiciar el crecimiento. Los cultivos se centrifugaron a 3 200 rpm durante 10 min. El sobrenadante se decantó en condiciones estériles y el precipitado se disolvió en 50 mL de medio LB con la adición de glicerol al 15%. La

6. Miles AA, Misra SS. The estimation of the bacteriocidal power of the blood. *J Hyg* 1938;38:732-49.

7. American Public Health Association (EE.UU.). Standard methods for the examination of dairy products. Washington: The American Public Health Association; 1993.

8. Association of Official Analytical Chemists (VA). Official methods of analysis. Arlington: The Association; 1990.

9. Hill CW, Harnish BW. Transposition of a chromosomal segment bounded by redundant rRNA genes in *Escherichia coli*. *J Bacteriology* 1982;149:449-57.

10. Yanish-Perron, Viera J, Messing J. Improved M13 phage cloning vectors and host strains nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. *Gene* 1985;33: 103-99.

11. Carlioz A, Touati D. Isolation of superoxide dimutase mutants in *Escherichia coli* is superoxide dimutase necessary for aerobic life? *EMBO J* 1986;5:623-30.

Tabla 1. Descripción de las características genéticas y los fenotipos que se verificaron de las cepas de *E. coli* K12 utilizadas en este trabajo.

Cepa	Genotipo	Fenotipo*	Referencia
W3110 trpC	F, <i>trpC</i> , <i>mcrA</i> , <i>mcrB</i> in (<i>rrnD-r. rnE</i>)	No crece en ausencia de triptófano	9
XL-1 Blue	(F <i>proAB lacI^qZΔM15</i> , Tn10) <i>endA₁</i> , <i>hsdR₁₇</i> (<i>r_{lc}</i> , <i>m_k</i> ⁺), <i>supE₄₄</i> , <i>thi-1</i> , <i>λ</i> , <i>recA₁</i> , <i>gyrA₉₆</i> , <i>relA₁</i>	No crece en ausencia de tiamina. No degrada la lactosa	4
GC366	(F' <i>proAB lacI^qZΔM15</i>) <i>dan13::Tn9 Δ(lac-proAB)</i>	No degrada la lactosa y es resistente al clorafenicol	11
LE392	F, <i>hsdR₂₀</i> (<i>r_{K12}</i> , <i>m_{K12}</i> ⁺), <i>supE</i> , <i>supF</i> , <i>lacY</i> , <i>galK₂</i> , <i>metB₁</i> , <i>trpR</i> , <i>tonA</i>	No crece en ausencia de metionina. No degrada la lactosa, ni la galactosa	10
MC1061	F, <i>araD₉₁₃</i> , <i>Δ(ara-leu)₇₆₉₆</i> , <i>galE₁₅</i> , <i>galK₁₆</i> , <i>Δ(lac)X₇₄</i> , <i>rpsL</i> , <i>hsdR₂</i> , <i>mcrA</i> , <i>mcrB₁</i>	No crece en ausencia de leucina. No degrada la lactosa, la galactosa, ni la arabinosa y es resistente a la estreptomocina	4
RRI	F, <i>hsdS₂₀</i> (<i>r_B</i> , <i>m_B</i>), <i>ara14</i> , <i>proA₂</i> , <i>lacY₁</i> , <i>galK₂</i> , <i>rpsL₂₀</i> , <i>xyI5</i> , <i>mtf1</i> , <i>supE₄₄</i> , <i>mcrA</i> ⁺ , <i>mcrB</i> ⁻	No crece en ausencia de leucina y prolina. No degrada la lactosa, arabinosa, galactosa, xylosa y manitol y es resistente a la estreptomocina	4
HB101	F, <i>hsdS₂₀</i> (<i>r_B</i> , <i>m_B</i>), <i>recA₁₃</i> , <i>ara14</i> , <i>proA₂</i> , <i>lacY₁</i> , <i>galK₂</i> , <i>rpsL₂₀</i> , <i>xyI5</i> , <i>mtf1</i> , <i>supE₄₄</i> , <i>mcrA</i> ⁺ , <i>mcrB</i> ⁻	No crece en ausencia de leucina y prolina. No degrada la lactosa, arabinosa, galactosa, xylosa y manitol y es resistente a la estreptomocina	4
JM101	(F' <i>traD₃₆proAB lacI^qZΔM15</i>) <i>Δ(lac, proAB)</i> , <i>thy</i> , <i>supE</i>	No crece en ausencia de tiamina. No degrada la lactosa	10

*Fenotipo verificable por crecimiento en placas que contienen medios agarizados.

mezcla se dispensó en volúmenes de 1 mL en viales de 2 mL y se conservó a -70 °C hasta su uso.

Verificación de la viabilidad por el método de extensión en placa

De los bancos de trabajo de todas las cepas se hicieron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-6} en solución salina (NaCl 0,9%), se tomaron 100 µL de cada dilución. Las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} se sembraron en placas con ATS y se diseminaron con una espátula de drygalsky hasta que se secaron. Las placas se incubaron a 37 °C durante 18 h, después de este tiempo las colonias se contaron. El número de viables se definió como la media de las ufc contadas en cada placa multiplicado por 10 por la dilución y se expresaron en ufc/mL.

Este chequeo se realizó de rutina cada seis meses a todas las cepas de la colección para evaluar su estabilidad a la conservación en tiempo real.

Verificación de la viabilidad por el método de Miles y Misra

Para la verificación de la viabilidad se utilizó el método descrito por Miles y Misra [6]. De los bancos de trabajo de todas las cepas se hicieron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-6} con solución salina (NaCl 0,9%). Con una pipeta Pasteur se aplicó una gota de cada dilución sobre la superficie del medio LB. En cada placa se aplicaron 4 diluciones. Las placas se secaron y se incubaron a 37 °C durante 18 h, después de este tiempo las colonias se contaron.

Verificación de la viabilidad por el método de la traza de la dilución

Para la verificación de la viabilidad se utilizó el método descrito por Jett y colaboradores [5] con las modificaciones hechas en el laboratorio del CIGB.

Para la siembra, el tipo de placa empleado por los autores de este trabajo fueron redondas de 100 mm de diámetro en lugar de las placas Falcon[®] Integrid[™] 100-15 mm con 13 mm (Becton Dickinson Labware, Bedford, MA, EE.UU.) utilizada por los autores que describieron el método.

De la dilución de 10^{-6} se aplicaron 10 µL seis veces en una placa de medio ATS; después de gotear la placa, se inclinó en un ángulo de 90° de forma que la gota corrió verticalmente hasta el otro extremo. Las placas se secaron y se incubaron a 37 °C durante 18 h, después de este tiempo las colonias se contaron. El número de viables se definió como las ufc contadas en cada traza multiplicado por 100 por la dilución y se expresaron en ufc/mL.

Verificación de fenotipos de vías sintéticas, degradativas y resistencia a antibióticos

De los bancos de trabajo de todas las cepas se hicieron diluciones seriadas de 10^{-1} hasta 10^{-6} en solución salina (NaCl 0,9%) y se sembraron por el método traza de la dilución en el medio LB con la adición de cloranfenicol o estreptomycinina a 25 µg/mL y medio M9 [4] que contiene, en el caso de los chequeos auxotróficos, glucosa a una concentración de 0,2% y metionina, leucina, prolina, tiamina o triptófano a una concentración de 25 µg/mL. Para el chequeo de los marcadores catabólicos se utilizó el medio M9 con los aminoácidos anteriores según la

cepa a verificar y galactosa, arabinosa, xilosa o manitol a una concentración final de 0,2%. Los medios diseñados para cada chequeo y las cepas sembradas en cada medio se describen en la Tabla 2.

Todos los experimentos se replicaron tres veces.

Se evaluaron los métodos de Miles y Misra y el de la traza de la dilución y se compararon con el convencional de extensión en placa.

Procesamiento de los datos

Para la comparación estadística de los datos, viabilidad y fenotipo de los mutantes, expresados en ufc/mL y obtenidos por los tres métodos de siembra, se utilizó la prueba *t* de student.

Resultados y Discusión

La verificación de la estabilidad en tiempo real de los bancos de cepas es parte del control de calidad de toda colección. Los métodos, la frecuencia de las verificaciones y los criterios que se siguen dependen de los objetivos de cada laboratorio.

Por lo general, una consideración importante es que, los diferentes métodos de siembra descritos en la literatura para el conteo de microorganismos son empleados en el control de calidad aplicado a diferentes materiales como alimentos, cosméticos, medicamentos o residuales [4, 7, 8]. En todos estos casos el número de microorganismos aerobios contables está por debajo de 10^6 ufc/mL. Este no es el caso que se presenta en la verificación de bancos de cepas donde la concentración celular puede estar entre 10^8 y 10^{10} ufc/mL. De esta manera es que de los métodos simplificados para la siembra de microorganismos los más factibles a utilizar en la evaluación de la calidad de bancos (10^9 ufc/mL) son el método descrito por Miles y Misra en 1938 [6] y el descrito por Jett y colaboradores en 1997 [5].

La aplicación del método descrito por Miles y Misra, citado arriba, debido a la forma de inoculación solamente fue posible sembrar cuatro diluciones por placa, como ya se ha planteado, y el aislamiento de las colonias fue mucho menor que cuando se utilizó cualquiera de las otras técnicas comparadas. Esto dificultó el conteo debido a la agrupación de las colonias.

La aplicación del método traza de la dilución dio mejores resultados, no obstante que se emplearon las placas petri de 100 mm de diámetro las cuales

Tabla 2. Medios de cultivo para la verificación fenotípica y cepas sembradas.

Medio*	Cepas
M9+glu	W3110 <i>trpC</i> , XL-1 Blue, GC366, LE392, MC1061, RRI, HB101 y JM101
M9+glu+trp	W3110 <i>trpC</i> , MC 1061
M9+glu+thi	GC366, XL-1 Blue y JM101
M9+glu+met	GC366, LE392
M9+glu+pro	GC366, RRI y HB101
M9+glu+pro+leu	GC366, MC1061, RRI y HB101
M9+gal+met	GC366 y LE392
M9+gal+pro+leu	GC366, MC1061, RRI y HB101
M9+ara+pro+leu	GC366, MC1061, RRI y HB101
M9+xil+pro+leu	GC366, RRI y HB101
M9+mtl+pro+leu	GC366, RRI y HB101
Agar McConkey	W3110 <i>trpC</i> , XL-1 Blue, GC366, LE392, MC1061, RRI, HB101 y JM101
LB+Cm	W3110 <i>trpC</i> y GC366
LB+ Str	W3110 <i>trpC</i> , MC1061, RRI y HB101

*Glucosa (glu), triptófano (trp), tiamina (thi), metionina (met), prolina (pro), galactosa (gal), arabinosa (ara), xilosa (xil), manitol (mtl), cloranfenicol (cam), estreptoquinasa (str).

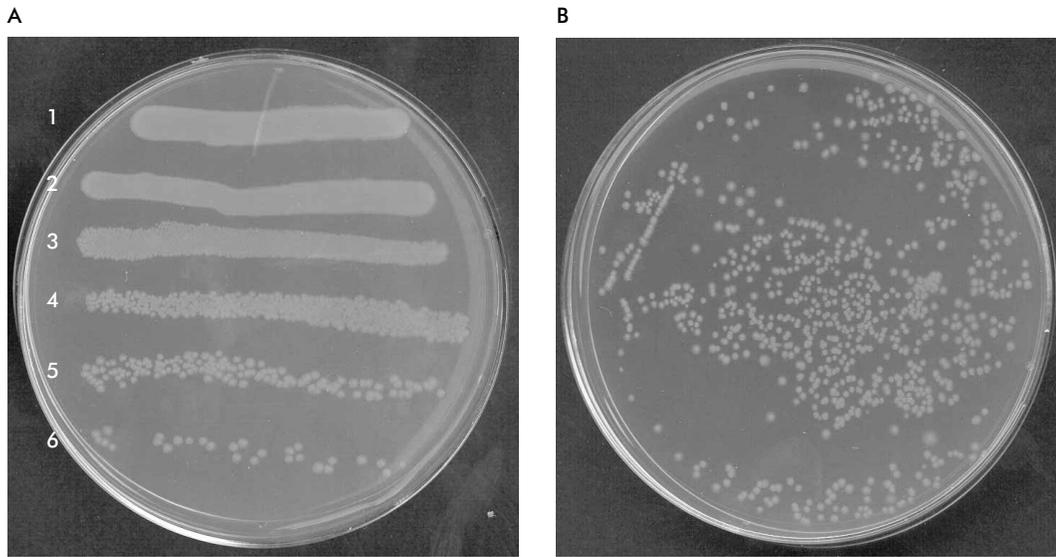


Figura. Distribución de unidades formadoras de colonias en dos placas de medio LB resultado de la aplicación de los métodos de traza de la dilución (A) diluciones 1) 10^{-2} , 2) 10^{-3} , 3) 10^{-4} , 4) 10^{-5} , 5) 10^{-6} y 6) 10^{-7} y de extensión en placa (B) dilución 10^{-6} .

son comunes en todos los laboratorios de microbiología. La Figura compara la distribución de ufc/mL en placas con medio LB sembradas con la cepa W3110 por los métodos traza de la dilución y de extensión en placa. Se aprecia el mayor número de diluciones que se pueden aplicar por placa y los mejores resultados obtenidos con relación al método de siembra convencional.

En cuanto a la viabilidad de los bancos, con este método, se encontró una mayor homogeneidad entre las réplicas en todos los casos (Tabla 3).

Los criterios de estabilidad a la conservación más frecuentes son la verificación de la viabilidad y del fenotipo de los mutantes. En este último aspecto, los diferentes mutantes expresan su fenotipo por la capacidad de crecer o no en un medio de cultivo determinado.

Como primera etapa se analizó el genotipo de ocho mutantes de *E. coli* K12 de forma que se pudiera sembrar en un mismo tipo de placa más de una cepa (Tabla 2). De esta manera se planifica mejor la preparación de medios y soluciones a emplear por grupo de cepas a verificar.

Debido a esto, el número de placas de cada chequeo depende del número de características fenotípicas a chequear más que de la cantidad de cepas.

Por cada mutación descrita en el genotipo se requieren al menos dos tipos diferentes de medios indicadores y tres réplicas por cada uno lo que representa un total de seis placas.

Otro aspecto a tener en cuenta antes de aplicar cualquier método de conteo de viables es que la verificación de mutantes depende mucho de la pureza de la muestra. Para mutantes auxotróficos la contaminación puede interpretarse como un crecimiento positivo sobre un medio mínimo y por tanto puede dar un criterio falso de rechazo o de aceptación de un banco. Debido a esto existe consenso en el criterio de que mientras mayor sea el aislamiento de las colonias mayor será la probabilidad de observar contaminación.

Esto hace que se requieran un gran número de placas por cepas para cada chequeo.

En la aplicación del método de la traza de la dilución al chequeo de mutantes de vías sintéticas, degradativas y de resistencia a antibióticos fue posible verificar ocho cepas de forma simultánea en un mismo experimento y se consumieron sólo quince placas.

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0,23$) entre los tres métodos de siembra comparados. Sin embargo, se obtuvieron variaciones de la varianza intra prueba mayores con el método descrito por Miles y Misra [6] que para los otros dos métodos cuando la concentración de ufc está en el rango de 10^2 , lo cual es explicable por la pequeña área donde se aplica la muestra.

Si bien la concentración de ufc/mL fue igual por los tres métodos, debido a la mayor dificultad en el conteo de las colonias como a la mayor variabilidad de los resultados, hicieron que el método de Miles y Misra se descartara en primera instancia.

En general, la aplicación del método traza de la dilución además de disminuir la complejidad del chequeo, aumentó la homogeneidad de las réplicas y simplificó el conteo de las colonias. Permitted también tener un criterio sobre los contaminantes que no se

Tabla 3. Resultados de la viabilidad de ocho bancos de trabajo de cepas de *E. coli* K12 mediante el método traza de la dilución.

	W3110 trpC	XL-1 Blue	GC 366	LE392	MC1061	RRI	HB101	JM101
	82	9	29	30	48	37	26	92
	77	9	30	23	47	30	44	71
	82	13	25	27	55	26	33	72
	71	12	24	23	58	28	27	91
	71	11	22	29	46	25	18	83
	89	11	31	29	51	20	29	67
Media	78,67	10,83	26,83	26,83	50,83	27,67	29,50	79,33
DS	7,06	1,60	3,66	3,13	4,79	5,68	8,64	10,82

observaban en los chequeos de pureza, lo cual es un resultado no esperado.

Generalmente, para la verificación de bancos de microorganismos se define un rango de dilución donde las colonias pueden ser contadas (en el caso de bancos de *E. coli* 10^{-5} a 10^{-7}). A pesar de que en las diluciones desde 10^{-5} a 10^{-7} no se observaron diferencias en la morfología de las colonias cuando se utilizó el método de siembra tradicional, en algunos bancos se observó la presencia de contaminantes en la dilución de 10^{-3} al utilizar el método traza de la dilución.

Esto puede deberse a que en diluciones menores, la producción de ácido por la *E. coli* debido al metabolismo de la glucosa, inhibe el crecimiento de otras bacterias contaminantes en el cultivo.

La posibilidad de que la contaminación proviniera de las soluciones o los materiales utilizados se descartó

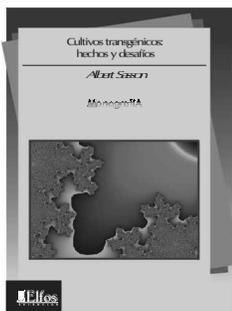
por verificación de pureza de los mismos. No se descartó la posibilidad de revertantes en algunas cepas.

El método traza de la dilución permitió aumentar el número de réplicas y es adecuado para la verificación de la homogeneidad de los bancos de microorganismos ya que admite de seis a ocho inóculos de diferentes lotes de cultivo sobre una misma placa.

Se puede concluir que la aplicación del método traza de la dilución tiene ventajas adicionales a las de costo y simplicidad en el caso de la verificación de cepas.

El método permitió una mejor caracterización de los bancos, con menor tiempo de trabajo. Disminuyó, además, la variabilidad entre experimentos en los chequeos de homogeneidad al eliminar la heterogeneidad proveniente del uso de placas diferentes para cada vial ensayado. Esto evitó el rechazo de bancos por errores de manipulación al dar un criterio diferencial entre rechazo y repetición de prueba.

Recibido en diciembre del 2001. Aprobado en agosto del 2002.



ISBN 959-235-019-1

Más información en:

Elfos Scientiae

Apartado 6072,

La Habana 6, Cuba.

Tel.: (53-7) 33 1917

Fax: (53-7) 33 1917

E-mail: elfos@cigb.edu.cu

Cultivos transgénicos: hechos y desafíos

Albert Sasson

Los productos agrícolas constituyen la base de la alimentación del hombre y los animales que éste emplea en beneficio propio. El surgimiento de la ingeniería genética introdujo la posibilidad de manipular cualidades de las plantas de una manera más asequible para todos los países y con un potencial realmente insoportable. La obtención de plantas transgénicas con nuevas propiedades, aunque es factible económicamente, presenta diversos riesgos y tiene implicaciones éticas y de regulación que deben ser analizadas con cautela.

Albert Sasson aborda ampliamente, con información actualizada, las especies de plantas que han sido modificadas genéticamente y las tendencias en este campo, su contribución al mercado internacional y los aspectos de percepción pública de los productos agrícolas transgénicos, en un libro de lenguaje claro y sencillo que trata un tema de amplio debate internacional en la actualidad. Sin duda, esta monografía será de gran utilidad a todos los profesionales que trabajan en el sector agropecuario y a aquellos que laboran en las entidades reguladoras que velan por la conservación de la diversidad biológica existente.

URL: <http://www.elfoscientiae.com.cu>