



E-BOOK

SISTEMA DE IMERSIÓN TEMPORAL

TE-5000

ÍNDICE

3	INTRODUCCIÓN
4	CULTIVO DE TEJIDOS
5	MICROPROPAGACIÓN
7	BIORREACTORES
8	BIORREACTORES DE INMERSIÓN TEMPORAL
9	SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL CON ILUMINACIÓN LED (TE-5000)
11	APLICACIÓN
12	LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS Y MICROPROPAGACIÓN DE PLANTAS
14	CONSIDERACIONES FINALES
15	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

INTRODUCCIÓN

La **biotecnología** moderna tiene numerosas aplicaciones de gran potencial, siendo el cultivo y la propagación de tejidos vegetales en un entorno artificial el de mayor impacto en la investigación y la actividad agrícola.

Su uso es de gran importancia no solo en la generación de nuevos conocimientos científicos, sino también en la producción a gran escala de material de propagación con calidad genética y fitosanitaria asegurada.

CULTIVO DE TEJIDOS

El cultivo de tejidos vegetales o cultivo in vitro puede considerarse un conjunto de procedimientos de gran éxito en **biotecnología vegetal**, que permiten el crecimiento y multiplicación de células, tejidos y órganos vegetales en un medio nutritivo, en condiciones asépticas y controladas.

Las técnicas de cultivo de tejidos han sido mejoradas y perfeccionadas durante varias décadas, y actualmente es adoptado como un proceso rutinario por la agricultura, permitiendo la propagación de especies de manera más **eficiente** y **rápida**.

Entre los beneficios del **cultivo in vitro**, se puede destacar la producción de plántulas y propágulos de **calidad genética** y **fitosanitaria** superior, el desarrollo más rápido de nuevos cultivares, además de la conservación de germoplasma, importante para los programas de mejoramiento genético.

El **cultivo in vitro** se basa en la totipotencialidad celular, que se refiere a la capacidad que tiene un fragmento de célula vegetal (raíz, tallo, hoja, etc.) para generar un nuevo organismo, idéntico al que le dio origen.

MICROPROPAGACIÓN

También llamada multiplicación in vitro, la micropropagación consiste en el cultivo de porciones de tejido (explantes) extraídos de una planta y cultivados en condiciones asépticas. Para iniciar los cultivos se pueden utilizar órganos enteros o porciones (embriones, yemas, hojas, raíces y flores), así como tejidos, callos y/o incluso células vegetales sin pared celular (protoplastos).

Las etapas para el desarrollo de la micropropagación pueden variar, pero generalmente abarcan: la preparación de la planta madre, la selección y aislamiento del explante, el establecimiento del material en el medio de cultivo, la multiplicación de los propágulos, el enraizamiento y la fase final de aclimatación. En la siguiente figura, se muestra un esquema simplificado del proceso de micropropagación del olivo (*Olea europaea* L.).

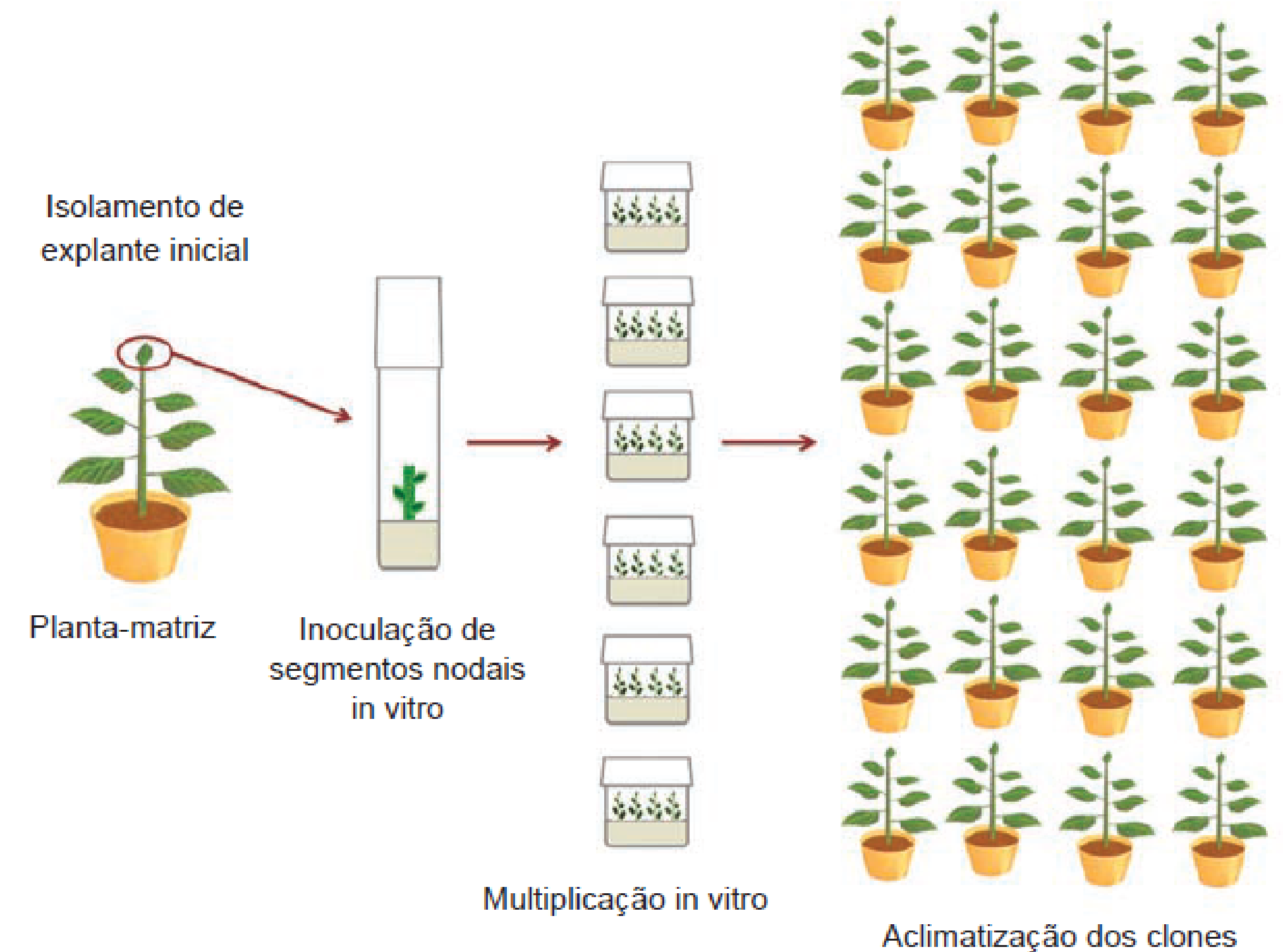


Figura 1: Esquema del proceso de micropropagación in vitro del olivo, con producción de clones genéticos a escala exponencial a partir de un explante aislado y una única planta madre (Cançado et al., 2013)

MICROPROPAGACIÓN

La **micropropagación** es considerada una de las principales técnicas de cultivo de tejidos y la de mayor impacto positivo en la agricultura, ya que apunta a una alta producción de **plántulas sanas** en un **corto período de tiempo** y en un **área reducida**, en comparación con la forma convencional.

Aunque es una práctica consolidada, la metodología tradicional de micropropagación se basa en cultivos en pequeños frascos que contienen un número reducido de plántulas en un medio nutritivo semisólido, lo que requiere mucha mano de obra, con un costo de hasta el 70% del costo final de la plántula. Además, debido al involucramiento de mano de obra y manipulación de cultivos in vitro, pueden ocurrir pérdidas tales como pérdidas por contaminación y mezclas varietales.



Para que la producción de plántulas por micropropagación sea comercialmente viable y compita con los métodos tradicionales de propagación (esquejes, injertos, etc.) es necesario reducir los costos de producción.

Una solución para posibilitar la micropropagación es el uso de **biorreactores** para la producción de plantas in vitro, considerada una alternativa promisorio. Los biorreactores pueden contribuir al establecimiento de metodologías más adecuadas, aumentando significativamente las tasas de multiplicación, así como reduciendo la mano de obra y el costo final.

En el sistema de micropropagación convencional se utiliza un medio de cultivo con consistencia gelatinosa, mientras que en los biorreactores se utilizan medios líquidos, sin el uso de solidificantes. La no utilización de estos insumos contribuye a la reducción del costo de producción, además de brindar un mejor crecimiento y rendimiento de las plantas, debido a las ventajas del medio líquido.

BIORREACTORES

Los biorreactores son equipos utilizados en el cultivo de tejidos vegetales, mediante la multiplicación de células o cualquier tipo de propágulo. Son equipos que utilizan medio de cultivo líquido, que pueden estar expuestos a inmersión temporal o permanente, ambos con renovación de aire durante el cultivo, pudiendo controlar parámetros de interés para el crecimiento, como la iluminación.

En los primeros modelos de biorreactores utilizados para la micropropagación, el material que se cultivaba se sumergía continuamente en el medio de cultivo. Esta inmersión continua provocó problemas de hiperhidratación en tejidos, órganos y plántulas.

Para minimizar este problema se desarrollaron **biorreactores de inmersión temporal**, donde el medio de cultivo permanece en contacto con el explante por un tiempo predeterminado.

BIORREACTORES DE INMERSIÓN TEMPORAL

Los biorreactores de inmersión temporal están destinados a obtener plántulas de forma automatizada a gran escala, con seguimiento y control de las condiciones de cultivo, además de una menor manipulación de los cultivos.

Ventajas:

- Reducción del costo de producción, por el uso de medios de cultivo líquidos y por el menor uso de mano de obra.
- Obtención de un gran número de plántulas, favoreciendo la producción a gran escala
- Renovación de aire y nutrientes durante el cultivo, lo que proporciona mayor crecimiento y multiplicación respecto al medio sólido
- Aumento de la tasa de transpiración
- Aumento de las tasas de fotosíntesis y respiración.
- Aumento de la absorción de nutrientes y reguladores del crecimiento, ya que el medio líquido entra en pleno contacto con la superficie de los explantes, como hojas, raíces, etc.,
- Reducción de la manipulación de explantes y de la hiperhidratación, lo que proporciona una mayor supervivencia de las plantas en la fase de aclimatación.

La manipulación de explantes se reduce en este sistema, como sucede en el sistema convencional. Solo se repone el recipiente que contiene el medio de cultivo, sin ningún contacto con el material vegetal, ya que se encuentra en otro recipiente.

SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL CON ILUMINACIÓN LED (TE-5000)

El TE-5000 es un equipo desarrollado para la producción de plántulas mediante el cultivo de células, tejidos u órganos, siendo posible controlar la **intensidad de la luz, el fotoperíodo, la frecuencia y el tiempo de inmersión.**

El sistema de inmersión temporal utilizado en la fase de **multiplicación y elongación celular**, paso que se realiza después del establecimiento del explante, que es la primera fase de la micropropagación. Posteriormente, las plantas retiradas del sistema de inmersión se cultivan en viveros o invernaderos (fase de aclimatación), y posteriormente se llevan a campo.

El sistema consta de **dos recipientes**, llamados frascos gemelos, conectados por dos mangueras y dispuestos en secuencia.

Su funcionamiento consiste en **transferir el medio de cultivo** desde un recipiente, donde se almacena el medio de cultivo, a otro recipiente donde se encuentran las plantas.



SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL CON ILUMINACIÓN LED (TE-5000)

La tapa de cada recipiente contiene dos entradas, una de las cuales permite el paso de una manguera que conecta los interiores de los dos recipientes y la otra entrada conecta cada recipiente a un compresor de aire. La presión de aire proveniente de un compresor empuja el medio de un recipiente a otro, empapando completamente las plantas.

El sistema está automatizado por un temporizador que controla un compresor y bombea aire a una determinada presión hacia el interior del recipiente donde se encuentra el medio de cultivo, haciendo que el líquido sea transferido a través de la manguera al otro recipiente que contiene las plantas.

Al ser transferido, el medio de cultivo cubre completamente los explantes por un tiempo programado por el temporizador. Tras permanecer en contacto con la materia vegetal, el líquido vuelve a su envase original, renovando la composición del aire.

La renovación constante de aire durante el período de transferencia del medio, puede eliminar los posibles gases, producidos por el metabolismo de las plantas, que pueden ser perjudiciales para el crecimiento y tasa de multiplicación de las plantas, como el etileno, por ejemplo.



APLICACIÓN

El sistema de inmersión temporal es un equipo utilizado en la multiplicación de plantas, a partir del cultivo de yemas, embriones y otros órganos en medio de cultivo líquido, obteniendo plantas con alta calidad fitosanitaria e integridad genética.

Esta forma de micropropagación garantiza la producción de plántulas a gran escala, con control de las condiciones de cultivo y con reducción de mano de obra y manipulación de cultivos.

Varias especies de plantas pueden ser cultivadas en el sistema de inmersión temporal, como por ejemplo **caña de azúcar, piña, mango, durazno, frijol, plátano, papa, tabaco, orquídeas, rosas, dátiles, fresa, café, uvas**, entre otras especies.

Una cultura que se ha destacado en relación a la propagación in vitro es el **Cannabis** y sus variantes, popularmente denominada marihuana o mariguana, cuyo uso ha ganado atención a nivel mundial debido a sus efectos positivos en el tratamiento de enfermedades neurológicas.

El cultivo tradicional de **Cannabis** favorece la variación de sus compuestos, que son los responsables de sus actividades medicinales. El **cultivo in vitro** puede minimizar esta variación, siendo una alternativa para un mayor control de sus efectos psicoactivos y eficacia para uso medicinal.

Debido a las ventajas, el desarrollo de un protocolo in vitro para la producción a gran escala de Cannabis de alta calidad para uso farmacéutico e industrial ha sido un área emergente de investigación.



Atención: Tecnal no apoya la comercialización o cultivo ilegal de Cannabis, así como no fomentamos ninguna otra práctica no permitida por la ley de cada país.

LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS Y MICROPROPAGACIÓN DE PLANTAS

Las actividades de este laboratorio deben realizarse en un ambiente aséptico y con control de variables como temperatura e iluminación.

La estandarización de las condiciones ambientales proporciona una mayor confiabilidad en los resultados obtenidos y un menor porcentaje de pérdida de material, ya que proporciona unas condiciones óptimas para el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Además del sistema de inmersión temporal, se requiere otro equipo:

- **Autoclave:** utilizada para la esterilización de medios de cultivo, agua y otros materiales.
- **Baño María digital**, modelo **TE-054-MAG** o **TE-056-MAG**: preparación del medio de cultivo

- **Campana de extracción de gases:** preparación de soluciones y reactivos, lo que garantiza la seguridad del analista.
- **Cámara de flujo laminar:** utilizada para la manipulación aséptica de material vegetal y la inserción del medio de cultivo en el frasco.
- **Cámara de crecimiento de plantas:** importante para la conservación de las plantas madre, que serán utilizadas para proporcionar el explante, utilizado en el inicio de la micropropagación. La conservación en un ambiente protegido garantiza plantas libres de contaminación y de alta calidad. Además, pueden ser útiles para preparar el material vegetal antes de la fase de aclimatación de las plantas.



Baño maria digital
TE-054-MAG

CONOCER



Baño maria digital
TE-056-MAG

CONOCER



Cámara climática para
crecimientos de plantas
TE-4002/3

CONOCER

LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS Y MICROPROPAGACIÓN DE PLANTAS

- **Destiladores de agua y ósmosis reversa:** para la eliminación de impurezas orgánicas e inorgánicas
- **Estufa de secado y esterilización,** modelo **TE-393/80L** o **TE-393/180L:** secado de vidriería y materiales utilizados en el proceso.
- **Incubadora con agitación orbital:** necesaria para cultivos en medios líquidos que necesitan estar bajo agitación constante.

Incubadora

- **Microscopio estereoscópico:** ampliamente utilizado para el paso de limpieza clonal.

Además, se utilizan equipos generales para la preparación de soluciones como **agitador magnético con calentamiento,** modelo **TE-0854** o **TE-0853/1** y **sin calentamiento,** modelo **TE-080** o **TE-089,** **agitador de tubos,** modelo **AP-56/1,** **medidor micro-procesado de pH,** modelo **R-TEC-7/3-MP** y **placa de calentamiento.**



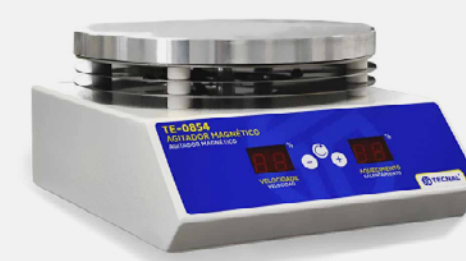
Agitador magnético con calentamiento
TE-0853/1

CONOCER



Agitador magnético sin calentamiento
TE-089

CONOCER



Agitador magnético con calentamiento
TE-0854

CONOCER



Medidor de PH digital microprocesado
R-TEC-7/3-MP

CONOCER



Agitador de tubos
AP-56/1

CONOCER

CONSIDERACIONES FINALES

Se han desarrollado nuevos sistemas de micropropagación para obtener mejoras en el proceso de producción de plantas in vitro a gran escala, con el objetivo principal de aumentar la productividad y reducir costos frente a las técnicas convencionales.

El sistema de inmersión temporal tiene varias ventajas frente al sistema de inmersión permanente, ya que permite una buena aireación del medio de cultivo y evita la excesiva hidratación del tejido vegetal. Tales beneficios se traducen en un mejor desarrollo y crecimiento de las plantas, aumentando el éxito del material vegetal en la etapa final de propagación, que precede a su siembra en campo.

REFERENCIAS

Adams TK, Masondo NA, Malatsi P, Makunga NP. Cannabis sativa: From Therapeutic Uses to Micropropagation and Beyond. *Plants (Basel)*. 2021 Sep 30;10(10):2078.

Cançado, Geraldo & Braga, Franciane & Souza, Rafaeli & Nunes, Claudineia & Ribeiro, Ana & Fontes, Bárbara. (2013). Cultivo in vitro da oliveira e suas aplicações. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/234047087_Cultivo_in_vitro_da_oliveira_e_suas_aplicacoes.

CARVALHO, L. S. O., OZUDOGRU, E. A., LAMBARDI, M., & PAIVA, L. V. Temporary Immersion System for Micropropagation of Tree Species: a Bibliographic and Systematic Review. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47, 269-277, 2019.


Elhiti, Mohamed. (2021). Medical Cannabis and Industrial Hemp Tissue Culture: Present Status and Future Potential. *Frontiers in Plant Science*. 12. 627204. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/349750916_Medical_Cannabis_and_Industrial_Hemp_Tissue_Culture_Present_Status_and_Future_Potential

Muñiz, R. (2018). La propagación in vitro de plantas con Sistemas de Inmersión Temporal. Una Tecnología Apropriada para la agricultura sustentable. *Tekhné*, 21(3). Disponível em: <https://oaji.net/articles/2019/7118-1556290129.pdf>



TRABAJANDO POR LA CIÊNCIA

tecnal.com.br/es

 +55 (19) 99744-1017
comex@tecnal.com.br