

CONSIDERACIONES TÉCNICAS SOBRE EL USO DE BIORREACTORES DE INMERSIÓN TEMPORAL (BIT) *

TECHNICAL CONSIDERATIONS ON THE USE OF TEMPORARY IMMERSION BIOREACTORS

Jara, G.¹, Muñoz. M.¹, Seemann. P.¹ y Daquinta, M.²

¹Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Universidad Austral de Chile. Chile. E-mail: gjara@uach.cl.

²Centro de Bioplantas. Universidad de Ciego de Avila (UNICA), Ciego de Avila, Cuba.

INTRODUCCIÓN

El uso del medio líquido para la propagación *in vitro* se considera una técnica ideal para la propagación masiva de plantas, porque reduce la manipulación y es un requisito indispensable para la automatización del proceso, además de disminuir los costos operacionales. Sin embargo, su principal desventaja es la hiperhidricidad de los tejidos. Para evitar este problema, se desarrollaron diferentes procedimientos, como el cultivo en agitación, el empleo de puentes de papel de filtro, tapones de celulosa, esponjas, canastas flotantes etc. así como el empleo de agentes químicos antivitrificantes. Alvard *et al.* (1993) estudiaron cinco métodos diferentes de cultivo en comparación con el medio sólido en

la propagación de meristemas de bananos, desde la cual surgió un nuevo concepto para el cultivo *in vitro* en medio líquido: la inmersión temporal. Esta técnica se ha empleado exitosamente en la proliferación de brotes múltiples, ya sea mediante organogénesis o embriogénesis somática (Cuadro 1) o para la obtención de brotes aptos para el enraizamiento *ex vitro* y la aclimatación siendo Cuba, uno de los países pioneros en el desarrollo tecnológico de este sistema (Escalona, *et al.* 1999). Mediante un entrenamiento realizado en el Centro de Bioplantas (Cuba), se logró obtener los conocimientos y capacitación para implementar y desarrollar el Sistema de Inmersión Temporal en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, de la Universidad Austral de Chile, el cual fue aplicado inicialmente para

Cuadro 1. Coeficientes de multiplicación en micropropagación convencional (MC) y en Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT).

Table 1. Multiplication coefficients on Conventional Micropropagation (CM) and Temporary Immersion Bioreactors (TIB).

Cultivo	Variedad	MC	BIT
Caña de Azúcar	Cayena Lisa	8.0	68.8
	C 91-301	3.7	34.1
	C1051-73	4.1	58.0
	C120-78	3.9	30.2
	C323-68	4.3	39.5
	C85-212	3.8	31.6
	C85-214	4.0	29.8
	CP-5243	4.0	32.5
Malanga	INIVIT	3.0	10.44
	México 1	2.8	7.71
Banano	FHIA-18	3.8	7.40
	FHIA-01	3.4	10.4
	Gran Enano	4.0	16.6
Syngonium	W Butterfly	7.3	28.0
	Pixie	2.2	18.4
Spathyphyllum	Sensation	3.7	17.6
Phylodendrom	Xanadu	2.0	8.8

Fuente: Centro de Bioplantas (2004)



Figura 1. Montaje Sistema de Inmersión Temporal en Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Universidad Austral de Chile.

Figure 1. Ensamble Temporary Immersion System in the Vegetable Tissue Culture Laboratory of the Universidad Austral de Chile.

el cultivo de tres especies, de tal forma de controlar alguno de los factores que influyen en el manejo de los BIT y del material vegetal, y de esta manera dejarlo en condiciones aptas para ser utilizado en la micropropagación de diferentes especies de *Rhodophiala chilenas*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la instalación del sistema se utilizó la tecnología propuesta por Escalona (*et al.* 1999). Las baterías de cultivo fueron frascos de vidrio de 1000 ml con tapa Twist off, con nipples de bronce, anillos de goma del nipple, mangueras de silicona autoclavables de 17", tuberías de PVC, filtros hidrófobos de 50 mm de diámetro y 0,2 mm de tamaño de poro, electroválvulas simples, programadores digitales y un compresor de aire. En un frasco se colocaron los explantes compuestos de diez brotes de *Lobelia bridge-sii*, *Ruta graveolens*, y *Nothofagus alessandri*. Se sembraron tres frascos de cada especie utilizando 40 ml de medio de cultivo por explante compuesto por las sales y vitaminas de Murashige y Skoog (1962) adicionado con 2,0% de sacarosa, 0,1 mg L⁻¹ de ANA y 1,0 mg L⁻¹ BAP, con un tiempo de inmersión de 3 minutos dos veces al día, por 25 días.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El trabajo operacional de los BIT, desde la esterilización del medio de cultivo hasta la siembra de las baterías involucra una menor manipulación de los frascos de cultivo, con lo cual los riesgos de contaminación son menores. Sin em-

bargo, para que esto sea efectivo, es necesario tomar ciertas precauciones, como ser; evitar que los filtros tomen contacto con el vapor del autoclave, que los nipples, tapas y mangueras estén correctamente apretados, de tal forma de evitar que se suelten producto del calor y la presión, además de evitar salidas de aire durante su funcionamiento. A pesar de que en la instalación de los BIT no fueron consideradas algunos de estos aspectos no se presentaron pérdidas de material vegetal por contaminación, con lo cual se logró un 100% de establecimiento de los brotes en las diferentes especies. Cada batería funcionó correctamente, lográndose la regeneración de brotes nuevos a partir de la primera semana, no obstante, uno de los factores importantes ha considerar es el tamaño de los explantes. De esta manera se puede concluir que la puesta en marcha de este sistema de multiplicación fue eficiente, con lo cual se encuentra en condiciones apropiadas para ser utilizado en ensayos de micropropagación de *Rhodophiala sp.*

REFERENCIAS

- ALVARO, D.; COTE, F.; TEISSON, C 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Effect of temporary immersion of explants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 32: 55-60
- ESCALONA M, J.C. LORENZO, J.C.; GONZÁLEZ, B.; DAQUINTA, M.; GONZÁLEZ, J.L.; DESJARDINS, Y.; BORROTO, G. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Reports* 18: 743-748.