

Diseño y construcción de un sistema de inmersión temporal

Enrique Rosales Maldonado (1), Luis Enrique Rodríguez de Francisco (2), Omar Alvarado Gómez (1) y María Elizabeth Cárdenas Cerda (1)

(1) F. A. U. A. N. L. Marín, Nuevo León, México.

(2) C. I. S. A. T. Holguín, Cuba

RESUMEN. Se diseñó y construyó un equipo para un sistema de inmersión temporal para ser empleado en el proceso de minipropagación de plantas, mediante el uso de vasos, válvulas y timers, que regulan cuatro ciclos diarios y que pueden ajustarse hasta 12. La factibilidad de este equipo permite construirse con bajos insumos y a un bajo costo.

Palabras clave: Sistema inmersión temporal, diseño, micropropagación

ABSTRACT. An equipment for temporary immersion in the micropropagation system of explants was designed and constructed by means the employs of vases, valves and timers, which regulate four cycles daily and an regulator to twelve. The factibility of this equipment allows be constructed with low insumes and cost.

Key words: Temporary immersion system, design, micropropagation

INTRODUCCIÓN

Las técnicas biotecnológicas, en la actualidad han tomado mayor auge, pues hasta el momento para muchas especies vegetales, los sistemas de propagación tradicional no satisfacen las diversas demandas de estos cultivos, al igual que existen especies endémicas y/o en peligro de extinción, que como vía alternativa para su rescate y conservación. La biotecnología, todavía no ha cumplido con las expectativas existentes, para algunos cultivos recalcitrantes o no, es por eso que se han buscado variantes para lograr hacer como una herramienta muy útil, para lograr un mayor número de plantas sanas y con capacidad de desarrollarse en condiciones de campo.

Pero las técnicas biotecnológicas y en específico el cultivo *in vitro* más efectivo este proceso, en cuanto a lograr un mayor número de plantas, con menos costos, es por eso que se ha trabajado en los últimos años a nivel mundial, en la automatización de la micro propagación, ya sea de forma completa o parcial, o sea automatizar algunas de las fases, no el proceso completo, pues el empleo de robots, ha sido hasta ahora

un monopolio de los países más desarrollados; los países menos desarrollados deben buscar alternativas que sean sustentables y eficientes, para lograr dar el gran salto en la propagación *in vitro* de especies vegetales de interés agrícola y económico, así como en la conservación de la biodiversidad.

En el año 1997, surgió el denominado Sistema de Inmersión temporal, creado en el CIRAD de Francia (1), este sistema, se logró a partir de la aplicación de un flujo de aire a uno de sus frascos, el cual hacía subir el medio de cultivo y luego de bañar los explantes, el medio descendía por gravedad. Este método ha revolucionado los métodos tradicionales de micropropagación, pues se han logrado una mayor tasa de multiplicación, enraizamiento y aclimatación, así como niveles elevados de supervivencia en condiciones de campo (2), se plantea que este sistema provoca cambios en la atmósfera interna de los frasco, trayendo consigo un mayor crecimiento y desarrollo de los explantes, además de que las vitroplantas mantienen una capa superficial de medio de cultivo hasta la próxima inmersión, lo que evita la pérdida por desecación.

Por lo anteriormente planteado y por las grandes ventajas que ofrece este sistema, es que nos hemos dado a la tarea de diseñar y construir un sistema similar, para su utilización en los Laboratorios de nuestra Facultad, y que permita a nuestra Institución y al país, contar con tecnología de avanzada en sus Centros Universitarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el diseño y construcción de este sistema se analizaron otros utilizados para el mismo propósito, como es el caso del desarrollado por los franceses (3), y el de los cubanos los cuales tienen el inconveniente de que resultan demasiado costosos. Tratando de evitar el alto costo de este producto se construyó el equipo que a continuación describimos.

El sistema es muy sencillo para su fabricación y fue construido en su totalidad con componentes que se pueden comprar en el comercio local, con excepción de los filtros, que son de importación. Básicamente consiste en dos recipientes de vidrio en forma cilíndrica con boca ancha de 250 mL. de capacidad, cada uno de los cuales lleva un tapón de hule al que se le hacen dos orificios de 5 mm en los que se introducen dos tubos de vidrio también de 5 mm. Uno de ellos hasta el fondo del recipiente saliendo 8 cm. por encima del tapón y el otro se introduce hasta que queda al ras de la parte inferior del tapón, y sale 8 cm en la parte superior del tapón. Mediante una manguerita de plástico flexible y transparente se conectan los dos recipientes, uniendo los tubos de vidrio que se introdujeron hasta el fondo de los recipientes. Por los otros tubos de vidrio que no llegan al fondo de los recipientes se introduce aire por medio de un compresor, primero en uno y luego en el otro, cuando se introduce aire en el recipiente que contiene los explantes y el medio nutritivo en forma líquida la presión aumenta en el interior del recipiente haciendo que el líquido que se encuentra dentro de él suba por el tubo de vidrio y pase hacia el otro recipiente (principio de Pascal) cuando todo el líquido ha pasado al otro recipiente, se invierte el proceso, regresan-

do el líquido al recipiente que contiene los explantes.

Todo este proceso es controlado mediante dos "controladores de tiempo" los que son programados para que realice este ciclo con 4 frecuencias al día, uno de los controladores de tiempo se programa para que abra una válvula solenoide la cual permite que el aire penetre a sólo uno de los recipientes, haciendo que el líquido pase de un recipiente a otro, inmediatamente después, si se necesita (o se le puede dar el tiempo que se requiera) se cierra esta válvula mediante el controlador de tiempo y se abre la otra válvula mediante el otro controlador de tiempo permitiendo la entrada de aire al recipiente, regresando el líquido al recipiente que contiene los explantes, este proceso se repite las veces que se requiera durante el día mediante la programación de los dos controladores de tiempo. Tal como se indica en las figuras siguientes (Figuras.1, 2 y 3).

En el primer evento, cuando el aire entra hace presión en el interior del recipiente y hace que el líquido pase de un recipiente a otro, la entrada del aire se realiza mediante una válvula S1 que se abre mediante un controlador de tiempo (Timer T1) permaneciendo cerrada la válvula S2 del otro recipiente mediante otro controlador de tiempo (Timer T2)

En el segundo evento, cuando entra el aire en el segundo recipiente, la presión hace que el líquido regrese al primero mediante la válvula S2 que es abierta por otro controlador de tiempo T2, terminando el ciclo. La válvula S2 del primer recipiente permanece cerrada.

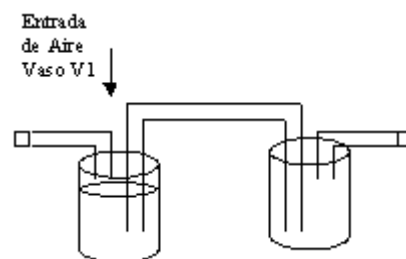


Figura 1. Primer evento

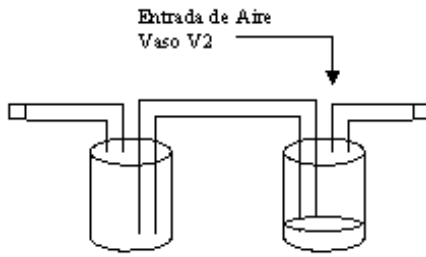


Figura 2. Segundo evento

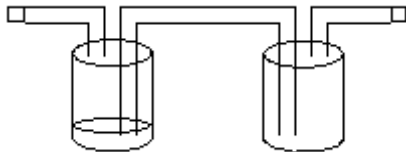


Figura 3. Ciclo completo, en el que el líquido regresa a su posición original.

La entrada de aire hacia el vaso V1 y hacia el vaso V2 es controlada en la forma que se indica en la figura 4.

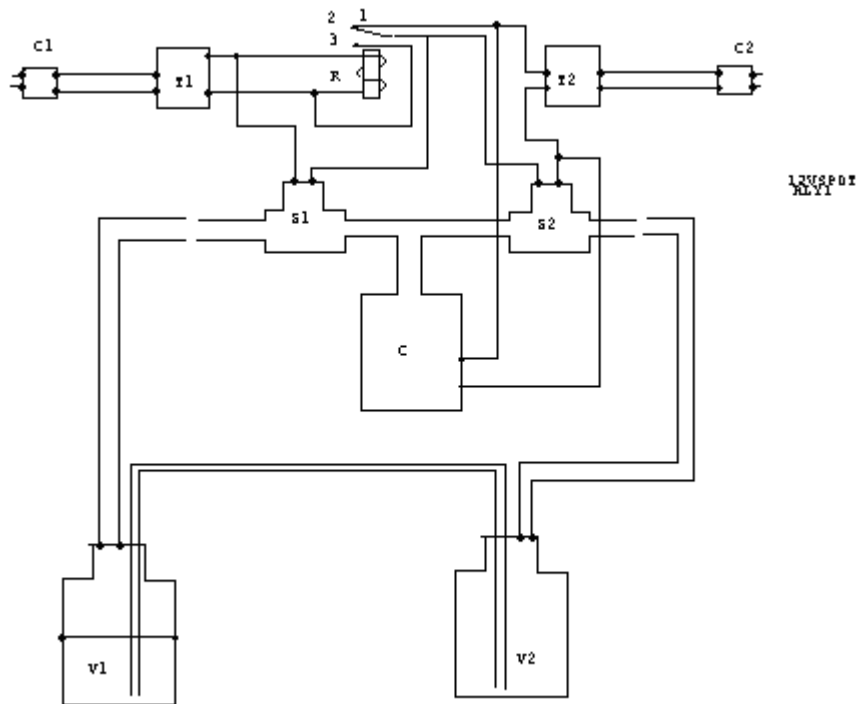
Funcionamiento

- (1) Se programan los “timer” para que funcionen cuatro veces al día. El “timer” T1 (por ej.) se programa para que encienda a las 8:30 a.m. y para que se apague a las 8.31 a.m. mientras que el “timer” T2 se programa para que encienda a las 8:30 a.m. y que se apague a las 8:32.

- (2) Se conectan C1 y C2 al voltaje alterno de 110 volts.

Explicación

Cuando el “timer” T1 se activa a las 8.30, energiza el “relay” conectando las patas 2 y 3 del “relay”, desconectando las patas 1 y 2. La conexión de las patas 2 y 3 del “relay” permite que le llegue corriente eléctrica a la válvula S1 (que es normalmente cerrada) que se abre permitiendo pasar el aire del compre-



- C1 y C2 son enchufes que se conectan a 110 volts.
- T1 y T2 son controles de tiempo “Timers” que funcionan con voltaje alterno de 110 volts.
- R es un interruptor electromagnético “relay” con tres contactos 1, 2 y 3
- S1 y S2 son válvulas electromagnéticas que funcionan con voltaje alterno de 110 v
- C es un compresor que funciona con voltaje alterno de 110 volts.
- V1 y V2 son vasos de vidrio de 250 ml.

Figura 4. Diagrama Electro-neumático del Sistema de Inmersión Temporal

sor a través de ella hacia el vaso V1. En el mismo instante en que se abre la válvula V1, el "timer" T2 enciende el compresor, ya que T1 y T2 están programados para encender al mismo tiempo (8:30 a.m.) debido a que las patas 2 y 3 del "relay", en este lapso de tiempo están desconectadas y no pasa corriente eléctrica hacia la válvula S2, manteniéndola cerrada. Cuando transcurre un minuto el "timer" T1 se apaga (8:31) desenergizando el "relay" que desconecta las patas 2 y 3, cerrando la válvula S1, y abriendo la válvula S2 pues el "relay" conecta las patas 1 y 2 que permiten pasar corriente hacia la válvula S2, que también es normalmente cerrada, esto último hace que ahora el aire se introduzca en el vaso V2 haciendo que el líquido regrese hacia el vaso V1, durante un minuto, que una vez transcurrido se cerrara la válvula S2 y se apagara el compresor puesto que el "timer" T2 fue programado para que se apagara a las 8:32 a.m.

Todo esto que se ha explicado aquí se puede repetir cuantas veces se quiera mientras lo permita el tipo de "Timers" empleado y teniendo en cuenta el tiempo y la frecuencia de inmersión, en dependencia del objetivo del trabajo y del cultivo empleado, pero en este caso específico explicaremos el "Timers" de 4 tiempos.

Si queremos que se repita este proceso hacemos lo siguiente con los "timer T1 y T2

| Encendido | Apagado |
|-------------------|------------|
| "Timer" T1 | |
| 10:30:00 a.m. | 10:31 a.m. |
| 12:30:00 p.m. | 12:31 p.m. |
| 14:30 p.m. | 14:31 p.m. |
| "Timer" T2 | |
| 10:30 a.m. | 10:32 a.m. |
| 12:30 p.m. | 12:32 p.m. |
| 14:30 p.m. | 14:32 p.m. |

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El sistema se puso en funcionamiento para repetir cuatro ciclos completos diarios, durante un lapso de dos meses, encendiendo y apagando tal y como fue programado, sin falla alguna en sus componentes y con un costo total de

10,000 pesos, motivo por el cual recomendamos su uso a quienes se dan la tarea de multiplicar explantes.

Con este diseño del sistema de inmersión temporal solamente se pueden hacer cuatro ciclos completos, debido a que es lo que nos permiten los controladores de tiempo "timers", si se necesitaran para alguna actividad más ciclos, bastaría con agregar dos "timers" T3 y T4 conectándolos en paralelo en las salidas de los "timers" T1 y T2 que nos permitiría aumentar los ciclos diarios del sistema de cuatro a ocho, de la misma manera se haría para aumentar los ciclos completos de ocho a doce. En la siguiente tabla aparece programado el sistema de inmersión temporal para ocho ciclos completos, este es un ejemplo hipotético de cómo emplear este sistema.

| Enciende | Apaga | Enciende | Apaga |
|-------------------|------------|-------------------|------------|
| "timer" T1 | | "timer" T3 | |
| 8:30 a.m. | 8:31 a.m. | 16:30 p.m. | 16:31 p.m. |
| 10:30 a.m. | 10:31 a.m. | 18:30 p.m. | 18:31 p.m. |
| 12:30 p.m. | 12:31 p.m. | 20:30 p.m. | 20:31 p.m. |
| 14:30 p.m. | 14:31 p.m. | 22:30 p.m. | 22:31 p.m. |
| "timer" T2 | | "timer" T4 | |
| 8:30 a.m. | 8:32 a.m. | 16:30 p.m. | 16:32 p.m. |
| 10:30 a.m. | 10:32 a.m. | 18:30 p.m. | 18:32 p.m. |
| 12:30 p.m. | 12:32 p.m. | 20:30 p.m. | 20:32 p.m. |
| 14:30 p.m. | 14:32 p.m. | 22:30 p.m. | 22:32 p.m. |

BIBLIOGRAFÍA

Teisson, C. (1997): RITA an apparatus for application of temporary inmersión in plant tissue culture. BIOVEG '97. Técnicas de avanzada aplicadas a la propagación masiva de plantas. Libro de Resúmenes.

Pérez Ponce, J.N. (Ed.), (1998): *Propagación y Mejora de Plantas por Biotecnología*. Santa Clara, Cuba, 400 pp.

Martre Pierre *et al.* (2001): "Physiological effects of temporary immersion on *Hevea brasiliensis* callus plant cell and tissue". *Organ Culture* 67: 25-35.

