

Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

División De Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento De Producción Agrícola Y Animal Licenciatura en
Agronomía

Proyecto de servicio social

Comprobación de la viabilidad de cepas bacterianas incluidas en la colección del Centro
Nacional De Referencia Fitosanitaria

Prestador del servicio social:

Yadira Estefhany Zamora Mendoza

Matrícula: 2162030544

Asesor Interno:

Luis Manuel Rodríguez Sánchez

Número económico: 26812

Firma _____

Asesor externo:

Ana Abigail Vega Aragón

Cedula profesional: 11141237

Firma _____

Fecha de inicio y finalización: del 03 de julio 2023 al 03 de enero de 2024

Lugar de realización: Laboratorio de bacteriología perteneciente al área del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) adscrito al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA).

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	4
III. OBJETIVOS.....	5
3.1. Objetivo general.....	5
3.2. Objetivos específicos.....	5
IV. ANTECEDENTES.....	6
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
5.1. Tipo de investigación.....	10
5.2. Sitio de estudio.....	10
5.3. Universo de estudio y muestra.....	10
5.4. Variables del estudio.....	11
5.5. Procedimientos metodológicos.....	11
5.5.1 Preparación de medios de cultivo adecuados para la siembra y crecimiento de cepas bacterianas almacenadas.....	12
5.5.2. Monitoreo del crecimiento bacteriano para determinar su viabilidad en condiciones controladas.....	12
5.5.3. Purificación de las cepas viables a partir de cultivos primarios.....	12
5.5.4. Aplicación de pruebas de patogenicidad e identificación bacteriana.....	12
5.5.5. Extracción de ADN de cepas seleccionadas.....	13
5.5.6. Resguardo de cepas viables, puras y estables bajo condiciones de temperatura adecuadas.....	13
5.6. Validación de resultados y reproducibilidad.....	14
5.7. Cronograma de actividades.....	14
5.8. Actividades realizadas.....	14
5.9. Consideraciones éticas y de bioseguridad.....	16
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
VII. CALENDARIO DE ACTIVIDADES.....	19

I. INTRODUCCIÓN.

El servicio social realizado en el Laboratorio de Bacteriología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF), adscrito al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), tuvo como eje central la comprobación de la viabilidad de cepas bacterianas conservadas en su colección oficial. Esta actividad forma parte de los esfuerzos institucionales para fortalecer la protección fitosanitaria del país a través del diagnóstico, validación y referencia de organismos fitopatógenos de relevancia económica y cuarentenaria (FAO, 2020; SENASICA, 2023). Estas acciones son fundamentales en un contexto agrícola global altamente amenazado por enfermedades emergentes, movimientos transfronterizos de plagas y el cambio climático, que impactan directa e indirectamente en la producción de alimentos.

El CNRF, como instancia de referencia nacional, cumple con una misión crítica: asegurar la calidad, confiabilidad y estandarización de los diagnósticos fitosanitarios en México, lo cual contribuye no solo al cumplimiento de normativas nacionales e internacionales, sino también al fortalecimiento del comercio agrícola a través de la certificación y trazabilidad de productos vegetales libres de organismos reglamentados (SENASICA, 2023; NOM-069-FITO-1995). En este sentido, el CNRF también se posiciona como un centro estratégico para la conservación de cepas bacterianas, las cuales son esenciales para estudios epidemiológicos, vigilancia fitosanitaria, validación de metodologías de diagnóstico molecular y desarrollo de nuevas tecnologías de detección (Schaad et al., 2001; EPPO, 2013).

La conservación adecuada de cepas bacterianas requiere la aplicación de técnicas especializadas que aseguren su viabilidad y estabilidad genética en el tiempo. Este es un aspecto esencial para garantizar su uso posterior en pruebas de patogenicidad, ensayos de identificación

molecular, validación de bioensayos y estudios comparativos con nuevas muestras de campo (Madigan et al., 2017; Bergey et al., 2015). La pérdida de viabilidad o la alteración genética de una cepa puede comprometer la confiabilidad de los resultados diagnósticos y, por ende, las decisiones que de ellos se derivan.

El presente proyecto, titulado *Evaluación de viabilidad y conservación de cepas bacterianas en la colección del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria*, se desarrolló entre julio de 2023 y enero de 2024. Las actividades realizadas incluyeron la preparación de medios de cultivo selectivos y diferenciales, siembra y repique de cepas, purificación mediante técnicas estándar, evaluación morfológica y microscópica, pruebas de patogenicidad en hospederos indicativos, y la conservación de los aislados viables bajo condiciones controladas, tales como criopreservación y conservación en agar inclinado (CNRF, 2022).

Este proyecto se alinea con el perfil del egresado de Ingeniería Agronómica, al integrar conocimientos en microbiología agrícola, diagnóstico fitosanitario y biotecnología aplicada, contribuyendo así a una formación científica orientada hacia la producción sustentable y la protección fitosanitaria. En un entorno donde las enfermedades vegetales provocan pérdidas estimadas del 20% al 40% en la producción alimentaria global (FAO, 2020), disponer de cepas viables y bien caracterizadas representa una herramienta clave para generar soluciones oportunas, precisas y basadas en evidencia para el manejo integrado de enfermedades (Agrios, 2005).

Finalmente, este esfuerzo también respondió a la necesidad institucional de resguardar material biológico bajo criterios de bioseguridad, calidad, trazabilidad y estandarización, lo que fortalece al CNRF como un centro de excelencia científica y técnica (EPPO, 2013; SENASICA, 2023), y contribuye de manera sustantiva a la sanidad vegetal y seguridad alimentaria del país.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.

El mantenimiento de cepas bacterianas viables en colecciones oficiales representa un reto técnico y logístico que impacta directamente en la capacidad del país para diagnosticar enfermedades de origen fitopatológico. La viabilidad y estabilidad genética de estas cepas es fundamental para garantizar resultados precisos en las pruebas de laboratorio, así como para el desarrollo de estrategias de control de enfermedades vegetales. Sin embargo, con el tiempo, algunas cepas pueden perder su capacidad de crecimiento o sufrir alteraciones genéticas si no se conservan adecuadamente.

Este proyecto buscó atender dicha problemática mediante la comprobación de la viabilidad de cepas conservadas en el CNRF, con énfasis en su purificación, evaluación morfológica, pruebas de patogenicidad y resguardo en condiciones óptimas. Esta labor es esencial para mantener la funcionalidad de la colección como fuente de referencia nacional en el diagnóstico fitosanitario.

La justificación radica en que, al asegurar la viabilidad de estas cepas, se fortalece la sanidad vegetal del país, se reduce la dependencia de colecciones externas y se mejora la respuesta ante emergencias fitosanitarias. Además, se contribuye al cumplimiento de normativas nacionales e internacionales y se promueve el comercio agrícola al asegurar productos libres de patógenos cuarentenarios.

Desde el punto de vista formativo, el proyecto me permitió aplicar e integrar conocimientos adquiridos en su formación agronómica, en un contexto real y con impacto social y económico directo.

III. OBJETIVOS.

3.1. Objetivo general.

Evaluar la viabilidad de cepas bacterianas conservadas en la colección del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF), mediante técnicas microbiológicas y moleculares, con el fin de garantizar su utilidad como material de referencia para el diagnóstico fitosanitario y la protección de cultivos.

3.2. Objetivos específicos.

- Preparar medios de cultivo adecuados para la siembra y crecimiento de cepas bacterianas almacenadas.
- Monitorear el crecimiento bacteriano para determinar su viabilidad en condiciones controladas.
- Purificar las cepas viables a partir de cultivos primarios para asegurar su estabilidad genética y morfológica.
- Aplicar pruebas de patogenicidad e identificación bacteriana, como reacciones de KOH, Gram y pruebas en tubérculos de papa.
- Extraer ADN de cepas seleccionadas para su posterior conservación y análisis molecular.
- Resguardar las cepas viables, puras y estables bajo condiciones de temperatura adecuadas (-80 °C, -20 °C, 4 °C y ambiente), garantizando su trazabilidad.

IV. ANTECEDENTES.

Las bacterias fitopatógenas son agentes causales de enfermedades en plantas de interés agrícola, afectando el rendimiento y la calidad de los cultivos en todo el mundo. De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2020), las enfermedades vegetales provocan pérdidas de entre el 20 % y el 40 % de la producción mundial de alimentos, lo cual representa una amenaza directa a la seguridad alimentaria global. En este contexto, el diagnóstico oportuno y preciso de estos organismos resulta fundamental para su control y manejo efectivo.

La caracterización y conservación de cepas bacterianas es una estrategia clave para mantener la capacidad diagnóstica de los laboratorios fitosanitarios. La viabilidad de las cepas, definida como su capacidad de crecimiento y reproducción en condiciones adecuadas, es un criterio esencial para su uso en pruebas de laboratorio, como ensayos de patogenicidad, identificación molecular y validación de metodologías de diagnóstico (Madigan et al., 2017). Si las cepas pierden viabilidad durante su almacenamiento, pueden volverse inservibles para fines científicos o regulatorios.

En México, el Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF), adscrito al SENASICA, tiene la función de resguardar y validar cepas de organismos fitopatógenos de importancia económica y cuarentenaria, en cumplimiento con la Norma Oficial Mexicana NOM-069-FITO-1995. Esta colección representa un recurso estratégico no solo para la vigilancia y diagnóstico fitosanitario, sino también para la investigación aplicada y el desarrollo de nuevas tecnologías agrícolas.

Sin embargo, mantener la viabilidad de las cepas almacenadas presenta desafíos significativos. Las técnicas de conservación deben asegurar no solo la supervivencia de las

bacterias, sino también la estabilidad genética y la preservación de características fenotípicas clave. Métodos como la refrigeración, la ultracongelación o el uso de medios protectores son empleados para prolongar su vida útil, aunque su eficacia varía dependiendo del tipo de organismo y las condiciones de resguardo (Bergey et al., 2015; EPPO, 2013).

Estudios previos han demostrado que una parte importante de las colecciones microbianas puede perder viabilidad si no se aplican procedimientos de mantenimiento adecuados, lo que compromete su valor como referencia (Schaad et al., 2001). Por ello, es indispensable implementar protocolos de monitoreo regular que permitan detectar la pérdida de viabilidad y aplicar medidas correctivas a tiempo.

Este proyecto se inserta en una línea de investigación aplicada orientada a la conservación de recursos biológicos estratégicos. Busca evaluar el estado actual de las cepas bacterianas del CNRF y establecer procedimientos sistemáticos para garantizar su viabilidad, pureza y estabilidad. De este modo, se contribuye al fortalecimiento de las capacidades técnicas del laboratorio, al cumplimiento de normas internacionales y a la mejora de los sistemas de sanidad vegetal en el país.

La conservación de microorganismos fitopatógenos en colecciones institucionales tiene un papel central en el fortalecimiento de la sanidad vegetal, al proveer material de referencia confiable y trazable para estudios diagnósticos y de investigación. El CNRF, como centro nacional de referencia, cumple con estándares internacionales y protocolos establecidos por organismos como la EPPO (Organización Europea y Mediterránea para la Protección de las Plantas), lo que le permite participar activamente en redes regionales y globales de vigilancia fitosanitaria (EPPO, 2013).

Las colecciones bacterianas son especialmente sensibles a factores como el tiempo, la temperatura, la composición del medio de cultivo, y la frecuencia de subcultivos. Cada uno de estos elementos puede impactar directamente en la viabilidad y estabilidad del microorganismo. Por ello, la gestión técnica de estas colecciones requiere de personal capacitado, condiciones controladas, y protocolos específicos validados científicamente (Madigan et al., 2017).

Durante los últimos años, la biotecnología y la microbiología aplicada han incorporado técnicas más precisas para verificar la viabilidad y la identidad genética de cepas almacenadas. Entre ellas se encuentran la extracción de ADN y la amplificación de genes específicos mediante PCR, además del análisis fenotípico y morfológico en medio de cultivo (Schaad et al., 2001). Estos métodos, al ser combinados, permiten corroborar la autenticidad de las cepas y descartar contaminaciones o mutaciones que puedan surgir durante el almacenamiento prolongado.

En México, existe una necesidad creciente de consolidar colecciones microbianas oficiales que respondan a los desafíos del comercio internacional y de las exigencias fitosanitarias de los países importadores. Las enfermedades causadas por bacterias fitopatógenas pueden dar lugar a restricciones comerciales severas, si no se cuenta con métodos de diagnóstico validados y material de referencia adecuado para responder ante alertas fitosanitarias (SENASICA, 2023). Por esta razón, la existencia de una colección viable, bien caracterizada y debidamente documentada, representa una herramienta crítica para la toma de decisiones en el ámbito agrícola.

El presente proyecto se desarrolló en el marco del servicio social universitario, con el propósito de evaluar la viabilidad de cepas conservadas en la colección del CNRF. Las actividades incluyeron desde la preparación de medios de cultivo hasta la conservación final de cepas purificadas, pasando por pruebas de crecimiento, purificación, patogenicidad y extracción

de ADN. Esta experiencia permitió vincular el conocimiento académico con una problemática real del ámbito fitosanitario, al tiempo que contribuyó al fortalecimiento del acervo microbiano del laboratorio.

Desde una perspectiva histórica, la sistematización de colecciones de cepas bacterianas ha estado ligada al desarrollo de la fitopatología como disciplina científica. Desde principios del siglo XX, instituciones en América del Norte, Europa y Asia comenzaron a resguardar microorganismos fitopatógenos para fines de diagnóstico, investigación y docencia (Agrios, 2005). Estos acervos se han convertido en pilares del conocimiento microbiológico y en herramientas esenciales para responder ante brotes emergentes, validar pruebas de laboratorio y capacitar a personal técnico.

En la actualidad, los lineamientos para la conservación y documentación de cepas se encuentran regulados por normas nacionales e internacionales. En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-069-FITO-1995 establece el procedimiento para el diagnóstico fitosanitario de bacterias fitopatógenas, lo cual incluye criterios para el aislamiento, identificación y almacenamiento seguro de estos microorganismos. Esta norma, junto con las directrices de SENASICA, proporciona el marco operativo bajo el cual trabaja el CNRF en la validación y resguardo de cepas.

Finalmente, el presente trabajo contribuye al fortalecimiento del sistema nacional de diagnóstico fitosanitario, al asegurar que el material de referencia utilizado por el CNRF sea viable, representativo y científicamente confiable. También refuerza la vinculación entre universidades e instituciones del sector público, al insertar a estudiantes en procesos técnicos de alto valor, promoviendo una formación integral y orientada al servicio social con impacto directo en la producción agrícola del país.

V. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1. Tipo de investigación

El presente proyecto se enmarca dentro de una investigación **aplicada y experimental**, ya que se enfocó en la evaluación de la viabilidad y conservación de cepas bacterianas fitopatógenas, mediante procedimientos microbiológicos y moleculares dentro de un laboratorio especializado. La naturaleza experimental del estudio radica en la manipulación controlada de las variables involucradas (temperatura, medios de cultivo, condiciones de resguardo, entre otras) para analizar sus efectos sobre la viabilidad de las cepas almacenadas.

5.2. Sitio de estudio

El trabajo se realizó en el **Laboratorio de Bacteriología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF)**, adscrito al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). Este laboratorio está ubicado en la **Carretera Federal Pachuca-México km 37.5, centro 55740, Tecámac de Felipe Villanueva, Estado de México**. El laboratorio cuenta con infraestructura, equipo y condiciones ambientales controladas necesarias para el manejo de organismos fitopatógenos de importancia económica y cuarentenaria, así como con sistemas de bioseguridad y trazabilidad que permiten garantizar la integridad del material biológico trabajado.

5.3. Universo de estudio y muestra

El universo de estudio estuvo constituido por las 120 **cepas bacterianas fitopatógenas** registradas y conservadas en la colección oficial del CNRF. La muestra seleccionada correspondió a **cepas previamente almacenadas**, provenientes de distintas regiones del país y

con historial de diagnóstico en cultivos agrícolas de interés económico. El número exacto de cepas trabajadas varió semanalmente dependiendo de su disponibilidad, estado de conservación y resultados obtenidos en las evaluaciones iniciales, sin embargo, se trabajó con **60 cepas diferentes** a lo largo del periodo del servicio social, seleccionadas con base en criterios de relevancia económica, cuarentenaria y fecha de conservación.

Las **unidades de observación** fueron las **colonias bacterianas** aisladas en medios de cultivo, así como los resultados de las pruebas microbiológicas y moleculares realizadas sobre dichas cepas.

5.4. Variables del estudio

Las variables fundamentales evaluadas en este estudio fueron:

Viabilidad bacteriana: crecimiento observable en medio de cultivo tras incubación controlada.

Morfología de la colonia: tamaño, color, forma y textura.

Pureza del cultivo: homogeneidad de la colonia tras subcultivos.

Resultado de pruebas bioquímicas: reacción KOH, tinción de Gram, prueba en tubérculos de papa.

Extracción de ADN: calidad y cantidad del material genético obtenido.

Condición de conservación: temperatura de resguardo (-80 °C, -20 °C, 4 °C y ambiente).

5.5. Procedimientos metodológicos

A continuación, se describe el procedimiento específico realizado para alcanzar cada uno de los **objetivos específicos** propuestos:

5.5.1 Preparación de medios de cultivo adecuados para la siembra y crecimiento de cepas bacterianas almacenadas

Se emplearon medios de cultivo sólidos de **BK (Bacilo de KOCH)**. La preparación consistió en la disolución y esterilización del medio en autoclave (121 °C, 15 psi, 15 minutos), seguido por su vaciado en cajas Petri estériles bajo campana de bioseguridad. Las cajas fueron etiquetadas con fecha, código de cepa, medio utilizado y nombre del responsable.

5.5.2. Monitoreo del crecimiento bacteriano para determinar su viabilidad en condiciones controladas

Las cepas almacenadas se reactivaron mediante siembra en cajas Petri en los medios preparados. Las siembras se realizaron utilizando asas estériles y se incubaron a 28–30 °C por 48 a 72 horas. Posteriormente, se evaluó el crecimiento en términos de presencia/ausencia de colonias y se registraron características morfológicas como color, tamaño, forma y bordes. Las cepas que no mostraron crecimiento fueron consideradas no viables.

5.5.3. Purificación de las cepas viables a partir de cultivos primarios

Las cepas con crecimiento se subcultivaron en nuevos medios para obtener colonias puras. Se aplicó la técnica de estría cruzada para aislar colonias individuales, asegurando así la estabilidad genética y morfológica del cultivo. La purificación fue necesaria para eliminar contaminantes y asegurar que el cultivo correspondiera a una sola especie bacteriana.

5.5.4. Aplicación de pruebas de patogenicidad e identificación bacteriana

- Se realizaron **pruebas bioquímicas básicas** para la identificación preliminar de las cepas:
- **Prueba de KOH (3%)**: para determinar la gran negatividad de la cepa.
- **Tinción de Gram**: para confirmar la morfología celular y tipo de pared celular.
- **Prueba de patogenicidad en tubérculos de papa**: inoculación de la cepa en secciones estériles de papa para observar signos de maceración o pudrición.

Estas pruebas permitieron establecer patrones fenotípicos y asociarlos con grupos bacterianos de interés fitosanitario.

5.5.5. Extracción de ADN de cepas seleccionadas

Las cepas purificadas y viables fueron seleccionadas para extracción de ADN utilizando **kits comerciales especializados** para bacterias Gram negativas y Gram positivas. El procedimiento incluyó:

- Cultivo en medio sólido (por ejemplo, BK) por 24 horas.
- Centrifugación y lisis celular.
- Purificación del ADN con columnas de afinidad.
- Medición de la concentración y calidad del ADN mediante espectrofotometría (260/280 nm).

- Este material genético fue resguardado para análisis moleculares posteriores, como PCR o secuenciación.

5.5.6. Resguardo de cepas viables, puras y estables bajo condiciones de temperatura adecuadas

Las cepas que cumplieron con los criterios de viabilidad, pureza y caracterización fueron conservadas bajo diferentes temperaturas según el protocolo del CNRF:

- **–80 °C (ultracongelador):** conservación a largo plazo.
- **–20 °C (congelador convencional):** respaldo intermedio.
- **4 °C (refrigerador):** cultivos activos en corto plazo.
- **Ambiente (dsecación o placa sellada):** en condiciones específicas y controladas.

Se registraron todos los datos de trazabilidad en las bases de datos internas del CNRF, incluyendo fecha de resguardo, método de conservación, responsable y observaciones.

5.6. Validación de resultados y reproducibilidad

Para garantizar la validez y reproducibilidad del trabajo realizado, se siguieron los **protocolos oficiales del CNRF** y guías técnicas internacionales como las emitidas por **EPPO (2013)** y **OEPP (2013)**. Todas las actividades se realizaron bajo condiciones controladas, con uso de controles positivos y negativos cuando fue pertinente, y con registros estandarizados en

bitácoras del laboratorio. Además, se contó con la supervisión de personal técnico y científico del laboratorio durante toda la ejecución del proyecto.

5.7. Cronograma de actividades

El proyecto se desarrolló de **julio de 2023 a enero de 2024**, dividido en etapas mensuales que permitieron abordar secuencialmente los objetivos planteados:

Fecha de inicio y finalización: del 03 de julio 2023 al 03 de enero de 2024

5.8. Actividades realizadas

Julio 2023

- Preparación diaria de medios de cultivo BK (mañana).
- Siembra de cepas en medios BK (tarde).
- Etiquetado de cajas Petri con datos de la cepa.
- Inicio de evaluación de viabilidad de cepas (inicio del monitoreo del crecimiento tras 48 h).

Agosto 2023

- Continuación de preparación y siembra de cepas.
- Evaluación del crecimiento (morfología, tamaño, color).
- Inicio de la purificación de cepas viables.
- Inicio de pruebas de patogenicidad (KOH, Gram, pudrición en papa).

Septiembre 2023

- Continuación de purificación de cepas viables.
- Continuación y avance de pruebas de patogenicidad.
- Inicio de la extracción de ADN con kits especializados.

Octubre 2023

- Finalización de purificación de cepas viables.
- Continuación de pruebas de patogenicidad.
- Continuación y avance de extracción de ADN.
- Inicio del resguardo de ADN y cepas puras y estables (a temperatura ambiente, 4°C, -20°C o -80°C).

Noviembre 2023

- Finalización de pruebas de patogenicidad y extracción de ADN.
- Continuación del resguardo de cepas viables, puras y estables.

Diciembre 2023

- Continuación del resguardo de cepas para la colección del CNRF.

Enero 2024

- Cierre del proceso de resguardo de cepas. finalización de mi servicio social

5.9. Consideraciones éticas y de bioseguridad

El manejo de cepas bacterianas fitopatógenas se realizó bajo **estrictas normas de bioseguridad**, evitando riesgos para el personal, el ambiente y otros cultivos. El ingreso y salida del laboratorio fue controlado, y el material contaminado fue esterilizado o incinerado conforme a los lineamientos del CNRF y SENASICA.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5th ed.). Academic Press.
- Bergey, D. H., Holt, J. G., & Krieg, N. R. (2015). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Vol. 2). Springer.
- Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF). (2022). *Colección de cepas del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria*. SENASICA.
- Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF). (2022). *Manual interno de procedimientos del Laboratorio de Bacteriología*. SENASICA.
- EPPO. (2013). *Diagnostic protocols for regulated pests*. EPPO.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). (2013). EPPO standards PM 7/98: Specific requirements for laboratories preparing for accreditation for a plant pest diagnostic activity. *EPPO Bulletin*, 43(3), 364–373.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2020). *Plant health and food security*. <https://www.fao.org>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2020). *The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture*. <https://www.fao.org/3/i1500e/i1500e00.htm>
- Madigan, M. T., et al. (2017). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson.

- Norma Oficial Mexicana NOM-069-FITO-1995. (1995). Por la que se establece la campaña nacional contra bacteriosis del tomate. *Diario Oficial de la Federación*.
- Norma Oficial Mexicana NOM-069-FITO-1995. (1995). Procedimiento para el diagnóstico fitosanitario de bacterias fitopatógenas.
- Schaad, N. W., et al. (2001). *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria* (3rd ed.). APS Press.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2023). *Informe de actividades y resultados en sanidad vegetal 2022-2023*. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2023). *Funciones y objetivos del CNRF*. <https://www.gob.mx/senasica>
- Universidad Autónoma Metropolitana (UAM). (2023). *Perfil del egresado de la licenciatura en ingeniería agronómica*. Departamento de Producción Agrícola y Animal, UAM Xochimilco.
- Universidad Autónoma Metropolitana (UAM). (2023). *Plan de estudios de Ingeniería en Agronomía*. <https://www.admision.uam.mx>

VII. CALENDARIO DE ACTIVIDADES

El proyecto se desarrolló entre julio de 2023 y enero de 2024 en el Laboratorio de Bacteriología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF), adscrito a SENASICA.

Las actividades se organizaron trimestralmente, de acuerdo con los objetivos del proyecto:

Trimestre	Mes	Actividades principales
Julio - septiembre 2023	Julio	<ul style="list-style-type: none">• Preparación diaria de medios de cultivo BK (mañana).• Siembra de cepas en medios BK (tarde).• Etiquetado de cajas Petri con datos de la cepa.• Inicio de evaluación de viabilidad de cepas (inicio del monitoreo del crecimiento tras 48 h).
	Agosto	<ul style="list-style-type: none">• Continuación de preparación y siembra de cepas.• Evaluación del crecimiento (morfología, tamaño, color).• Inicio de la purificación de cepas viables.• Inicio de pruebas de patogenicidad (KOH, Gram, pudrición en papa).
	Septiembre	<ul style="list-style-type: none">• Continuación de purificación de cepas viables.• Continuación y avance de pruebas de patogenicidad.• Inicio de la extracción de ADN con kits especializados.
Octubre- diciembre 2023	Octubre	<ul style="list-style-type: none">• Finalización de purificación de cepas viables.• Continuación de pruebas de patogenicidad.• Continuación y avance de extracción de ADN.• Inicio del resguardo de ADN y cepas puras y estables (a temperatura ambiente, 4°C, -20°C o -80°C).
	Noviembre	<ul style="list-style-type: none">• Finalización de pruebas de patogenicidad y extracción de ADN.• Continuación del resguardo de cepas viables, puras y estables.
	Diciembre	<ul style="list-style-type: none">• Continuación del resguardo de cepas para la colección del CNRF.
Enero 2024	Enero	<ul style="list-style-type: none">• Cierre del proceso de resguardo de cepas. finalización de mi servicio social

Cada una de estas actividades contribuyó al logro de los objetivos específicos planteados, asegurando la trazabilidad y calidad de las cepas incluidas en la colección del CNRF y a la evaluación de viabilidad y conservación de cepas bacterianas fitopatógenas en el CNRF de SENASICA.