

## Efecto de la utilización de nuevos frascos de cultivo en el proceso productivo de las biofábricas

Daymí Ramírez Aguilar\*, Juan. N. Pérez Ponce, Daniel Agramonte Peñalver, Martha Pérez Peralta, Odalys Gutiérrez Martínez, Felipe Jiménez Terry. \*Autor para correspondencia.

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5 ½. Santa Clara Villa Clara. Cuba.

### RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo con la finalidad de determinar el efecto del empleo de un nuevo frasco de cultivo (500 ml de capacidad) en el proceso productivo de las biofábricas. Se realizó la comparación con otros dos de vidrio, de 350 y 250 ml de capacidad, en aspectos que inciden en la productividad del área de medio de cultivo y en las operadoras de cabina de flujo laminar. Se obtuvo como resultados que el empleo del frasco plástico favoreció el desarrollo del proceso productivo de las biofábricas ya que fue posible disminuir el índice de pérdidas por roturas y contaminación microbiana, se incrementó la productividad en las diferentes áreas de la biofábrica así como posibilitó el incremento de la capacidad productiva en las cámaras de crecimiento. El frasco plástico en el proceso productivo de las biofábricas constituyó una innovación tecnológica representando una herramienta de gran utilidad para el incremento de la eficiencia productiva de estas instalaciones.

Palabras clave: frasco de cultivo; capacidad productiva; eficiencia productiva; proceso productivo

### ABSTRACT

The present work was carried out with the purpose of determining the effectiveness of use the introduction of a new bottle of culture (500 mL of capacity) in the productive process of the biofactories. The comparison with other two glass container, 350 and 250 mL of capacity, in aspects was made that affect the productivity in the culture medium elaboration area and in the cabinet laminar flow. The use of the plastic bottle favored the development of the productive process of the biofactories since it was possible to diminish the index of losses by breakage and microbial contamination, was increased the productivity in the different areas of the biofactories increased as well as it made possible the enhance of the productive capacity in the growth room. The plastic flask in the productive process constituted a technological innovation representing a tool of great usefulness for the increase of the productive efficiency .

Key words: bottle of culture; productive capacity; productive efficiency; productive process

### INTRODUCCIÓN

Para lograr el perfeccionamiento de la tecnología en los sistemas de micropropagación es importante tener en cuenta el manejo que se realiza en el proceso productivo que va desde el frasco que se emplea, tipos de corte que se realizan al material vegetal, asimilación de nutrientes y densidad de explantes por frascos teniendo en cuenta la fase de micropropagación y el estado físico del medio de cultivo, hasta las diferentes labores que se realizan para lograr una eficiente aclimatización de las plantas *in vitro* y su trasplante a campo.

El tipo de frasco empleado es uno de los aspectos que ha influido en el comportamiento de la productividad en las diferentes áreas de las biofábricas debido a que han sido frascos de vidrio con limitada capacidad y con dificultades en su sistema de cierre, lo que provocaba altos índices de contaminación y de roturas, entorpeciendo además el desempeño de los trabajadores en las diferentes áreas, todo lo que influye en el aumento de los costos del proceso productivo.

Teniendo en cuenta esta problemática se incorporaron nuevos frascos al proceso productivo y en la presente investigación se realizaron comparaciones con otros que se empleaban para dar cumplimiento al principal objetivo:

- Determinar la factibilidad del empleo de frascos de cultivo plásticos de mayor capacidad en el proceso productivo de las biofábricas.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Técnicas y procedimientos generales de trabajo

#### Frascos de cultivo comparados

Se compararon tres tipos de frascos de 350 (A); 250 (B) y 500 (C) ml de capacidad (Figura 1), en aspectos donde el tipo de recipiente de cultivo puede ser significativo para lograr el perfeccionamiento del proceso productivo en las biofábricas.

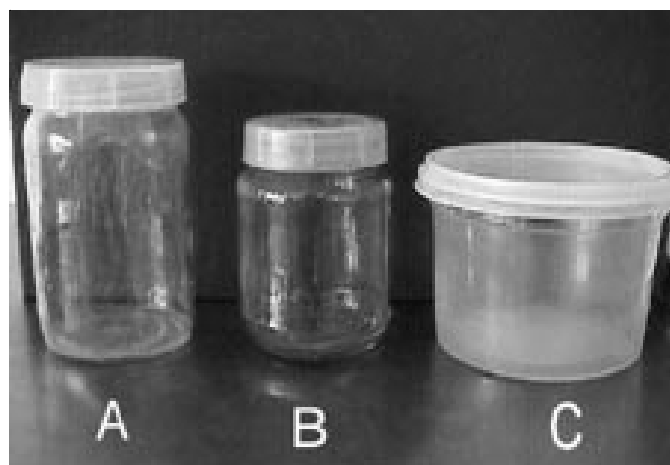


Figura 1. Representación de diferentes frascos de cultivo evaluados en el proceso productivo de las biofábricas A (350 ml), B (250 ml), C (500 ml).

### Material vegetal

Como material vegetal se utilizaron plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbrido) de diferentes variedades las cuales serán especificadas en cada caso. Los explantes fueron manipulados según la metodología propuesta por Jiménez (1995).

### Condiciones de incubación *in vitro*

Todos los experimentos de la fase de multiplicación y enraizamiento fueron incubados en cámaras de crecimiento que emplea luz solar indirecta (fotoperíodo con una duración máxima y mínima del período luminoso de 13 h y 34 minutos y 10 h y 41 minutos respectivamente, según Walter y Lieth (1967), temperatura de  $27 \pm 2$  °C).

### Procesamiento estadístico

Para el análisis de los resultados se utilizó el paquete estadístico de SPSS versión 8.0 para Windows. Las diferencias entre las medias fue determinada mediante la prueba de rango múltiple de Duncan para el 5%. En las variables donde se midieron porcentajes se aplicó la prueba de análisis de proporciones o ANOVA sin réplicas (ANDEVAP).

### Determinación de la durabilidad de los diferentes frascos en el proceso productivo

Este experimento tuvo como objetivo comparar los diferentes tipos de frascos en cuanto a la durabilidad en el proceso productivo que incluye la esterilización y la manipulación en las diferentes áreas.

Para la evaluación del proceso de esterilización se tomaron 100 frascos de cada tipo, realizando 15 ciclos de esterilización. En el caso de la manipulación, se determinó el índice de roturas (%) en una jornada laboral (8h), y lo que representa en un mes y en un año.

### Evaluación del comportamiento del índice de contaminación microbiana (%) con el empleo de diferentes tipos de frascos de cultivo

Se evaluaron lotes de plantas *in vitro* de caña de azúcar (variedades POJ-112, C-214-85, C-212-85, CP 5243) durante tres subcultivos, todas las plantas *in vitro* procedían del tercer subcultivo.

### Análisis del comportamiento de la productividad por operadora en la cabina de flujo laminar

Se realizó un conteo del número de explantes producidos en una hora por una operadora de cabina de flujo laminar con plantas *in vitro* de caña de azúcar de la variedad C-214-85. Se definieron las normas de trabajo con el empleo de los nuevos frascos de cultivos, para la variedad de caña de azúcar C-214-85 en las fases de multiplicación y enraizamiento, según el procedimiento de trabajo establecido por Suárez (1999).

### Análisis del comportamiento de la productividad en el área de elaboración del medio de cultivo

Este experimento tuvo como objetivo analizar el comportamiento de la productividad con el uso de los distintos tipos de frascos en el área de elaboración del medio de cultivo, efectuándose comparaciones en aspectos que determinan el incremento de la productividad en el área (número de frascos fregados y de litros de medios de cultivo elaborados en una jornada laboral).

### Comparación de la capacidad productiva de la biofábrica del IBP con el empleo de los diferentes tipos de frascos

En el experimento se comparó la capacidad productiva en las cámaras de crecimiento con luz artificial y luz solar con los diferentes tipos de frascos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Determinación de la durabilidad de los diferentes frascos en el proceso productivo

El material de que están constituidos los diferentes tipos de frascos de cultivo influyó directamente en la durabilidad de los mismos, así como, el uso inadecuado e irresponsable de dichos frascos por los trabajadores.

Al evaluar la resistencia de los frascos de cultivo en 15 ciclos de esterilización, se obtuvo que el mayor índice de pérdidas por roturas ocurrió en los frascos de 350 y 250 ml de capacidad, que tuvieron 25 y 7.5% respectivamente, mientras el frasco plástico tuvo un 0.0%.

No obstante, se presentó deformación de los frascos plásticos en el momento de la esterilización en un 2.0%. Esto fue solucionado técnicamente sin la necesidad de desechar los frascos del proceso, siendo preciso colocar un frasco dentro del otro y esterilizarlos nuevamente.

En la tabla 1 se muestra el índice de roturas de los frascos por la manipulación en las diferentes áreas alcanzando un valor de 1.5 y 1.4% en los Frascos 350 y 250 ml respectivamente, mientras que el Frasco de 500 ml mantuvo un 0.0%. Esto se debió precisamente al material de dicho frasco (plástico), aunque es válido señalar que la tapa puede desgarrarse con facilidad si no se maneja adecuadamente.

Tabla 1. Determinación del índice de pérdidas de frascos por rotura en la manipulación en las diferentes áreas de la biofábrica.

Tipo de Frasco	Número de Frascos Manipulados/8h	Número de Frascos Rotos/8h	Número de Frascos Rotos/Mes	Número de Frascos Rotos/Año	Índice de Roturas (%)*
A (250 ml)	5 300	81	2 097	24 696	1.5
B (350 ml)	5 300	73	1 890	23 050	1.4
C (500 ml)	4 800	0	0	0	0

\*Para este cálculo se tuvieron en cuenta transferencias semanales de 25 000 plantas *in vitro* en fase III a la Fase IV.

El frasco plástico tuvo mayor duración en relación con los frascos de vidrio al tener menor índice de pérdidas por roturas tanto en el proceso de esterilización como en la manipulación en el proceso productivo.

### Evaluación del comportamiento del índice de contaminación microbiana (%) con el empleo de diferentes tipos de frascos de cultivo

Los índices de contaminación microbiana disminuyeron en los lotes de diferentes variedades evaluadas del frasco tipo A (250 ml) al C (500 ml) (Tabla 2), lo que pudo estar dado por el exceso de intercambio que permitían los frascos de vidrio en su ajuste con la tapa.

Con el uso del frasco plástico se logró disminuir en 27.5 y 9.47% los índices de contaminación microbiana, en relación con el uso de los Frascos A (250 ml) y B (350 ml) en ese orden. Varios autores coinciden en que económicamente, las pérdidas por contaminación microbiana permisibles deben estar entre 4 y 7%, en instalaciones de 2 a 5 millones de plantas *in vitro* por año (Pérez *et al.*, 1993; Arias, 1996 y Osorio *et al.*, 1997).

### Análisis del comportamiento de la productividad por operadora de cabina de flujo laminar

El frasco plástico tiene mayor capacidad lo que representa una disminución del empleo del número de recipientes de cultivo en el momento de transferencia o subcultivo del material *in vitro*, por lo que las operadoras requerían de menos tiempo para el cumplimiento de las normas de rendimientos programadas para cada cultivo y fase de micropropagación. Esto propició a su vez un incremento de la productividad.

Resultados similares refirieron Osorio *et al.* (1999), quienes aplicaron como una medida de mejoras tecnológica el empleo de los frascos plásticos de mayor capacidad.

De manera que se hizo necesaria la revisión de las normas de trabajo y en la evaluación realizada con explantes de caña de azúcar de la variedad C-214-85 se pudo observar un incremento de la productividad un 64 y 68% respecto a los frascos A (250 ml) y B (350ml) (Tabla 3).

Tabla 2. Comparación del índice de contaminación microbiana en diferentes variedades de caña de azúcar con el empleo de diferentes frascos de cultivo.

Valor medio del índice de contaminación (%)	Índice de Contaminación (%)*		
	Frasco A (250 ml)	Frasco B (350 ml)	Frasco C (500 ml)
	32.45 a	14.42 b	4.95 c

Letras desiguales difieren estadísticamente según ANDEVAP ( $p < 0.05$ )

\*Valores medios del índice de contaminación de diferentes variedades evaluados en tres subcultivos.

Tabla 3. Producción de explantes de caña de azúcar de la variedad C-214-85 por una operadora en varios intervalos de tiempo con el empleo de distintos frascos de cultivo.

Tipo de Frasco	Número de explantes/hora*		Número de explantes /8 horas*		Número de explantes/ Semana (40h)*	
	Fase II	Fase III	Fase II	Fase III	Fase II	Fase III
A (250 ml)	200	225	1 600	1 800	64 000	72 000
B (350 ml)	200	225	1 600	1 800	64 000	72 000
C (500 ml)	328	378	2 625	3025	105 000	121 000

\* Promedio del número de explantes producidos en varios intervalos de tiempo.

En la tabla 4 se muestra la influencia del tipo de frasco de cultivo y de la densidad de explantes del mismo en las normas de trabajo establecidas, existiendo con el

empleo del frasco plástico un sobrecumplimiento de 11% en el cultivo la caña de azúcar en la fase de multiplicación con medio de cultivo en estado semisólido.

Tabla 4. Influencia del tipo de frasco sobre las normas de trabajo para operadores de cabina de flujo laminar.

Cultivo	Norma de trabajo	Norma de trabajo	Norma de trabajo	Cumplimiento de las normas según Suárez (1999)
	Frasco A (250 ml) (No Explantes)	Frasco B (350 ml) (No Explantes)	Frasco C (500 ml) (No Explantes)	
Caña de Azúcar	1 600	1 600	2 625	2 925

El aumento de las normas constituyó la base del incremento de la capacidad productiva y por consiguiente de la disminución de la fuerza de trabajo.

Las evaluaciones realizadas en este experimento permitieron demostrar que existió un aumento de la productividad superior al 50% expresado por el incremento de las normas de trabajo para una jornada laboral.

#### **Análisis del comportamiento de la productividad en el área de elaboración del medio de cultivo**

En el área de elaboración de medios de cultivo con el uso de los frascos plásticos se incrementó la productividad debido a su propia configuración (estrecho en la base y ancho en la boca), lo que posibilitó mayor agilidad en la ejecución de las diferentes tareas en el área.

El empleo del frasco plástico en el área de medio de cultivo ha traído efectos positivos (Tabla 5),

lográndose un incremento del número de frascos fregados y de litros de medio de cultivo elaborados en una jornada laboral en 94 y 66% respecto al número de frascos fregados y de litros de medio de cultivo elaborados en una jornada laboral con el uso de los frascos A (250 ml) y B (350 ml), lo que influyó directamente en el aumento de la eficiencia en el proceso productivo.

#### **Evaluación del comportamiento de la capacidad productiva de la biofábrica del I.B.P.**

La capacidad productiva en las biofábricas está relacionada directamente con el área que define las cámaras de crecimiento o sea con el diseño de la instalación. Con la introducción en el proceso de los frascos plásticos se logró un incremento significativo de la capacidad sin realizar gastos en inversión para la modificación y ampliación de dichas instalaciones, aspecto muy positivo en el perfeccionamiento y eficiencia de las técnicas de propagación masiva en las biofábricas.

Se aumentó la capacidad productiva en 784 000 y en 708 400 explantes en las cámaras de luz solar en relación con los Frascos A (250 ml) y B (350 ml) respectivamente y en 114 660 en relación con los Frascos A (250 ml) y B (350ml) en las cámaras de luz artificial.

El frasco plástico en el proceso productivo de las biofábricas constituyó una innovación tecnológica que representa una herramienta de gran utilidad para el incremento de la eficiencia productiva de estas instalaciones.

Tabla 5. Comportamiento de la productividad en el área de medio de cultivo con el empleo de diferentes tipos de frascos.

Tipo de Frascos	Peso del Frasco (g)	Frascos fregados/ 8h/	
		Auxiliar	Litros Medio Cultivo /Diaros
A (250 ml)	230.0	1 440	60
B (350 ml)	184.0	1 440	60
C (500 ml)	21.0	2 800	100

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados alcanzados se pudo arribar a las siguientes conclusiones:

1. Se demostró la factibilidad del empleo del frasco plástico de mayor capacidad en el proceso productivo de las biofábricas ya que tuvo menor índice de pérdidas por roturas en el proceso de esterilización y en la manipulación en el proceso productivo, así como influyó en la disminución del índice de contaminación microbiana (%).

2. Existió un incremento de la productividad por operadora en la cabina de flujo laminar y en el área de elaboración del medio de cultivo así como posibilitó el incremento de la capacidad productiva en las cámaras de crecimiento.

## REFERENCIAS

Arias, O (1996) Tendencias actuales en la utilización de vitroplantas. En: resúmenes IV Coloquio de Biotecnología, Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara. Cuba, Junio 20-22 de 1996

Jiménez, E (1995) Propagación *in vitro* de la caña de azúcar (*Saccharum* spp híbrido). Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba. pp. 40-52

Osorio, Ch J y M Suárez (1997) La Biotecnología al servicio de la floricultura. Trabajo final del I Curso Internacional de Propagación Masiva de Plantas Tropicales. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba

Osorio, Ch J y M Suárez (1999) La reingeniería aplicada a laboratorios comerciales de cultivo de tejido. Reporte Corto del Quinto Internacional de Biotecnología Vegetal. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba. pp: 55-58

Pérez Ponce, JN y M Suárez (1993) Competitividad: Reto actual de la Biotecnología. En: Resúmenes. Tercer Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal. Instituto de Biotecnología de las Plantas Santa Clara, Junio de 1993

Suárez Castella, M (1999) Perfeccionamiento de estimulación salaral en procesos mediante tecnologías de micropropagación. Una contribución al aumento de la competitividad de las biofábricas cubanas. Tesis para aspirar al grado científico de Doctor en Ciencias. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Villa Clara. Cuba

Walter, R y H Lieth (1967) Klimadiagram-Weltatlas.VEB Gustav Fischer Verlag Jena