

Diseño y construcción de un sistema de inmersión temporal de bajo costo para la propagación *in vitro* de plantas bajo el enfoque de una tecnología apropiable

Rafael Muñiz

rmuniz53@gmail.com

Centro de Investigación y Desarrollo de Ingeniería
Universidad Católica Andrés Bello

Recibido: 12 de junio de 2019

Aceptado: 11 de julio de 2019

Disponible online: 12 de julio de 2019

Resumen: El desarrollo sostenible del sector agrícola que propone la FAO como un medio para reducir el déficit de alimentos que enfrenta la humanidad, se define como el incremento de la producción a partir de la misma área de tierra, preservando el medio ambiente y contribuyendo al capital natural y al humano. El desarrollo de una biotecnología agrícola que sea apropiada y apropiable implica el diseño y la implementación de herramientas capaces de contribuir al desarrollo sostenible además de cumplir con otros requisitos tales como: ser técnicamente factibles dentro del nivel de desarrollo técnico-científico de una comunidad; proveer beneficios tangibles a los destinatarios; ser ambientalmente seguras, y social, económicamente y culturalmente aceptables. La propagación de tejidos vegetales *in vitro* permite multiplicar diversas especies y obtener material vegetal libre de agentes contaminantes sea del tipo químico como biológico. Sin embargo, los elevados costos que se generan, debido a los insumos, los equipos, la infraestructura necesaria y la necesidad de un personal especializado le han limitado el uso de este tipo de biotecnología a los pequeños productores. Los biorreactores ofrecen una alternativa viable que permite solventar varias de esas limitaciones. En particular los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT) constituyen una de las alternativas más simples para fabricar biorreactores a bajo costo. El propósito de este trabajo es el de diseñar y construir un SIT de bajo costo con el objetivo de transferir esta tecnología desde el sector académico al productivo promoviendo su aplicación por los agricultores familiares.

Palabras clave: sistemas de inmersión temporal, propagación de plantas *in vitro*, tecnologías apropiadas, agricultura familiar.

Design and construction of a low cost temporary immersion system for *in vitro* plant propagation under the approach of appropriable technology

Abstract: The sustainable development of the agricultural sector proposed by FAO as a means to reduce the food deficit facing humanity is defined as the increase of production from the same area of land, preserving the environment and contributing to the capital natural and human. The development of an agricultural biotechnology that is appropriate and appropriable involves the design and implementation of tools capable of contributing to sustainable development in addition to meeting other requirements such as: being technically feasible within the level of

technical-scientific development of a community; provide tangible benefits to the recipients; be environmentally safe, and socially, economically and culturally acceptable. The propagation of plant tissues *in vitro* allows multiple species to multiply and obtain plant material free of contaminating agents, either chemical or biological. However, high costs generated due to inputs, equipment, necessary infrastructure and the need for specialized personnel have limited the use of this type of biotechnology to small producers. The bioreactors offer a viable alternative that allows to solve several of those limitations. In particular, the Temporary Immersion Systems (SIT) constitute one of the simplest alternatives to manufacture bioreactors at low cost. The purpose of this work is to design and build a low cost SIT with the objective of transferring this technology from the academic sector to the productive sector, promoting its application by family farmers.

Keywords: temporary immersion systems, propagation of *in vitro* plants, appropriate technologies, family farming.

I. INTRODUCCIÓN

En un contexto global, los sistemas actuales de producción y distribución de alimentos no han logrado alimentar de una forma eficiente a la población del planeta. Cerca del 75% de las personas más gravemente afectadas por las deficiencias en la alimentación viven en zonas rurales y sus medios de subsistencia dependen directa o indirectamente de la agricultura [1].

En los próximos años la intensificación de la producción agrícola será necesaria de manera particular en zonas de producción marginales que son las que presentan condiciones productivas menos fiables, con menor calidad del suelo, menor acceso al agua y climas menos favorables

La biotecnología se utiliza para resolver problemas en todos los aspectos de la producción agrícola: para elevar y estabilizar el rendimiento de los cultivos, mejorar la resistencia a las plagas, a condiciones abióticas adversas como la sequía y el frío, y

aumentar el contenido nutricional de los alimentos.

En los últimos años el desarrollo de las técnicas de propagación *in vitro* de tejidos vegetales ha tenido un gran impulso, debido a que aumenta la producción de material vegetal libre de patógenos, con mayor vigor y homogeneidad genética, lo que ha permitido incrementar la productividad de numerosos cultivos hortícolas, frutales, forestales y ornamentales de alto valor comercial [2].

Por otro lado se debe tomar en cuenta que también existen algunas limitaciones. Esta técnica presenta mayores costos de instalación y de mantenimiento que la propagación tradicional. Requiere de áreas de ambiente controlado y de equipos apropiados tales como autoclaves y cámaras de crecimiento además de un personal capacitado y emplea insumos que son costosos y muchas veces difíciles de conseguir en los países en vías de desarrollo.

En relación al tema de los costos varios investigadores coinciden en que las principales causas de los altos costos de

producción son el elevado número de operaciones manuales y el uso de agentes gelificantes (agar) en los medios de cultivo como soportes de los explantes. Los costos de mano de obra en la micropropagación comercial han sido estimados en rangos que oscilan entre el 40 % y el 90 % del costo final de las plantas. La omisión del gelificante en el medio de cultivo definitivamente reduciría los costos de producción de las plantas y facilitaría el proceso de automatización de la micropropagación [3].

Por otra parte, el uso de medios de cultivo líquidos en las etapas de la micropropagación se considera otra ruta ideal para reducir los costos de producción del cultivo, además de permitir la automatización de la producción y con ello disminuir el importe de la mano de obra [4].

Estas limitaciones justifican el diseño de nuevas tecnologías que ofrezcan las ventajas de poder obtener un gran número de plantas en un tiempo y espacios relativamente reducidos y que cumplan también con otros tipo de requisitos como su simplicidad y su bajo costo. Los biorreactores constituyen una tecnología especializada, equipada y diseñada entre otros fines para el cultivo de tejidos vegetales.

El uso de biorreactores ofrece una serie de ventajas entre las que se pueden incluir: un aumento en el tamaño de las plántulas propagadas masivamente en lapsos de tiempo relativamente cortos, la reducción de los costos de manejo, simplifica las labores de inoculación y de la cosecha, no requiere del uso de muchos recipientes ni de una amplia área de trabajo; el contacto directo y

permanente de los explantes con el medio líquido puede favorecer su crecimiento; la aireación forzada incrementa la biomasa desplazando el crecimiento apical y estimulando el desarrollo de brotes laterales [5].

Existen diversos diseños de biorreactores que pueden ser utilizados para el cultivo de tejidos vegetales y la elección del diseño óptimo para una aplicación específica depende de un cierto número de parámetros. Algunos de los parámetros más importantes son: la transferencia de oxígeno, la eficiencia del mezclado, y que los niveles de la agitación en el sistema permanezcan a un nivel de estrés aceptable [6].

Los biorreactores para el cultivo in vitro de plantas se clasifican en base a dos criterios generales: según su sistema de agitación, que puede ser de tipo mecánico o neumático y también de acuerdo al tipo de proceso de inmersión que puede ser del tipo permanente o el de inmersión temporal.

Los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT) son sistemas de cultivo periódicos basados en la alternancia de los ciclos de inmersión del material vegetal cultivado en el medio líquido seguido por el drenaje y la exposición del tejido a un entorno gaseoso [7].

Todos estos sistemas cumplen con una serie de condiciones entre las que se encuentran: evitar la inmersión continua del material vegetal en el medio de cultivo; proveer una adecuada transferencia de oxígeno; facilitar los cambios secuenciales y automatizados del medio de cultivo; reducir la contaminación microbiana y en general se busca que tengan

un costo menor a la de otros reactores convencionales.

En un trabajo previo de investigación de tipo documental realizado por el autor y publicado en fecha reciente en la Revista Tekhné [8] se evidencia el estado del arte de los Sistemas de Inmersión Temporal haciendo énfasis en los equipos que son de bajo costo. En el mismo artículo se detallan cuales deben ser las condiciones óptimas de operación de estos equipos. Como conclusión de este estudio previo se determinó que la opción más simple de construir con materiales ordinarios y la que tendría el menor costo sería el modelo de balancín. Esta decisión estuvo sustentada en una serie de criterios que se presentan a continuación [8]:

- Es uno de los diseños más simples entre los SIT ya que utilizan una plataforma mecánica para inclinar los recipientes de cultivo en un ángulo determinado, de modo que el medio se pueda trasladar de un extremo del recipiente al otro, y viceversa.
- Los recipientes de cultivo suelen ser fabricados con plástico transparente y tienen forma rectangular con una apertura, la cual es cerrada por una tapa de rosca que contiene un filtro en su interior. Al usar recipientes plásticos en sustitución del vidrio se reducen los costos en material y en el proceso de autoclavado de los recipientes.
- Permite acomodar un buen número de recipientes de cultivo en una misma bandeja para hacer pruebas con distintos medios de cultivo y/o diferentes especies de plantas en forma

simultánea bajo las mismas condiciones de temperatura, fotoperiodo y calidad e intensidad lumínica entre otros.

- No se requiere la conexión de otros dispositivos adicionales para proporcionar el suministro de aire al sistema ni de complejos sistemas de control utilizando electroválvulas, temporizadores digitales y otros dispositivos costosos.
- Aunque se requiere hacer una cierta inversión para construir un SIT de modelo balancín existen formas de reducir los costos de construcción y de consumo de energía siguiendo un enfoque de Tecnologías Apropriadas modificando los siguientes aspectos: simplificando el diseño, empleando materiales de bajo costo, mantener los cultivos bajo luz solar natural que posee mejor calidad lumínica y mayor intensidad que la luz fluorescente.

II. CRITERIOS DE DISEÑO PARA UN SIT DEL TIPO BASCULANTE

Para lograr el crecimiento y la multiplicación eficiente de los tejidos en los SIT es necesario controlar una serie de parámetros: la duración y frecuencia de las inmersiones, el suministro adecuado de nutrientes, una ventilación eficiente de los tejidos de la planta, usar un volumen adecuado de medio nutritivo y garantizar el contacto intermitente entre toda la superficie del tejido y el medio líquido [9].

Además de estas especificaciones que ya acotamos podemos incluir otras como criterios a tomar en cuenta para el diseño y construcción de un equipo que pueda cumplir

con las condiciones que lleven a resultados exitosos.

1. Las dimensiones y el peso del equipo deben ser adecuados para un área limitada (equivalente una mesa de comedor) y el equipo debe poder transportarse con facilidad y que sea fácil de armar y desarmar.
2. La bandeja del balancín acomode el mayor número de recipientes de cultivo lo que permite efectuar ensayos con diferentes medios de cultivo e incluso distintas especies vegetales en un mismo ciclo de experimentos bajo las mismas condiciones ambientales
3. Debe mantener un ángulo de oscilación alrededor de los 30° para garantizar que el medio migre completamente de un extremo a otro del recipiente durante los ciclos de inmersión y de secado
4. El sistema de propulsión mecánico de utilizar un motor de bajas rpm o en su defecto se requiere de un reóstato que permita su graduación de forma que el movimiento de giro sea lento y su traducción al movimiento oscilante no se realice de forma abrupta.
5. Los envases para el cultivo deben ser reciclables, traslúcidos y deben soportar tratamientos de sanitización química que permitan controlar a un mínimo la población de microorganismos.
6. Los recipientes de cultivo deben contar con una tapa de cierre efectivo y deben tener acceso a la atmósfera a través de un sistema de filtros.
7. Se debe contar con un temporizador o en su defecto el poder disponer de un sistema en el que sea posible fijar en el curso del día y de

la noche las horas donde se debe activar el ciclo de inmersión

8. Acoplado al temporizador debe operar un circuito que controle el número de ciclos de inmersión que seguirá el sistema a una hora prefijada y el tiempo que permanecerá en movimiento el balancín. Este parámetro es importante para airear el material vegetal al moverse el frente del solvente dentro del envase. Este circuito debe garantizar que la bandeja permanezca siempre en la posición de no hidratación hasta que inicie el siguiente ciclo

III. OBJETIVOS

- Diseñar un Sistema de Inmersión Temporal de tipo basculante con materiales que por su simplicidad y su bajo costo se encuentren al alcance de las comunidades de bajos recursos y que pueda cumplir con los criterios de diseño que se especifican en el punto 2 del trabajo.
- Fabricar un prototipo de SIT que pueda constituirse en una tecnología apropiada y apropiable por los pequeños agricultores.
- Evaluar los resultados preliminares del funcionamiento físico con el prototipo y establecer las modificaciones que se deberían realizar en el equipo de forma de mejorar su eficiencia y el funcionamiento posterior del sistema.

IV. MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS DE DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL SIT BASCULAR

La construcción del prototipo del SIT bascular y las pruebas efectuadas a ese dispositivo se realizaron en un local de la UCAB que fue adaptado como laboratorio donde se contaba con muy pocos recursos, tratando de emular, lo más cercano que fuera posible, las condiciones de que podría disponer un agricultor en su ambiente normal de desempeño.

A. Diseño y construcción del balancín

Los insumos que se utilizaron para la fabricación del sistema mecánico del balancín en su mayor parte fueron de madera y se obtuvieron a partir de materiales de desecho y de equipos que fueron desincorporados de otros laboratorios y dependencias de la universidad

El sistema de balancín, como se muestra en la Figura 1 se construyó a partir de dos gavetas idénticas de madera (60 cm de largo, 44 de ancho, 10 cm de altura y 20 mm de espesor). La gaveta que se colocó en la parte superior del equipo es la que realizará el movimiento oscilante y servirá también como bandeja contenedora para los recipientes de cultivo donde se colocará el material vegetal. Una de las bondades principales de este tipo de diseño es que es posible ubicar nueve recipientes en la gaveta superior. La segunda gaveta sirve como base de sostén para darle estabilidad al equipo. Ver también Figura 2 y 3.

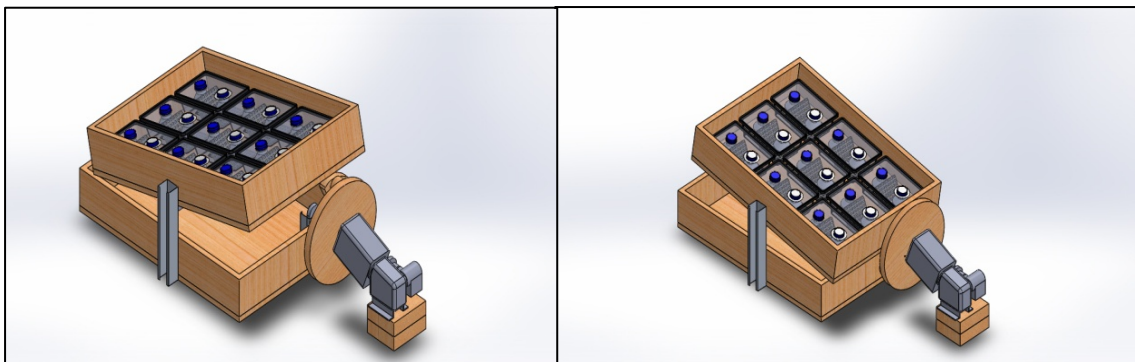


Figura 1: Posiciones de inmersión y de secado en el SIT de tipo balancín. Esquemas copiados a partir del programa Solid Work®, versión 2010



Figura 2: Posición de la gaveta del balancín, fase de inmersión



Figura 3: Posición de la gaveta del balancín, fase de secado



Figura 4: Detalle del montaje de los tubos que permiten el giro de la gaveta superior del balancín. El tubo interno de 46 cm de largo, 2.5 cm de diámetro externo y un espesor de 1 mm se introduce en un segundo tubo de: 40 cm de largo, 4 cm de diámetro externo y un espesor de 2 mm. El tubo externo sujeta la gaveta superior con tornillos

Para soportar la gaveta superior y al mismo tiempo permitir su giro se colocaron dos soportes metálicos en la posición media entre las dos gavetas, los soportes se construyeron con material de desecho de paneles de aglomerado para oficinas.

Para permitir la oscilación de la gaveta superior los dos perfiles fueron perforados en su extremo superior con el propósito de introducir a través de ellos dos tubos concéntricos, uno de menor diámetro, que sirven como eje de rotación. Los dos tubos se obtuvieron a partir de restos de material de plomería y de los tubos que se emplean en las instalaciones eléctricas. Se pueden ver los detalles del montaje del eje doble y sus dimensiones en la Figura 4.

La forma de propulsión que permitió el desplazamiento de la gaveta superior se logró mediante el uso de un motor de corriente alterna Tubingen de 50 w y de velocidad variable entre 2 y 20 rpm. Un botón externo conectado a un engranaje ligado internamente al motor permitió graduar el movimiento angular.

Este motor formaba parte de una bomba peristáltica y fue donado por el Laboratorio de Ingeniería Sanitaria de la UCAB, el equipo se modificó eliminando el cabezal que cumplía con sus funciones originales, conservando el motor que debido a sus bajas revoluciones por minuto permitió que el dispositivo oscilara sin esfuerzo a muy bajas revoluciones por minuto (5 -7 rpm)., con las que se operó el sistema bascular.

La conversión del movimiento de giro entre el eje del motor y la gaveta superior de forma de poder aplicar en esta un movimiento de tipo oscilante con sentido vertical según requiere la operación del balancín se logró acoplando la salida del motor mediante un eje metálico (50 cm de largo y 1 cm de diámetro) que se introdujo a través de un disco de madera (25 cm de diámetro y 2 cm de espesor) que se desplazará con el giro del motor.

En la Figura 5 se muestra el diseño del dispositivo de conversión (disco de madera) en la que se puede notar que sobre la superficie frontal del disco y en dirección a la gaveta se fijó mediante dos espaciadores de madera circulares (4 cm de diámetro y 2 cm de espesor) una segunda pieza fabricada con el mismo material del disco que tiene una forma semicircular (14 cm de diámetro máximo 7 cm del centro al borde y 2 cm de espesor).

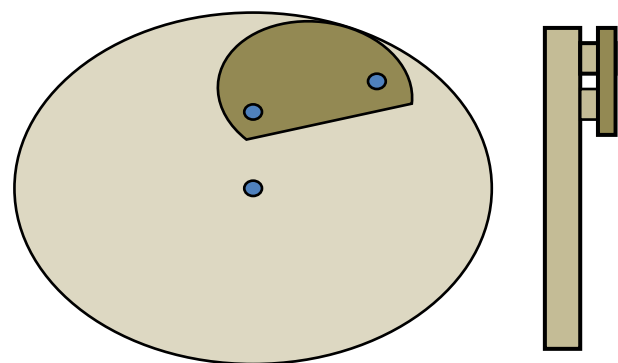


Figura 5: Diseño del dispositivo de conversión (disco de madera) que transmite el movimiento de giro del motor a la gaveta superior del balancín.

Fuente: Elaboración propia.

Esta pieza fue colocada en una posición excéntrica sobre el disco mayor y fue el punto de contacto con el borde de la gaveta

superior, logrando de esta forma el movimiento requerido. Podrá notar otros detalles de este dispositivo en la Figura 6.



Figura 6: Montaje del disco de madera que transmite el movimiento desde el motor a la gaveta superior del balancín. Observe la posición de la pieza de madera semicircular en posición excéntrica colocada al frente del disco.

Este sistema de transmisión del movimiento se construyó en base a los requerimientos del ángulo de giro que debe alcanzar la gaveta superior y a las propias dimensiones del dispositivo.

Una vez que se pudo contar con todos los materiales y una primera versión del prototipo del balancín se procedió a realizar una simulación del movimiento oscilante del equipo utilizando el programa Solid Work[®], versión 2010. de licencia estudiantil con el propósito de efectuar los ajustes al diseño. Las simulaciones permitieron hacer modificaciones básicamente en la altura de los soportes de la gaveta superior, en la posición de los ejes de giro y en las medidas y la geometría del disco de madera que traduce el movimiento de giro del motor a uno

de tipo oscilante. El simulador además permite evaluar el movimiento del balancín a distintos valores de rpm en el motor.

B. Modificación de un envase plástico para adaptarlo como recipiente para la propagación in vitro de plantas

Otro de los aspectos fundamentales que se deben tomar en cuenta en el diseño del Sistema de Inmersión Temporal de tipo basculante se relaciona con la clase de recipiente que se utilizará en los ensayos como receptáculo para contener los explantes y el medio de cultivo.

A tal efecto se emplearon envases plásticos de forma rectangular con una geometría ligeramente piramidal (del tipo de los que se utilizan para calentar la comida en el microondas) estos envases son fabricados de PVC y cuentan con una tapa de buen sellado lo que previene la pérdida del liquido durante el proceso aunque este tipo de tapa no es hermética.

Las dimensiones del recipiente son de 12 cm x 17 cm en su extremo rectangular superior y de 15 cm x 9 cm en el rectángulo de la base, su altura es de 6 cm. Estas medidas le permiten al envase disponer de una capacidad operativa de hasta 100 ml del medio de cultivo. [10] Este volumen fue estimado en condiciones de operación garantizando que se cubriera en forma suficiente el compartimiento del envase en la fase de inmersión y que el líquido al retornar con el movimiento de balancín permaneciera seco el otro compartimiento durante la etapa de no hidratación.

Como se muestra en la Figura 7 se añadió al envase original una rejilla plástica (9 cm x 12 cm) que se puede doblar con mucha facilidad sin llegar al quiebre y que se coloca

en el interior del envase como separador. La función de esta rejilla es establecer dos compartimientos permitiendo a su vez el flujo del medio entre las dos posiciones

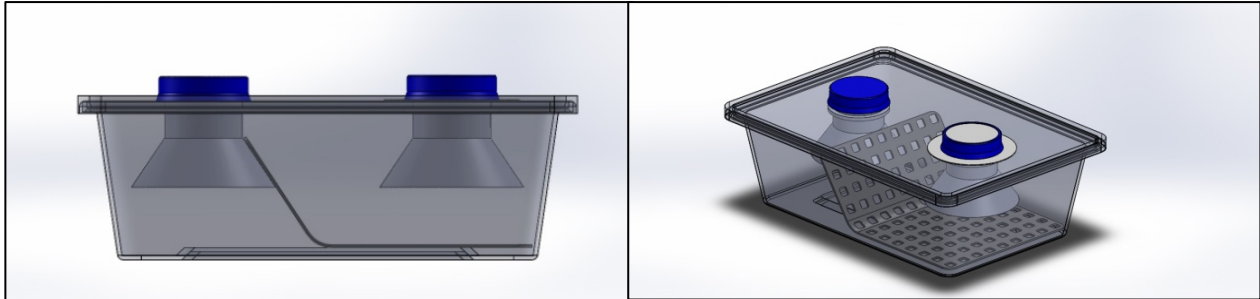


Figura 7: Diseño de los recipientes de inmersión temporal para la propagación *in vitro* de plantas.
Fuente: programa Solid Work®, versión 2010

Este tipo de rejilla fue obtenida a partir de fuentes comerciales (ferretería) y cuenta con orificios de 5 mm^2 , la rejilla se mantiene en su posición doblada sujeta por la boca de una botella de refresco estándar comercial de 600 ml. Según se evidencia en la Figura 7 en la tapa del recipiente se hicieron dos perforaciones ajustando en cada una el segmento cónico que permaneció al cortar el extremo superior de una botella de agua comercial (600 ml) a una distancia de la tapa de 4 cm.

En la Figura 6 se muestran varios detalles de las modificaciones efectuadas al recipiente para adaptarlo al cultivo de los explantes vegetales. Como indicamos antes la forma cónica de la tapa de refresco sirve como un retén para el borde de la rejilla fijando ésta en una posición próxima al punto medio del envase.

En una de las tapas se colocó en el interior a modo de filtro una capa de gasa estéril y debajo de esta capa otra de algodón estéril

(obtenidos en las farmacias locales). Esto se hizo con el propósito de airear el material vegetal durante el proceso y al mismo tiempo prevenir la contaminación desde el exterior. Esta tapa de refresco se perforó hasta unos 3 mm del borde para que pudiera retener dos capas de filtros al ser enroscada sobre la boquilla de la botella. Al hacer las perforaciones en la tapa del recipiente se hicieron justo a la medida del cuello de la botella de refresco que se introduce a presión. Las dos tapas se fijaron a la tapa del envase plástico y se sellaron en el borde con una pistola de silicona por la cara externa de la tapa del recipiente de cultivo con una pistola de silicona. Las dos tapas se colocaron a una distancia de 9 cm. En relación a sus puntos medios.

La segunda tapa de refresco no fue perforada y cumple con el propósito de mantener una vía de acceso para introducir el material vegetal sin tener que abrir la tapa del recipiente de cultivo y también poder efectuar el cambio

periódico del medio de cultivo. La frecuencia de reemplazo del medio varía según sean los requerimientos del tipo de material vegetal que se quiere propagar pero se acostumbra que

se haga con una frecuencia semanal de forma de renovar el aporte de los nutrientes al tejido vegetal [10].

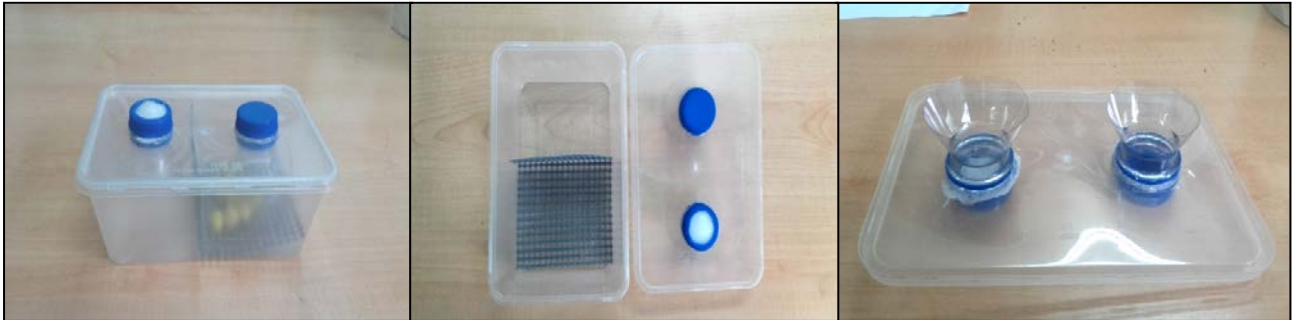


Figura 8: Modificaciones del recipiente para la propagación del material vegetal. Las esferas amarillas en la foto superior izquierda simulan las dimensiones promedio de los explantes de tejido vegetal

Se recomienda esterilizar previamente el medio de cultivo siguiendo el procedimiento convencional de autoclave en olla de presión y efectuar los cambios periódicos de medio en un ambiente limpio trasegando con una inyectora plástica estéril de las que se pueden adquirir en las farmacias.

De forma de controlar los niveles de contaminación del aire en el local se recomienda el uso de un acuario convencional como sustituto de un flujo laminar donde se coloquen mecheros de alcohol una práctica que se ha llevado a cabo con resultados en otras experiencias de adaptar los procedimientos de propagación in vitro de plantas a condiciones de campo y con equipos de bajo costo [11].

C. Dispositivo para programar las horas en las que se aplican los ciclos de inmersión

En los Sistemas de Inmersión Temporal es necesario fijar previamente las horas durante el período circadiano en las cuales se aplicarán los ciclos de inmersión del material vegetal que se quiere propagar.

Con frecuencia se establecen entre cuatro y cinco ciclos durante el período diurno y de dos a tres ciclos en el nocturno esto se debe a la variación de la temperatura entre el día y la noche y la evaporación de la película de medio que permanece cubriendo los explantes durante el período de exposición al sol. Para llevar a cabo el control de estos ciclos, en otras palabras las horas en las cuales se debe activar el motor para efectuar la oscilación se utiliza frecuentemente un temporizador comercial ya sea del tipo analógico o digital [12].

En este caso no se disponía de un equipo temporizador, sin embargo siguiendo el enfoque de trabajar con lo que se tiene a la

disposición que recomiendan las Tecnologías Apropriadadas se decidió modificar y adaptar un reloj despertador del tipo de los modelos clásicos de operación mecánica (operados por cuerda).

El propósito fue transformarlo en un dispositivo capaz de accionar la señal eléctrica que activaría el giro del motor logrando así el desplazamiento del disco de madera que ya detallamos en la Figura 2 y 4.

La Figura 9 muestra la serie de modificaciones que se efectuaron al reloj despertador para que pudiese funcionar como un temporizador. En los dibujos que se colocan a la izquierda de la Figura 4 se muestra el reverso del reloj (izquierda – inferior) y la apariencia frontal del dispositivo que se utilizó (izquierda – superior).

Una de las modificaciones que se efectuaron al reloj fue la de transformar su aguja horaria en un sensor eléctrico que al establecer contacto en un circuito le diera la señal de prendido y de apagado al sistema.

Para que se hiciera el contacto necesario y la transmisión de la señal fuera posible se modificó la aguja del reloj adaptándole un cabezal en forma de horquilla y además

sobre el cuerpo de la aguja se enrolló un hilo de cobre muy fino que actuaría como un inducido..

Se diseñó un sistema de control para que se acoplara con el movimiento de la aguja del reloj. Este dispositivo se construyó sobre una placa de madera a la que se hicieron perforaciones muy finas siguiendo un patrón en forma de dos círculos concéntricos. Este tipo de disposición permitió establecer el contacto eléctrico a las horas prefijadas y también establecer la conexión con el circuito electrónico de control de la inmersión que explicaremos más adelante. Para fijar los tiempos se emplearon sujetadores de papel tipo “clips” de oficina que cumplen funciones equivalentes a los botones que seleccionan las horas de los eventos en los temporizadores comerciales de tipo mecánico.

En la Figura 10 se pueden ver los detalles del reloj que se utilizó, notará que se colocaron dos tornillos largos que permitirán su conexión con el dispositivo temporizador que se describirá más adelante. Podrá el lector ver los detalles observe la aguja del reloj que fue modificada como conductor eléctrico.

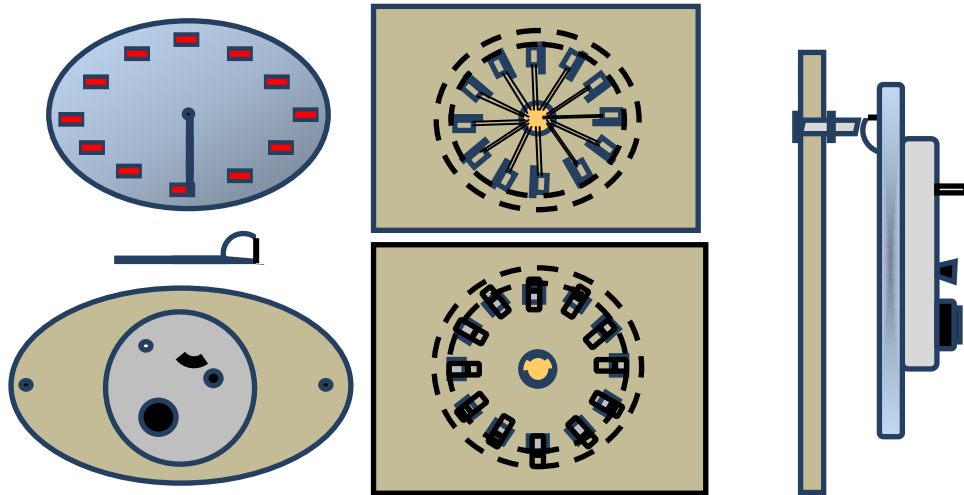


Figura 9: Detalles de diseño para la transformación de un reloj despertador de tipo mecánico en un temporizador. Izquierda. reloj-despertador con su cara frontal y la posterior y en medio la aguja de contacto. Centro: sistema de control de tiempo, Arriba la placa con los puntos de contacto con la aguja horaria del reloj. Abajo el reverso de esa placa con los clips que fijan las horas. Derecha: detalle lateral donde se muestra el contacto de la aguja del reloj con la placa que tiene los contactos **Fuente:** Elaboración propia



Figura 10: Vista frontal del reloj despertador que se adaptó como temporizador. Los tornillos permiten fijarlo al sistema temporizador. Note el detalle de la aguja del reloj que fue modificada para hacer el contacto con el dispositivo que transmitirá la señal a cada tiempo prefijado



Figura 11: Cara posterior del mismo dispositivo temporizador que se detalla en la Figura 4 donde se muestran como están fijados los clips

En la Figura 11 se muestra el diseño del sistema que permite seleccionar mediante el movimiento de los clips cuales serán las horas establecidas para los ciclos de inmersión. En el esquema superior a la derecha de la Figura 9 se muestra la cara frontal del dispositivo temporizador. Esta cara es la que estará en contacto con la aguja del reloj. Los puntos de contacto se ubicaron frente los 24 puntos horarios que marca el reloj.

Estas piezas de contacto con la aguja se construyeron soldando pequeños fragmentos rectangulares de láminas finas de acero que fueron recortadas a la medida a partir de hojillas de afeitar.

Se efectuaron pruebas con otros materiales conductores pero las hojillas por su resistencia a la deformación y su flexibilidad y su excelente conducción eléctrica permitieron transmitir la salida de la señal a la hora prefijada según la posición en que se prefijó el clip en la cara posterior del dispositivo.

Todos los puntos de contacto correspondientes a los puntos horarios del reloj están conectados a una placa colectora central fabricado a partir de una tapa perforada como se puede percibir en el centro de la Figura 9 y en la Figura 12.



Figura 12: Detalles del montaje del sistema que da la señal en contacto con la aguja del reloj que fue transformado en un temporizador

D. Circuito que controla los ciclos de inmersión y la posición de la gaveta superior en el balancín

Como mencionamos el reloj que fue adaptado como temporizador solo permite fijar las horas en las que se debe activar el motor para iniciar el ciclo de oscilaciones. Solo con fijar las horas no es suficiente por lo que se precisó diseñar también un circuito

electrónico que actúe en forma complementaria y que permita controlar otros dos parámetros que son necesarios:

- El número de veces que oscilará la bandeja en el balancín a cada uno de los tiempos del tratamiento. Este aspecto es importante porque las oscilaciones permiten no solo que se impregne el material vegetal con el medio de cultivo si

no también logra que mediante el movimiento oscilante que se genera se pueda airear el medio de cultivo intercambiando aire con el exterior a través del filtro que fue colocado en una de las tapas en el recipiente de cultivo.

- Por otra parte se debe tomar la precaución de que pueda ocurrir uno de los riesgos que podrían llevar al fracaso del prototipo y es que la bandeja permanezca en una posición que es errónea al finalizar un ciclo, por ejemplo que esta se mantenga por horas en estado de hidratación lo que involucra la muerte del material biológico por efecto de la vitrificación o que el tiempo de permanencia en el ciclo de secado se prolongue demasiado y se deshidrate el tejido.

Para resolver este tipo de problemas se diseñó un circuito de control tratando de utilizar un mínimo de componentes electrónicos, los que a su vez fueron seleccionados en base tanto a su bajo costo como a su posible adquisición en el mercado local. El desarrollo del circuito de control de los ciclos de inmersión se probó en una Placa de Pruebas (Protoboard) contando con los componentes electrónicos disponibles en los Laboratorios de Telemática de la UCAB.

En la Figura 5 se muestra el diseño del circuito para controlar los tiempos de inmersión y las posiciones en que va a reposar la bandeja del sistema de balancín en

un momento determinado. A grandes rasgos el circuito consta de una serie de componentes electrónicos (14 transistores, 4 capacitores, un condensador y múltiples resistencias).

En la Figura 13 se resalta dentro de los recuadros en línea roja los módulos que lo integran. Al desplazarnos en el circuito en el sentido vertical en la dirección de arriba hacia abajo podemos observar en la posición superior media los puntos de ingreso para la señal que proviene del temporizador y a la derecha superior hay un sistema de relé que se conectará con el motor que mueve la gaveta superior del balancín.

A la derecha se colocan los componentes de lo que se denomina la compuerta para controlar los lapsos en el tiempo de espera entre dos eventos consecutivos, inmersión (hidratación) y de la fase de secado

Esta compuerta de tiempo de espera está conectada con dos sistemas de memoria. Uno de estos sistemas controla el punto superior de oscilación y el otro la posición inferior.

Para marcar las señales de los dos eventos en el dispositivo se colocó una armazón externa de madera y en su interior se ubicaron dos resortes que sirven como sensores y hacen contacto en un punto prefijado con un tornillo en la gaveta superior.

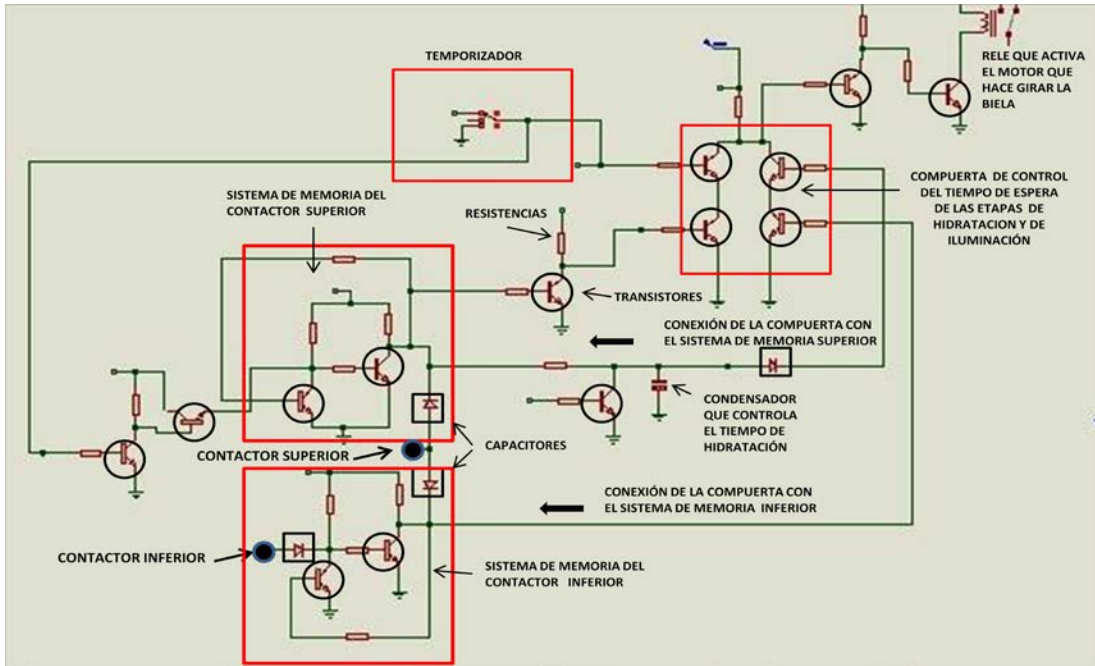


Figura 13: Diseño del circuito que controla los ciclos de inmersión. **Fuente:** Programa de diseño de circuitos: Proteus®, Professional versión 8.6

El tornillo ubicado sobre la gaveta superior del balancín establece el contacto con estos dos puntos a medida que oscila dando la señal respectiva hasta que los tiempos que han sido fijados previamente en las memorias del circuito y cierran el proceso

quedando la bandeja siempre en la posición de no hidratación sea durante el período diurno o el nocturno. Todo el ciclo reinicia cuando el reloj temporizador vuelve a dar la señal y el circuito se activa de nuevo (Ver la Figura 14).



Figura 14: Detalle de la ubicación de los dos elementos de contacto que darán la señal cuando la gaveta superior del balancín alcance su posición máxima y la mínima

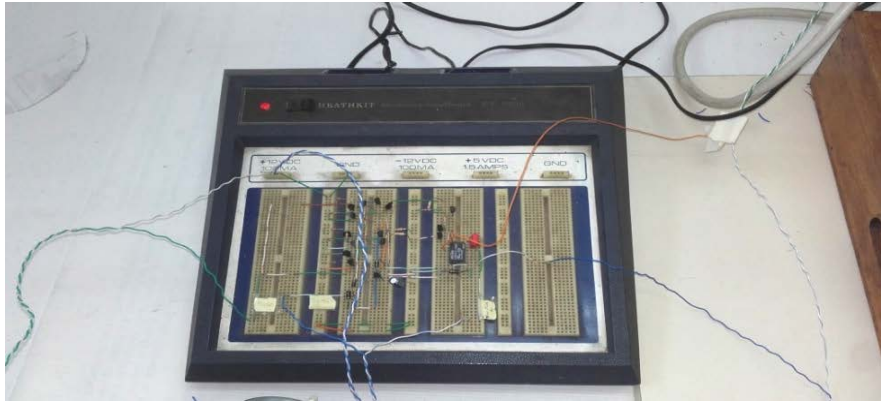


Figura 15: Placa de Pruebas (Protoboard) que se empleó para el montaje del circuito de control de los ciclos de inmersión

El circuito fue montado y probado sobre una Placa de Pruebas (Protoboard) comprobando su correcto funcionamiento (Ver la Figura 15). En la Figura 16 se muestra el montaje de todos los componentes ya integrados en la estructura final del SIT del modelo basculante que fue diseñado y construido en este trabajo. En ella se resaltan algunos detalles que vale la pena destacar, se resalta la ubicación del disco de madera y la pieza excéntrica en su posición de oscilación máxima manteniendo la gaveta superior en la fase de no hidratación del material vegetal.

En la vista lateral se representa el eje que conecta el disco de madera con el motor. En la gaveta superior se representa la posición en que se colocó un tornillo que hará el contacto con las posiciones máximas y mínimas.

En el lateral de la gaveta inferior se representa el reloj temporizador que fue modificado en este trabajo y el circuito impreso que llevará el control de los ciclos de inmersión. El lector podrá ver estos y otros detalles en la Figura 17.

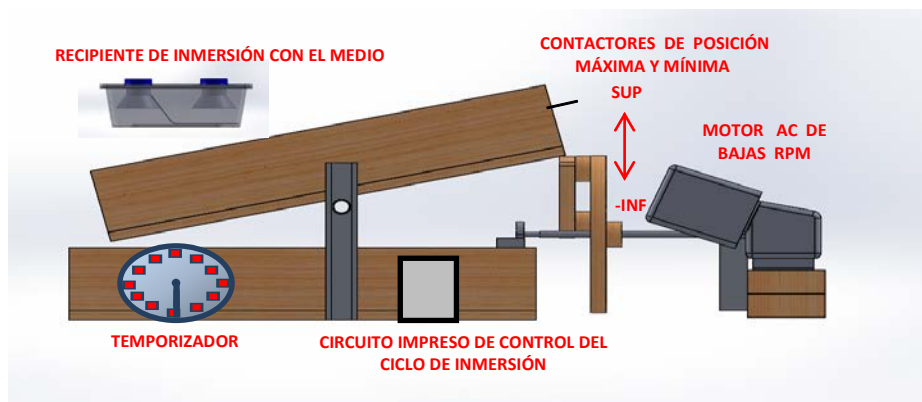


Figura 16: Montaje completo del Sistema de Inmersión Temporal de tipo basculante para la propagación *in vitro* de plantas. Fuente: adaptado por el autor a partir del programa Solid Work - 2010. Ver otros detalles en la Figura 17



Figura 17: Montaje completo del prototipo del Sistema de Inmersión Temporal de tipo balancín circuito para la propagación *in vitro* de plantas que se diseñó y construyó como objetivo de este trabajo

V. CONCLUSIONES

En este trabajo fue posible construir un prototipo de prueba de un Sistema de Inmersión Temporal para la propagación *in vitro* de plantas utilizando materiales de desecho.

Los parámetros con los que cumple el equipo corresponden con las especificaciones de diseño que se colocaron en el punto 2 del trabajo y además el diseño es fácil de modificar utilizando básicamente los mismo componentes lo que le confiere al equipo flexibilidad en base a los requerimientos que presenta de cada tipo de cultivo sin tener que llegar a rediseñar todo el equipo.

El hecho de poder colocar en una misma bandeja este número de envases le confiere ventajas a este tipo de dispositivo frente a otros que requieren del uso de parejas de recipientes colocados en cámaras de crecimiento bajo un régimen de iluminación con luz fluorescente y con sistemas de propulsión de aire comprimido controlados por electroválvulas y programados computacionales mucho más complejos que nuestro circuito y a todas luces fuera del alcance del usuario final como es el caso de los dispositivos RITA y los I sistemas de frascos gemelos [13].

VI. RECOMENDACIONES

- El uso de una Placa de Pruebas (Protoboard) para operar el equipo limita las posibilidades para que lo pueda copiar el usuario final de esta tecnología. Una alternativa viable es la de copiar el circuito en una versión más práctica del tipo de un circuito impreso sencillo y que esta se le pueda proporcionar al usuario.
- Para el montaje del sistema de balancín se utilizó como propulsor mecánico el motor de una bomba peristáltica de laboratorio. Ese dispositivo aparte de que fue una donación fue muy ventajoso por su posibilidad para regular la velocidad angular a pocas rpm y opera conectado a una línea de corriente alterna. Se deben investigar otras alternativas para el posible uso de otro tipo de motor (electrodomésticos) o mejor todavía probar con algún motor que utilizan los vehículos que sea de corriente continua y que se pueda operar con una batería de carro recargable de 12 V.
- Se requiere realizar pruebas microbiológicas tendientes a evaluar los niveles de contaminación que pueden presentar los cultivos cuando se añade algún medio nutritivo previamente esterilizado. Pudimos constatar que este tipo de recipientes se deforman

considerablemente cuando se les somete al autoclavado pero logran soportar sin mayores deformaciones la adición de líquidos con temperaturas que incluso superan los 60° C. La condición de sellado de los recipientes plásticos para el cultivo se puede mejorar recubriéndolos con Envoplast.

- Una de las formas que se sugiere para poder reducir los niveles de la contaminación de partida de estos recipientes es la de aplicar tratamientos de tipo químico del envase lavándolo con alcohol, agua oxigenada y con solución de hiposulfito de sodio al 10% que es un agente antimicótico. La prioridad en este caso es la de prevenir sobre todo la contaminación con hongos cuyo efecto perjudicial tiene más relación con que el hecho de que consumen el medio nutritivo por un efecto de competencia que con el daño directo sobre el tejido a causa de la infección.
- Otro aspecto que también queda pendiente es probar la posible sustitución de los medios nutritivos convencionales por otros medios líquidos provenientes de fuentes naturales como podría ser el agua de coco, extractos de zábila y jugo de tomate de árbol que le pueden proporcionar nutrientes de diversa índole a los cultivos [14].

RECONOCIMIENTOS

Debo expresar un justo y merecido reconocimiento a dos profesionales que me acompañaron, asesoraron y asistieron en el desarrollo de este proyecto. Al Ingeniero Javier Freitas por su apoyo con el manejo de las simulaciones con el programa Solid Work y sus valiosos consejos como ingeniero mecánico sobre una serie de aspectos del funcionamiento del balancín. Al TSU César Criollo cuyos conocimientos de electrónica hicieron posible el diseño y la puesta a punto del circuito de control. Aparte César por su impresionante habilidad manual y su visión

para traducir mis ideas en dispositivos prácticos a partir de materiales de desecho, él me demostró que las Tecnologías Apropriadadas y Apropiables son proyectos factibles.

REFERENCIAS

- [1] FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en : <http://www.fao.org/3/19549ES/i9549es.pdf>
- [2] FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2013) Material de propagación de calidad declarada. Protocolos y normas para cultivos propagados vegetativamente. Estudio FAO de producción y protección vegetal 195
- [3] Martín ,M y Rodríguez ,E (2002) . El costo de producción en procesos de micropropagación para biofábricas de múltiples cultivos. Facultad de Ciencias Empresariales. Universidad Central de Las Villas. Cuba. Disponible en: eco.unne.edu.ar/contabilidad/costos/VIIIcongreso/308.doc
- [4] Valdés, Y (2012) Diagnóstico de los costos en el Instituto de Biotecnología de las Plantas. Tesis en opción al título de licenciado en Contabilidad y Finanzas .Universidad Marta Abreu de Las Villas. Cuba.
- [5] Solórzano R (2016). Diseño y construcción de un sistema de birreactores de inmersión temporal neumática para la multiplicación de Ananas comosus : Tesis de grado de Maestría en Ciencias Mención Biotecnología Agroindustrial y Ambiental . Universidad Nacional de Trujillo Perú.
- [6] Kamarainen-Karppinen, T., Virtanen, E., Rokka, V., Pirttilä, A. (2010), Novel bioreactor technology for mass propagation of potato microtubers. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 101, 245–249
- [7] Watt, M. (2012) The status of temporary immersion system (TIS) technology for plant micropropagation. *Afr. J. Biotechnol.* 11, 14025–14035
- [8] Muñiz, R (2018) La propagación *in vitro* de plantas con Sistemas de Inmersión Temporal. Una Tecnología Apropriadada para la agricultura sustentable. *Tekhne*, Vol 21, número 3 p 43-50
- [9] Ducos, J. P., Terrier, B., Courtois, D., Petiard, V . (2008) Improvement of plastic-based disposable bioreactors for plant science needs. *Phytochem. Rev.* 7, 607–613.
- [10] Adelberg, J., Toler, J. (2004), Comparison of agar and an agitated, thin-film, liquid system for micropropagation of ornamental elephant ears. *HortScience*, 39, 1088–1092
- [11] Sharry, S; Adema, M y Abedini, W. (2015) Plantas de probeta. Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro*. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de la Plata (Argentina). Fundación REDBIO Internacional
- [12] Garcia-Gonzalez, R., Quiroz, K., Carrasco, B. y Caligari, P. (2010), Plant tissue culture: Current status, opportunities and challenges. *Cienc. Inv. Agr.* vol.37, n.3, pp. 5-30.

- [13] Weathers, P., Liu, C., Towler, M., Wyslouzil, B. (2008) Mist reactors: Principles, comparison of various systems, and case studies. *Electron. J. Integr. Biosci.* 3, 29–37.
- [14] Menezes L, Machado M Ballesta P Mora F Milaneze M y Mangolín A (2016) Suplementos orgánicos para el cultivo *in vitro* del híbrido *Laeliocattleya* (Orchidaceae) Volumen 34, N° 1. Páginas 47-54 IDESIA (Chile) Enero-Febrero, 2016 Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292016000100006>