

Fundación para la Innovación Agraria
MINISTERIO DE AGRICULTURA



FRUTALES / FRUTALES MENORES



Resultados y Lecciones en

Sistema de Inmersión Temporal

Proyecto de Innovación en
**Regiones Metropolitana,
del Maule, del Biobío
y de Los Ríos**



Fundación para la Innovación Agraria
MINISTERIO DE AGRICULTURA



Resultados y Lecciones en Sistema de Inmersión Temporal en Especies Anuales, Frutales y Vides



**Proyecto de Innovación en
Regiones Metropolitana,
del Maule, del Biobío y de Los Ríos**

Valorización a junio de 2009



Agradecimientos

En la realización de este trabajo agradecemos sinceramente la colaboración de los productores, técnicos y profesionales vinculados al proyecto y a los participantes en los talleres de validación y entrevistas, en especial a:

- Marcela Zúñiga, directora ejecutiva Viveros Sunnyridge Ltda.
- Oscar Mario Paredes, investigador de INIA - Quilamapu, Chillán.
- Ximena Henzi, gerenta general Valdiflora, Valdivia.
- Sandra Ascencio, Valdiflora, Valdivia.
- Viviana Becerra, investigadora INIA - Quilamapu, Chillán.
- Valentina Baasch, directora y consultora AGR Consultores.

Resultados y Lecciones en **Sistema de Inmersión Temporal en Especies Anuales, Frutales y Vides**

Proyecto de Innovación en las Regiones Metropolitana,
del Maule, del Biobío y de Los Ríos

Serie Experiencias de Innovación para el Emprendimiento Agrario FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Registro de Propiedad Intelectual N°
ISBN N°

ELABORACIÓN TÉCNICA DEL DOCUMENTO
Rodrigo Cruzat G. – AQUAVITA Consultores

REVISIÓN DEL DOCUMENTO Y APORTES TÉCNICOS
Francisca Fresno y Gabriela Casanova – Fundación para la Innovación Agraria (FIA)

EDICIÓN DE TEXTOS
Gisela González Enei

DISEÑO GRÁFICO
Guillermo Feuerhake

IMPRESIÓN
Ograma Ltda.

Se autoriza la reproducción parcial de la información aquí contenida,
siempre y cuando se cite esta publicación como fuente.

Contenidos

Sección 1. Resultados y lecciones aprendidas	5
1. Antecedentes.....	5
2. Base conceptual y tecnológica de la herramienta.....	6
2.1. Sistemas de multiplicación <i>in vitro</i>	7
2.2. Comparación entre los sistemas de inmersión temporal e <i>in vitro</i> convencional	9
3. El valor de la herramienta desarrollada	11
4. La innovación tecnológica.....	12
5. La conveniencia económica	13
6. Claves de viabilidad.....	22
6.1. Validación de la tecnología y desarrollo de protocolos específicos para las especies de interés	22
6.2. Asesoría experta.....	23
6.3. Los usuarios	23
7. Asuntos por resolver.....	25
8. Situación actual.....	26
Sección 2. El proyecto precursor	27
1. El entorno del proyecto.....	27
2. El proyecto.....	28
2.1. Aspectos metodológicos	29
2.2. Resultados.....	31
3. Desarrollos posteriores	32
Sección 3. El valor del proyecto	33
ANEXOS	
1. Esquema del sistema de inmersión temporal	37
2. Estructura y costos de producción de arándanos en sistema <i>in vitro</i> convencional	38
3. Estructura y costos de producción de frutillas Elite en sistema <i>in vitro</i> convencional	40
4. Homologación de estructuras de costos <i>in vitro</i> convencional en arándanos y frutillas Elite	47
5. Estructuras de costos <i>in vitro</i> SIT en arándanos	50
6. Costos de producción arándanos mediante sistema SIT	51
7. Costos de implementación del sistema SIT	52
8. Literatura consultada.....	54
9. Documentación disponible y contactos.....	56



SECCIÓN 1

Resultados y lecciones aprendidas

El presente libro tiene el propósito de compartir con los actores del sector los resultados, experiencias y lecciones aprendidas acerca de la evaluación de la técnica denominada “Sistema de inmersión temporal” (SIT), utilizada para mejorar la eficiencia de la micropropagación¹ *in vitro* en especies anuales, frutales y vides (arándano, vid y papa).

Se espera que esta información, que se ha sistematizado en la forma de una “innovación aprendida”,² aporte a los interesados una nueva herramienta que les permita adoptar decisiones productivas y, potencialmente, desarrollar iniciativas relacionadas con este tema.

► 1. Antecedentes

Los análisis y resultados que se presentan en este documento han sido desarrollados a partir de las experiencias y lecciones aprendidas en la ejecución del proyecto de innovación (proyecto precursor)³ “Evaluación de la factibilidad del uso de la técnica de Inmersión Temporal (SIT) en biorreactores, para mejorar la eficiencia de la micropropagación en especies anuales, frutales y vides”.

El proyecto fue financiado por FIA y se desarrolló en conjunto entre el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) y la empresa Hortifrut, con la posterior incorporación de la empresa agrícola SONE. El proyecto se ejecutó, principalmente, en el Centro Regional de Investigación (CRI) Quilamapu (Chillán) del INIA, con la colaboración del personal profesional del CRI de La Platina (Santiago), Raihuén (Talca) y Remehue (Osorno), y en la empresa Hortifrut Viveros S.A. (Santiago). El proyecto fue desarrollado entre los años 2001 y 2005, y contó con la participación de asesores internacionales que apoyaron la introducción y validación de la técnica bajo las condiciones nacionales.

Su objetivo fue determinar la factibilidad de implementar comercialmente la producción de plantas mediante el uso del sistema de inmersión temporal en biorreactores, para mejorar la eficiencia y disminuir los costos de la técnica.

¹ **Micropropagación:** utilización de técnicas de cultivo *in vitro* aplicadas a la propagación vegetativa de plantas.

² **“Innovación aprendida”:** análisis de los resultados de proyectos orientados a generar un nuevo servicio o herramienta tecnológica. Este análisis incorpora la información validada del proyecto precursor, las lecciones aprendidas durante su desarrollo, los aspectos que quedan por resolver y una evaluación de los beneficios económicos de su utilización en el sector.

³ **“Proyecto precursor”:** proyecto de innovación a escala piloto financiado e impulsado por FIA, cuyos resultados fueron evaluados a través de la metodología de valorización de resultados desarrollada por la Fundación, análisis que permite configurar la innovación aprendida que se da a conocer en el presente documento. Los antecedentes del proyecto precursor se detallan en la sección 2 de este documento.

La herramienta desarrollada es complementaria al sistema de micropropagación *in vitro* “convencional”; se basa en sistemas de cultivo en recipientes más grandes (biorreactores) para la inmersión temporal, que permiten el contacto del medio líquido con los explantes (material vegetal) de manera intermitente y por un corto período de tiempo.

Este sistema de micropropagación permite incrementar considerablemente el coeficiente de multiplicación de brotes y una disminución de los costos de producción, en comparación con las formas convencionales de micropropagación, además de un mejoramiento del porcentaje de enraizamiento y sobrevivencia de las plantas en la etapa de aclimatación, todos aspectos limitantes en la micropropagación de vegetales.

► 2. Base conceptual y tecnológica de la herramienta

La micropropagación es el proceso que utiliza técnicas de cultivo *in vitro*,⁴ en las que se selecciona un explante,⁵ se desinfecta, se aísla en un recipiente estéril y, artificialmente, se le otorga condiciones para que sus células manifiesten su totipotencialidad; es decir, la capacidad de regenerar una planta completa a partir de una parte de la planta madre, que conserva todas sus características genéticas.

Para realizar la micropropagación se seleccionan plantas madres que deben cumplir con ciertas condiciones de calidad, lo que permite obtener clones adecuados. La micropropagación es un sistema de multiplicación asexual de plantas que, a diferencia de la propagación convencional en viveros comerciales, se realiza en condiciones de laboratorio, donde se aplican condiciones de asepsia controladas a fin de evitar la reproducción de enfermedades.

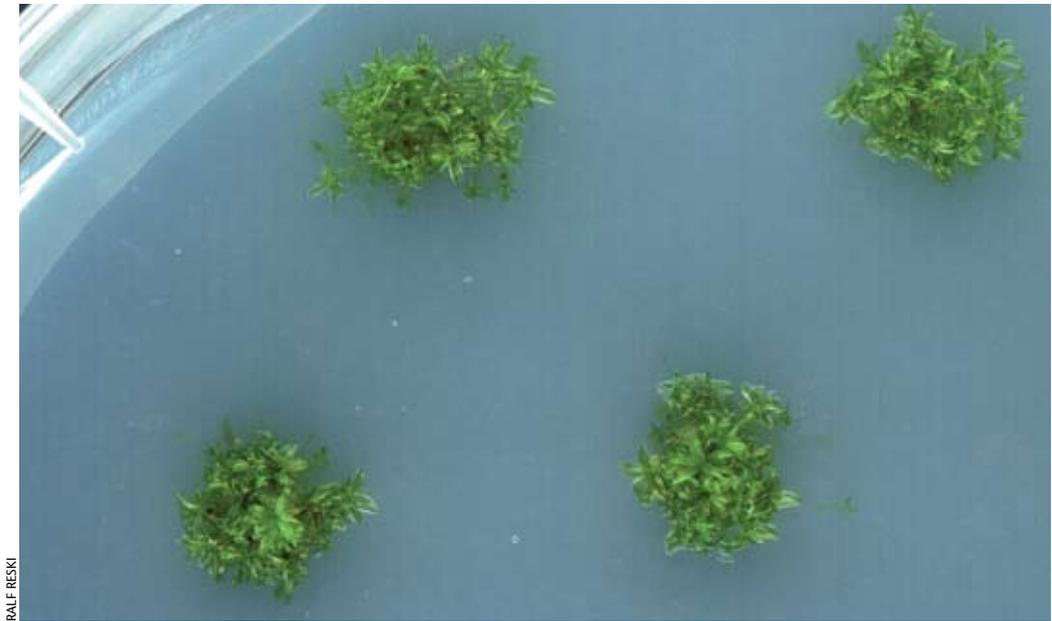
La técnica de micropropagación se usa como mecanismo para multiplicar plantas desde partes de ellas, que otros sistemas de propagación no son capaces de utilizar. Además, proporciona beneficios adicionales como en el aspecto sanitario por ejemplo, (plantas libres de virus u otros agentes). Como la multiplicación es rápida y a gran escala, se obtienen beneficios en ahorro de tiempo y de recursos. En efecto, 1 m² de plantas en el laboratorio puede representar 1 ha en el campo, excluido el respectivo manejo cultural; la tasa de crecimiento es exponencial y el material obtenido es uniforme.

No obstante, esta técnica presenta ciertas limitaciones relacionadas especialmente con la reducción de la variabilidad genética de las especies tratadas, con un alto uso de mano de obra calificada y una escasa posibilidad de automatización, lo que redundaría en un alto valor relativo de las plantas producidas por este medio.

Según Chu (1995) y Kitto (1997) el futuro uso de esta metodología dependerá de la existencia de nuevas tecnologías que puedan mejorar la eficiencia de los sistemas actuales de micropropagación para reducir sus costos, mejorar la rentabilidad, competitividad y acceso de los productores a este tipo de plantas.

⁴ **Cultivo *in vitro*:** cultivo de plantas, semillas, embriones, órganos, tejidos y células de plantas superiores en un medio nutritivo, bajo condiciones estériles. En sentido estricto, *in vitro* quiere decir “dentro de vidrio”, es decir, el cultivo se realiza dentro de recipientes de vidrio en condiciones de ambiente controlado. Actualmente este concepto es flexible, ya que desde hace unas décadas en muchos casos se ha sustituido el vidrio de los utensilios de laboratorio por otros materiales igualmente eficientes, como plástico, polipropileno y poliestireno, entre otros.

⁵ **Explante:** cualquier parte vegetal que ha sido separada de la planta, como un tejido (fragmentos de hojas, tallos, raíces, pétalos, otros), órgano (semillas, anteras, ovarios, botones florales, hojas y raíces completas, entre otros), estructuras como las anteras y los ovarios, o bien, células individuales.



2.1 Sistemas de multiplicación *in vitro*

Los métodos disponibles para la propagación de plantas *in vitro* son, en su mayoría, una extensión de aquellos desarrollados para la propagación vegetativa tradicional (George, 1993). Sin embargo, éstos presentan una serie de ventajas sobre los métodos tradicionales, como la pequeña superficie necesaria para mantener gran cantidad de plantas, la obtención de plantas libres de bacterias y hongos, la posibilidad de obtener plantas libres de virus, y la posibilidad de producir plantas durante todo el año. Adicionalmente, las tasas de propagación son mayores que en los sistemas convencionales, lo que permite obtener una gran cantidad de plantas en corto tiempo.

En los últimos años, el cultivo *in vitro* ha presentado un desarrollo exponencial (Pierik, 1988). No obstante la masificación del uso de este sistema y su implementación a gran escala se han visto limitados por factores como: mutaciones en las plantas propagadas, pérdida de material por contaminación interna o externa, vitrificación y oxidación fenólica y, principalmente, por el alto costo de la mano de obra con relación al costo total de las plantas.

La tasa a la cual los cultivos *in vitro* crecen y producen yemas durante la micropropagación pueden estar influidas por la naturaleza física del medio (George, 1993). Según esta característica, existen tres tipos de medios en los que se puede realizar un cultivo *in vitro*: semisólido, líquido y en sistemas de inmersión temporal.

Cultivo en medio semisólido

Son aquellos a los cuales se les ha agregado un agente gelificante y son ampliamente usados en el establecimiento de explantes (George, 1993). El agar es el agente solidificante más utilizado. El explante se mantiene estático sobre el medio, con sólo uno de sus extremos en contacto por donde se realiza la absorción de nutrientes (Lorenzo *et al.*, 1998).

Aunque se usa ampliamente, este medio presenta una serie de desventajas como: la baja tasa de multiplicación en algunas especies y cultivares, la necesidad de cambiar el medio periódicamente por el agotamiento de nutrientes, y la necesidad de lavar el agar de las raíces antes de trasladar las plántulas al sustrato.

Cultivo en medio líquido

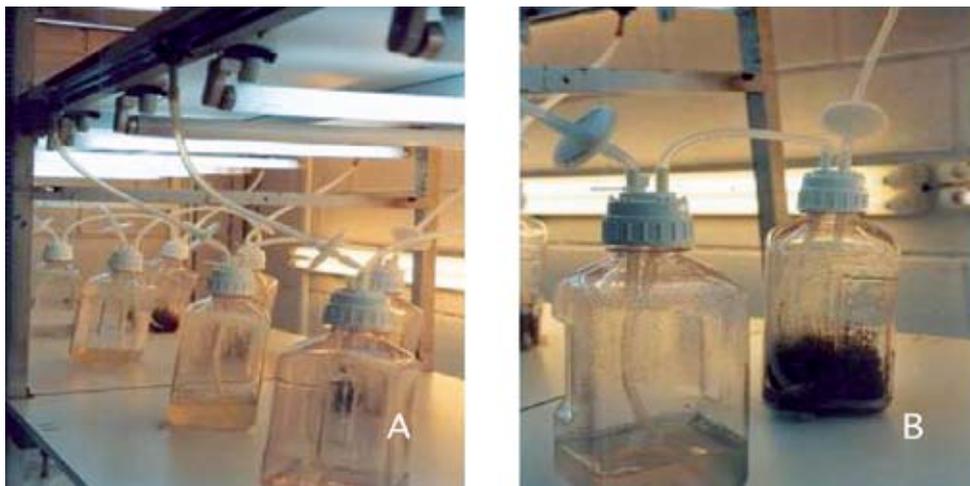
La utilización de este sistema da como resultado mayores tasas de crecimiento que en medios semisólidos, debido a la mayor superficie de contacto del explante con el medio y a las menores gradientes de difusión entre el medio y el explante, lo que facilita la absorción de nutrientes (George, 1993). Sin embargo, la inmersión continua de los tejidos provoca síntomas de stress por oxidación y vitrificación (Damiano *et al.*, 2003).

Sistema de inmersión temporal (SIT) en biorreactores

Los problemas que presentan los medios líquidos pueden ser superados por métodos alternativos, como los biorreactores (Damiano *et al.*, *op. cit.*), cuyo principio básico es la inmersión periódica de los explantes en el medio de cultivo, lo que permite el intercambio gaseoso dentro del recipiente.

Una unidad de inmersión temporal utilizada normalmente consiste en dos recipientes interconectados por tubos de silicona (Figura 1 y Anexo1) (Jiménez *et al.*,1999). Uno se usa para la mantención del medio y el otro para el cultivo de los explantes. Para la ventilación se ajusta un filtro esterilizable en cada recipiente. El número de veces (frecuencia) y el tiempo que las plantas son inmersas en el medio se regulan mediante un programador conectado a válvulas selenoides. Al abrir una de las válvulas el medio es inyectado desde el recipiente de mantención al del cultivo; al abrirla otra vez, el medio vuelve al recipiente de mantención. Con este sistema los explantes son inmersos en el medio de cultivo sólo por un tiempo definido, permitiendo la absorción de nutrientes por toda su superficie (Alvard *et al.*, 1993). El intercambio gaseoso se restaura cuando el medio de cultivo es trasladado a recipiente de mantención.

Figura 1. **Sistema de inmersión temporal.**
A) Vista general; B) Unidad de inmersión temporal.



Las ventajas de mantener un cultivo en un SIT incluyen tres aspectos: un mayor contacto entre la biomasa vegetal y el medio, la inexistencia de restricciones en el intercambio gaseoso y la posibilidad de controlar la composición del medio, así como la de la atmósfera dentro del biorreactor (Ziv, 1995). Estas características se reflejan en mayores tasas de multiplicación y en un mejor desarrollo de los explantes; por ejemplo, en estudios realizados con frutilla Don y manzana Gala se observó un aumento de 85 y 131% en la tasa de multiplicación, respectivamente (Damiano *et al.*, *op. cit.*).

Otros estudios realizados en caña de azúcar (*Sacharum spp.*) mostraron una tasa de multiplicación de $8,13 \pm 0,6$ explantes cuando se cultivó en SIT, comparada con $4,0 \pm 0,8$ versus el cultivo en medio semisólido (Lorenzo *et al.*, 1998). Otro ejemplo es el de papa Desirée (Jiménez *et al.*, 1999):

- $22,5 \pm 0,4$ cm de altura, con más entrenudos, en un sistema de inmersión temporal
- $6,5 \pm 0,1$ cm de altura, en medio semisólido

Los sistemas de inmersión temporal también han sido utilizados exitosamente en producción, para la obtención de un mayor número de bulbos y tubérculos. Por ejemplo, en papas de las variedades Desirée y Atlantic se alcanzó un promedio de 2,8 y 3,1 tubérculos por explante, respectivamente, comparado con 1 a 1,5 tubérculos obtenidos normalmente en medio semisólido (Jiménez *et al.*, *op. cit.*). El peso fresco de los microtubérculos también fue mayor en el primer sistema. No existe información respecto de la tuberización de plantas de cala en SIT.

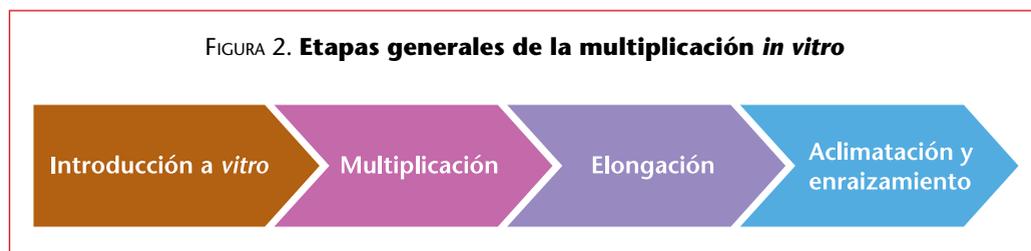
Para el funcionamiento efectivo de un SIT deben existir condiciones óptimas de cultivo (Ackermann *et al.*, 2003); además de factores ambientales como intensidad lumínica y temperatura, se debe considerar: frecuencia y tiempo de inmersión, densidad del cultivo, volumen del medio y composición y duración del cultivo. Estos factores se deben determinar para cada especie y etapa de desarrollo.

2.2 Comparación entre los sistemas de inmersión temporal e *in vitro* convencional

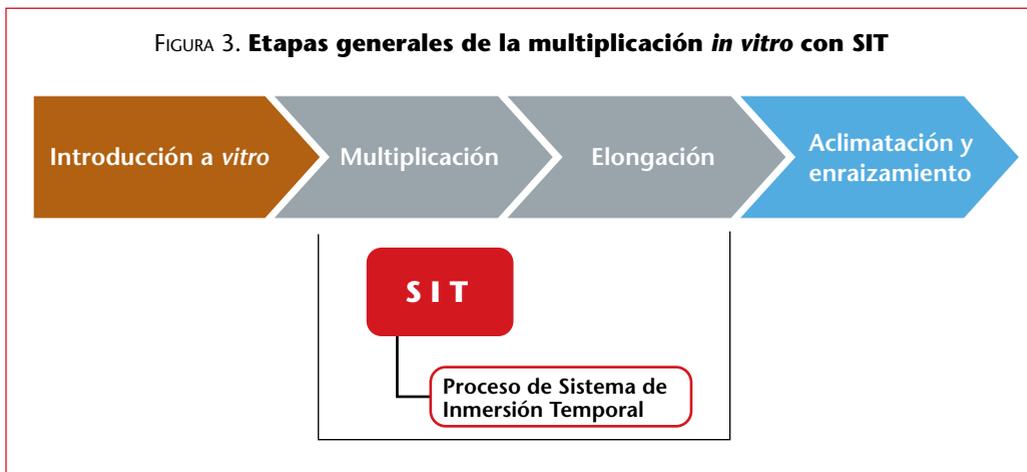
La inquietud por encontrar nuevas tecnologías, o herramientas tecnológicas, que permitan superar las limitaciones que presenta la micropropagación convencional ha implicado el desarrollo de métodos alternativos, como el sistema de inmersión temporal, que incorpora las ventajas del uso del medio líquido y diferentes grados de automatización al proceso de propagación *in vitro*, con el objetivo de reducir los costos de producción de plantas (Aitken-Christie *et al.*, 1995).

En el año 1997 surgió el sistema de inmersión temporal, que 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 que, luego de bañar los explantes, descendía por gravedad. En consecuencia, la técnica SIT se inserta como un complemento o herramienta de apoyo, y no como una alternativa a la micropropagación.

Las etapas regulares de la propagación *in vitro* se presentan en la Figura 2, aunque algunas especies o variedades podrían prescindir de una o las dos centrales:



En todas las especies, las etapas de introducción a *vitro* y de aclimatación y enraizamiento se realizan inexcusablemente y no presentan diferencias si se utiliza el sistema convencional de micropropagación o la técnica SIT (Figura 3). No obstante, al utilizar este método en algunos casos puede ser necesario cumplir la etapa de elongación y en otros no, dependiendo de la especie y variedad en multiplicación.

FIGURA 3. **Etapas generales de la multiplicación *in vitro* con SIT**

Las mayores diferencias entre el cultivo *in vitro* convencional y el SIT en biorreactores se producen en la etapa de multiplicación: el medio nutritivo que utiliza el SIT es líquido en vez de sólido (agar), el contacto del medio con el tejido se realiza de manera intermitente (temporal) y no permanente, y se utiliza un mayor número de explantes en cada contenedor.



Un recipiente que contiene las plántulas está conectado con otro que contiene la solución nutritiva; a su vez, cada uno se conecta con una manguera de presión de aire. El traslado del medio líquido al otro recipiente se produce mediante el aumento de la presión de aire interna, así, el medio se moviliza hacia el contenedor de menor potencial de presión. Este mecanismo se realiza en ambos contenedores, alternadamente.



Este sistema presenta importantes diferencias respecto del método convencional:

- al trabajar en medios líquidos temporales se puede mantener una gran cantidad de plántulas en un mismo volumen;
- el contacto intermitente del medio con los explantes reduce el nivel de toxinas presentes, ya que se mantienen limpias de sus propios exudados que pueden ser perjudiciales para su crecimiento;
- el mecanismo permite renovar y/o modificar la atmósfera interna de los contenedores y eventualmente, controlar ciertos aspectos de su desarrollo (preaclimatación).

Este método muestra un impacto importante en los métodos tradicionales de micropropagación, ya que se ha logrado una mayor tasa de multiplicación y aclimatación, así como mayores niveles de supervivencia en condiciones de campo.

Sin embargo, es importante indicar que esta técnica es relativamente nueva en el mundo, y mucho más en Chile, por lo que existen algunas interpretaciones y experiencias diferentes entre quienes han trabajado con ella; por lo tanto, las descripciones del mecanismo y de sus méritos señaladas en el presente documento no pretenden ser absolutas, sino dar algunas ideas de su funcionamiento y utilidad. Este documento rescata los resultados concretos obtenidos en el contexto del proyecto precursor, sin desatender resultados que se hubieran recogido de otras experiencias similares.

► 3. El valor de la herramienta desarrollada

El sistema de inmersión temporal en biorreactores constituye una herramienta tecnológica interesante, principalmente para el sector dedicado a la multiplicación de plantas, ya que su implementación permitiría mejorar la eficiencia del proceso de propagación *in vitro* de distintas especies, con los siguientes méritos respecto de la técnica convencional:

- Aumento importante en las tasas de multiplicación.
- Mejoramiento en el porcentaje de enraizamiento y sobrevivencia de las plantas en la etapa de aclimatación.
- Aumento en los niveles de mecanización de algunas etapas de la micropropagación.
- Reducción en el uso de la mano de obra.
- Reducción en los costos de reactivos e insumos por planta final.
- Menor costo por planta.
- Aumento de la rentabilidad del proceso.



Es importante indicar que la magnitud de cada una de estas ventajas puede variar según el proceso de incorporación de esta tecnología (procedimientos) y de las especies/variedades con las que se trabaja.

Parte de la literatura consultada como de las personas entrevistadas a propósito de este documento, coinciden en señalar que las dificultades o facilidades que presenta una determinada especie o variedad frente al proceso *in vitro* convencional o al SIT debieran ser similares. No obstante, el menor costo/planta que resulta de la implementación de este sistema, podría permitir trabajar con especies de difícil propagación (por ejemplo, por la aclimatación) cuyos coeficientes de multiplicación no son rentables bajo el sistema convencional, pero sí podrían serlo con esta nueva técnica.

Otras experiencias obtenidas de la ejecución del proyecto precursor sugieren que la modificación de la atmósfera de los contenedores, cambiando los contenidos de O_2 y CO_2 en una de las etapas finales del proceso, permitiría obtener una planta más vigorosa, en mejores condiciones y mejor preparada para la aclimatación y enraizamiento. Esto se debería a que al aumentar el nivel de CO_2 y conjuntamente suprimir los azúcares del medio, la planta se vería forzada a fotosintetizar y a iniciar una serie de procesos como la apertura y cierre estomático, que el proceso convencional no habría fomentado después de la etapa de aclimatación y enraizamiento.

La literatura consultada señala que algunas experiencias lograron reducir los costos de producción en valores cercanos al 50% debido, principalmente, a la disminución en el uso de la mano

de obra y a la reducción de los insumos utilizados en el proceso. La economía de escala que se produce por efecto de la utilización del SIT es importante, ya que al producir un mayor número de plantas en un tiempo determinado, los costos de producción por unidad se reducen significativamente.

Por otra parte, en un sistema de cultivo *in vitro* tradicional, las horas bajo cámara de flujo son limitantes en la producción y constituyen un aspecto crítico. Cuando se utiliza el sistema de inmersión temporal, las labores que se realizan bajo la cámara de flujo se llevan a cabo más rápida y ágilmente, por lo que se requieren menos horas bajo tal condición y, si se suma el aumento en la tasa de multiplicación, se pueden lograr entre tres y cinco producciones más en una temporada, respecto del sistema convencional, dependiendo de la especie y variedad a multiplicar.

Es importante considerar que la valorización de esta técnica como una herramienta tecnológica, dependerá de cómo se adapte a las especies de interés y bajo las condiciones locales existentes, ya que es fundamental considerar que la funcionalidad de este instrumento exige el desarrollo de protocolos para cada especie y variedad que se quiera propagar, ya que la micropropagación de plantas es específica según especie y, en muchos casos, según variedad y/o clon.

Esta herramienta no reemplaza a la micropropagación convencional, sino que debe ser entendida y aplicada como una técnica complementaria. Los costos de implementación del SIT en un laboratorio de propagación *in vitro* convencional equipado son relativamente bajos y la recuperación de la inversión es alta si se consideran las ventajas que presenta la producción de plantas bajo esta técnica.

► 4. La innovación tecnológica

Aunque la técnica SIT fue introducida y evaluada a través del proyecto precursor, no constituye una nueva herramienta *per se*, ya que su invención y desarrollo tiene algunos años fuera de Chile. La innovación se refiere a su adaptación y evaluación en condiciones locales, especialmente en algunas especies de alta demanda en el país, que fueron estudiadas en el marco del proyecto: vides, arándano y papa.

Una herramienta tecnológica, como el sistema de inmersión temporal, exige el desarrollo de protocolos para cada especie y variedad que se quiera propagar, lo que requiere tiempo y recursos para definir las variables de producción, entre otras: frecuencia y tiempo de inmersión, composición y volumen del medio, tipo y cantidad de explantes, por lo que la efectividad de la técnica, el diseño de su aplicación y los protocolos deben ser corregidos y adaptados para cada caso en particular.

Francia, y Cuba en Latinoamérica, han sido referentes en el desarrollo y aplicación de metodologías que permiten mejorar la eficiencia de los métodos convencionales de propagación. Se han realizado investigaciones para producir plantas de varias especies como caña de azúcar (Lorenzo *et al.*, 1998), piña (Escalona *et al.*, 1999), banano (Daquinta *et al.*, 1999) y microtubérculos de papa (Akita y Takayam, 1994; Jiménez *et al.*, 1999). Por otro lado, Estados Unidos, Holanda e Israel, entre otros, han desarrollado y están usando comercialmente esta tecnología para producir plantas.

Antes del proyecto precursor, en Chile no existía el desarrollo y uso del SIT y la investigación derivada constituye el primer esfuerzo tendiente a explorar su utilización en el país.

► 5. La conveniencia económica

Tanto la literatura como los resultados del proyecto precursor indican que el uso de esta técnica reduce los costos de producción/planta. Esto es consecuencia de la mecanización de algunas etapas de la micropropagación, lo que reduce el uso de mano de obra ya que disminuyen los costos de los reactivos e insumos utilizados en el proceso, medidos en términos de unidades por planta terminada.

En este punto del documento se analizan estas afirmaciones y se estima el impacto que tendría esta técnica en experiencias simuladas diferentes a las del proyecto precursor.

Existe muy poca información disponible respecto de la estructura de costos del sistema *in vitro* convencional y menos aún del sistema de inmersión temporal. Por otro lado, los coeficientes técnicos de ambos sistemas son muy variables pues dependen de las especies, de las variedades, de las técnicas y de las capacidades de los laboratorios. Por esto resulta complejo comparar resultados y, a partir de ellos, extrapolar posibles efectos de la aplicación de la técnica SIT en otros esquemas.

No obstante lo anterior, se hicieron levantamientos de diferentes sistemas, con los siguientes objetivos:

1. Validar los porcentajes de participación de cada una de las etapas del método *in vitro* convencional, con los resultados del proyecto precursor.
2. Determinar con detalles dónde y en qué elementos se producen los efectos de la implementación del sistema SIT (insumos, manos de obra, otros).
3. Determinar coeficientes del sistema SIT que permitan, aproximadamente, estimar su efecto en especies y variedades diferentes de la experiencia del proyecto precursor.

Para cumplir estos objetivos se analizó una tesis de la Universidad de Chile (Bertolini, 2000), que describió con detalle el proceso *in vitro* convencional para frutillas Elite (material base certificado). Se estableció una estructura de costo tipo para utilizarla como formato a fin de analizar la experiencia económica del proyecto precursor, la cual también se basa en un sistema convencional en arándanos (Anexo 2). Se homologaron ciertos costos que podían o no estar incorporados, como administración y jefes de laboratorio, entre otros. Asimismo, se homologaron los valores de mano de obra y el volumen de plantas a producir, de manera de hacer comparables los resultados, respetando los coeficientes técnicos de cada uno, en términos de número de repiques, tiempo y tasas de multiplicación.

En el Anexo 3 se presentan detalladamente los valores del proyecto de frutillas Elite y en el Anexo 5 y 6 los resultados del proyecto precursor, sobre la experiencia en arándanos.

En el proyecto precursor se evaluaron varias especies modelos (arándano, vid y papa), las que constituyen especies leñosas, semileñosas y herbáceas; éstas se seleccionaron dadas sus diferencias en la facilidad para micropropagar: las más leñosas presentan un mayor grado de dificultad.

Para realizar el análisis económico, es importante considerar las diferencias entre las especies y realizarlo por tipo de planta, de manera de estimar el efecto del SIT de forma mucho más precisa en especies y variedades. Aunque esto no se realizó en el presente estudio debido a la escasa información disponible, es importante tenerlo presente.

En el Cuadro 1 se detalla la base de apoyo al cálculo que corresponde a los valores asignados arbitrariamente para poder comparar los resultados de ambos procesos.

CUADRO 1. Costos y número de plantas utilizadas en la comparación de dos sistemas de propagación *in vitro*

Costos	Cantidad
Sueldo mensual bruto laboratorista <i>in vitro</i> (\$)	320.000
Horas profesionales/mes (N°)	160
Costo \$/HP	2.000
Meristemos iniciales (N°)	100
Plantas finales (N°)	4.900

Una vez que los valores fueron homologados se compararon las participaciones relativas de mano de obra, insumos y otros, entre los sistemas (Cuadro 2), y se determinó que:

1. La participación relativa de cada una de las etapas, insumos, mano de obra y otros de ambos sistemas son relativamente similares, lo que permite estimar con mayor seguridad el efecto de un sistema SIT, en el caso de las frutillas.
2. En ambos casos los costos de laboratorio son los más importantes de todo el proceso.
3. Los insumos son relativamente insignificantes en su participación, mientras que la mano de obra calificada es lo más significativo y representa cerca del 50% del total de los costos de todo el proceso (hasta la planta final), en ambos casos.
4. Lo más caro del sistema en el laboratorio corresponde a los jornales de la cámara de flujo, donde se procede al repique y a la colocación de plantas en los tubos de ensayo.
5. Otro costo importante, que no corresponde al proceso del laboratorio, se refiere a la aclimatación de las plantas, que se realiza en condiciones de vivero, generalmente en bolsas bajo malla para acostumbrar a las plantas a la nueva condición.



CUADRO 2. Comparación de la participación relativa de los costos de dos sistemas de propagación *in vitro* convencional: arándanos (proyecto precursor) y frutillas Elite

Ítem	PARTICIPACIÓN RELATIVA (%)	
	Arándanos	Frutillas
	Proyecto precursor homologado	Elite Homologado
Personal		
Jefe	1,65	0,63
Laboratorio	4,70	1,79
Jornales flujo	19,21	24,35
Jornales preparación medios	11,53	9,49
Jornales supervisión	11,53	15,40
Total	48,62	51,66
Equipos	0,00	0,00
Materiales varios	0,00	0,00
Insumos	6,27	5,25
Servicios Generales	11,54	4,39
Varios	9,61	3,66
Mantenimiento	1,93	0,73
Total laboratorio	66,42	61,29
Aclimatación	28,82	33,94
Administración	4,76	4,76
Total	100,00	100,00

Nota: la cantidad de plantas finales y el valor de mano de obra se han homologado para mejorar la comparación.
Fuente: basado en información de proyecto precursor y de frutillas Elite.



Al aplicar la técnica de SIT en el mismo cultivo de arándanos se obtuvieron disminuciones importantes en varios costos que, si se analizan en la estructura de costos de arándanos homologados, se obtienen los resultados que se muestran en el Cuadro 3.

CUADRO 3. Comparación de la participación relativa de los costos de dos sistemas de propagación en arándanos: *in vitro* convencional y SIT

Ítem	<i>In vitro</i> convencional		SIT		Variación (%)
	JH	%	JH	%	
Personal	95,83	100,0	42,75	100,0	55,4
Jefe	1,00	1,0	1,00	2,3	0,0
Laboratorio	5,00	5,2	5,00	11,7	0,0
Jornales flujo	40,83	42,6	19,60	45,8	52,0
Jornales preparación medios	24,50	25,6	9,80	22,9	60,0
Jornales supervisión	24,50	25,6	7,35	17,2	70,0

Ítem	Valor (\$)	%	Valor (\$)	%	Variación (%)
Equipos (\$)	-	0,0	-	0,0	0,0
Materiales (\$)	-	0,0	-	0,0	0,0
Insumos (\$)	26.655	12,8	23.833	12,9	10,6
Servicios generales (\$)	49.041	23,6	29.425	15,9	40,0
Total laboratorio (\$)	75.696	36,4	53.257	28,9	29,6
Aclimatación (\$)	122.500	58,9	122.500	66,4	0,0
Administración (\$)	9.910	4,8	8.788	4,8	11,3
Total (\$)	208.105	100,0	184.545	100,0	11,3

Nota: la cantidad de plantas finales y el valor de mano de obra se han homologado.

Fuente: Elaborado por los autores con información de proyecto Precursor.

En términos generales, los ítems que se ven influidos por el uso de la técnica SIT, son aquellos relativos a mano de obra; por ejemplo, los jornales de flujo disminuyen en un 52%, lo que es muy significativo puesto que corresponden a un 45,8% de los costos de mano de obra. Los insumos también disminuyen, aunque bastante menos (10,6%), cuya participación relativa en los costos (12,9%) es importante, pero no tanto como la mano de obra.

También se observan reducciones en otros ítems, como los jornales de supervisión y los servicios generales, aunque dependen más de la disminución relativa por efecto de las economías de escala, aún cuando la comparación se hizo en ambos sistemas con el mismo número de plantas, lo que da cuenta de que estos ítems pueden estar subutilizados en sistemas convencionales.

Estos resultados, analizados desde el punto de vista de los costos, muestran que el costo de producción/planta, en los términos que se analiza el proyecto precursor, presentan una disminución desde \$ 86,76/planta hasta 59,20, lo que representa un ahorro del 31,77% (Cuadro 4). Este valor es muy similar al del proyecto precursor (38%); la diferencia se explica por la forma de tratar los valores y la homologación de costos con el proyecto de frutilla (Cuadro 5).

CUADRO 4. Comparación de costos y participación relativa de los ítems de dos sistemas de propagación en arándanos: sistema *in vitro* convencional y SIT

Ítem	<i>In vitro</i> convencional		SIT	
	Valor (\$)	%	Valor (\$)	%
Personal	206.667	48,6	100.500	34,6
Jefe	7.000	1,6	7.000	2,4
Laboratorio	20.000	4,7	20.000	6,9
Jornales flujo	81.667	19,2	39.200	13,5
Jornales preparación medios	49.000	11,5	19.600	6,8
Jornales supervisión	49.000	11,5	14.700	5,1
Insumos	26.655	6,3	23.833	8,2
Servicios generales	49.041	11,5	29.425	10,1
Total laboratorio	282.362	66,4	153.757	53,0
Administración	20.243	4,8	13.813	4,8
Aclimatación	122.500	28,8	122.500	42,2
Total costos	425.105	100,0	290.070	100,0
Plantas producidas (Nº)	4.900		4.900	
Costo producción/planta (\$)	86,76		59,20	
Disminución de costos	0		31,77	

Nota: la cantidad de plantas finales y el valor de mano de obra se han homologado.

CUADRO 5. Resumen de la comparación de costos y participación relativa de los ítems de dos sistemas de propagación en arándanos: *in vitro* convencional y SIT

Ítem	ARÁNDANOS			
	<i>In vitro</i>		SIT	
	Valor (\$)	%	Valor (\$)	%
Personal	71.000	42	53.000	30
Materiales	2.841	2	11.010	6
Insumos	73.055	43	77.255	44
Servicios generales	24.020	14	34.020	19
TOTAL	170.916	100	175.285	100
Plantas producidas (Nº)	2.400		4.000	
Costo producción/planta (\$)	71		44	
Disminución de costos	0		38	

Con estos resultados se puede construir una tabla de coeficientes de SIT en arándanos (Cuadro 6), a fin de estimar el efecto que tendría su aplicación en otra estructura de costos para la misma especie.

CUADRO 6. Coeficientes de eficiencia en el uso de recursos del SIT sobre sistema *in vitro* convencional en arándanos

Ítem	Coefficiente SIT
Personal	0,446
Jefe	1,000
Laboratorio	1,000
Jornales flujo	0,480
Jornales preparación medios	0,400
Jornales supervisión	0,300
Equipos	1,000
Materiales	1,000
Insumos	0,894
Servicios generales	0,600
Total laboratorio	0,704

A fin de ilustrar el posible efecto de esta técnica en otros cultivos (entendiendo que se trata sólo de una generalización, ya que cada especie y variedad son diferentes), se aplicaron los coeficientes SIT sobre la base de estructura de costos de las frutillas Elite. En el Cuadro 7 se presenta la estructura de costos de la producción de frutillas Elite en sistema *in vitro* convencional, valores homologados.

CUADRO 7. Estructura de costos de frutillas Elite en sistema *in vitro* convencional

Ítem	Valor unitario	Unidad (HP)	Total	Particip. relativa (%)	Unidades/ MI*	Valor \$/MI*	Unidades/ PF**	Valor \$/PF**	Particip. relativa (%)
Personal	-	281,00	577.000,00	51,66	2,81	5.770,00	0,06	117,76	51,66
Jefe	7.000,00	1,00	7.000,00	0,63	0,01	70,00	0,0002	1,4286	0,63
Laboratorio	4.000,00	5,00	20.000,00	1,79	0,05	200,00	0,0010	4,0816	1,79
Jornales flujo	2.000,00	136,00	272.000,00	24,35	1,36	2.720,00	0,03	55,51	24,35
Obtención meristemos	2.000,00	12,00	24.000,00	2,15	0,12	240,00	0,0024	4,8980	2,15
Repique	2.000,00	124,00	248.000,00	22,20	1,24	2.480,00	0,0253	50,6122	22,20
Jornales preparación medios	2.000,00	53,00	106.000,00	9,49	0,53	1.060,00	0,01	21,63	9,49
Preparación medio	2.000,00	53,00	106.000,00	9,49	0,53	1.060,00	0,0108	21,6327	9,49
Jornales supervisión	2.000,00	86,00	172.000,00	15,40	0,86	1.720,00	0,02	35,10	15,40
Mantenimiento cámara crecimiento	2.000,00	86,00	172.000,00	15,40	0,86	1.720,00	0,0176	35,1020	15,40
Equipos	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Materiales varios	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Insumos	-	-	58.591,37	5,25	0,00	585,91	0,00	11,96	5,25
Servicios generales	-	-	49.040,83	4,39	0,0408	490,4083	0,0008	10,0083	4,39
Varios	20.000,00	2,04	40.833,33	3,66	0,02	408,33	0,0004	8,3333	3,66
Mantenimiento	4.020,00	2,04	8.207,50	0,73	0,02	82,08	0,0004	1,6750	0,73
Total Laboratorio			684.632,21	61,29	2,85	6.846,32	0,06	139,72	61,29
Aclimatación			379.135,32	33,94	-	3.791,35	-	77,3746	33,94
Administración	2.000,00	26,59	53.188,38	4,76	0,2659	531,8838	0,0054	10,8548	4,76
TOTAL	-	-	1.116.955,90	100,00	-	11.169,56	-	227,95	100,00

* Meristemos iniciales (MI): 100

** Plantas finales (PF): 4.900

Fuente: basado en el proyecto precursor y Bertolini (2000).

De este ejercicio surgen los valores que se presentan en el Cuadro 8, los cuales arrojan disminuciones porcentuales muy similares a las registradas en el proyecto precursor con la aplicación del sistema SIT.

CUADRO 8. Estructura de costos de frutillas Elite en sistema *in vitro* SIT, valores homologados

Ítem	Valor unitario (\$)	Unidad (HP)	TOTAL	Valor \$/PF**	Particip. relativa (%)
Personal		118,28	251.560,00	51,34	32,85
Jefe	7.000,00	1,00	7.000,00	1,4286	0,91
Laboratorio	4.000,00	5,00	20.000,00	4,0816	2,61
Jornales flujo	2.000,00	65,28	130.560,00	26,6449	17,05
Obtención meristemos	-	-	-	-	0,00
Repique	-	-	-	-	0,00
Jornales preparación medios	2.000,00	21,20	42.400,00	8,6531	5,54
Jornales supervisión	2.000,00	25,80	51.600,00	10,5306	6,74
Mantenimiento cámara crecimiento	-				
Equipos			0	0,00	0,00
Materiales varios			0	0,00	0,00
Insumos			52.388,37	10,69	6,84
Servicios generales			29.424,50	6,01	3,84
Total laboratorio			333.372,87	68,04	43,54
Aclimatación			379.135,32	77,37	49,52
Administración (5%)			53.188,38	10,8548	6,95
Total			765.696,57	156,26	100,00

Meristemos iniciales (MI): 100 ** Plantas finales (PF): 4.900

Fuente: basado en el proyecto precursor y Bertolini (2000).

El Cuadro 9 muestra las diferencias porcentuales de participación de cada uno de los ítems en el sistema SIT aplicado en frutillas.

CUADRO 9. Comparación de la participación relativa de los costos de dos sistemas de propagación en frutillas: *in vitro* convencional y SIT

Ítem	<i>In vitro</i> convencional		SIT		Variación (%)
	JH	%	JH	%	
Personal	281,00	51,7	118,28	32,9	57,9
Jefe	1,00	0,6	1,00	0,9	0,0
Laboratorio	5,00	1,8	5,00	2,6	0,0
Jornales flujo	136,00	24,4	65,28	17,1	52,0
Jornales preparación medios	53,00	9,5	21,20	5,5	60,0
Jornales supervisión	86,00	15,4	25,80	6,7	70,0

Ítem	<i>In vitro</i> convencional		SIT		Variación (%)
	Valor (\$)	%	Valor (\$)	%	
Equipos	-	0,0	-	0,0	-
Materiales	-	0,0	-	0,0	-
Insumos	58.591	5,2	52.388	6,8	10,6
Servicios generales	49.041	4,4	29.425	3,8	40,0
Total laboratorio	684.632	61,3	333.373	43,5	51,3
Aclimatación	379.135	33,9	379.135	49,5	0,0
Administración	53.188	4,8	53.188	6,9	0,0
Total	1.116.956	100,0	765.697	100,0	31,4

Nota: la cantidad de plantas finales y el valor de mano de obra se han homologado para mejorar la comparación.
Fuente: basado en el proyecto precursor y Bertolini (2000).

Estos resultados, analizados desde el punto de vista de los costos, arrojan una disminución desde \$ 227,95/planta hasta 156,26, lo que representa un ahorro del 31,45% (Cuadro 10).

CUADRO 10. Comparación de costos y participación relativa de los ítems de dos sistemas de propagación en frutillas: sistema *in vitro* convencional y SIT

Ítem	<i>In vitro</i> convencional		SIT	
	Valor (\$)	%	Valor (\$)	%
Personal	577.000	51,7	251.560	32,9
Jefe	7.000	0,6	7.000	0,9
Laboratorio	20.000	1,8	20.000	2,6
Jornales flujo	272.000	24,4	130.560	17,1
Jornales preparación medios	106.000	9,5	42.400	5,5
Jornales supervisión	172.000	15,4	51.600	6,7
Insumos	58.591	5,2	52.388	6,8
Servicios generales	49.041	4,4	29.425	3,8
Total laboratorio	684.632	61,3	333.373	43,5
Administración	53.188	4,8	53.188	6,9
Aclimatación	379.135	33,9	379.135	49,5
Total costos	1.116.956	100,0	765.697	100,0
Plantas producidas (N°)	4.900		4.900	
Costo producción/planta (\$)	227,95		156,26	
Disminución de costos	0		31,45	

Nota: la cantidad de plantas finales y el valor de mano de obra se han homologado.

Fuente: basado en el proyecto precursor y Bertolini (2000).

Por otra parte, el costo de implementación de un sistema SIT, anexo a un laboratorio *in vitro* convencional ya establecido, se ha determinado en un monto total de \$ 2,8 millones (Cuadro 11).



Sistema de inmersión temporal, en proyecto "Programa de mejoramiento genético en *Alstroemeria* nativa" (FIA - P. Universidad Católica - Fundación Copec)

CUADRO 11. Costos (\$) de la instalación, equipos y materiales requeridos para la implementación de la técnica de sistemas de inmersión temporal en biorreactores (20 unidades SIT compuestas por 40 botellas/frascos)

Ítem/ Descripción	Cantidad	Valor unitario (\$)	Total (\$)
Válvula de corte	1	26.206	26.206
Filtros reguladores	2	26.000	52.000
Escuadra de fijación	1	2.457	2.457
Tornillo bulon	3	3.018	9.054
Racor	10	1.418	14.180
Conector 1	2	3.582	7.164
Tapón ciego	2	970	1.940
Conector 2	24	2.650	63.600
Tubo flexible	22	1.232	27.104
Tubo flexible	12	821	9.852
Tapón	10	635	6.350
Electroválvula	2	42.765	85.530
Bobina magnética	2	10.425	20.850
Regulador de Ca	2	19.984	39.968
Botellas (2 l)	40	12.506	500.240
Tapas	40	12.707	508.280
Manguera silicona	1	52.675	52.675
Filtros	40	6.272	250.880
Compresor	1	150.000	150.000
Programador	1	60.000	60.000
Materiales menores	1	40.000	40.000
Subtotal			1.928.330
IVA (19%)			366.383
Total 1			2.294.713
Costo instalación			600.000
Total 2			2.894.713
Costo asesoría implementación SIT			3.500.000
Total 3			6.394.713

Notas:

- Para un nivel de producción variable, dependiendo de la especie y variedad.
- Los valores de algunos materiales pueden variar, de acuerdo a las dimensiones específicas del laboratorio y de la cámara en particular, así como de la marca del material, tamaño y modelo escogido.

Fuente: AGR Consultores.

Es importante considerar que la implementación del SIT en un laboratorio debe contemplar, adicionalmente, el costo de la asesoría experta en el diseño, montaje e implementación de la técnica, así como en el desarrollo inicial del protocolo de interés. También se requiere la inducción del personal a través de la capacitación, al menos en los laboratorios que estén incursionando por primera vez en la implementación de esta metodología.

Si se analiza lo que significa el costo de implementación del Sistema SIT y se compara con el ahorro potencial de costos que significa en cada cultivo, se observa que para arándanos la implementación se justifica para una producción de más de 250.000 plantas, a diferencia del caso de frutillas, que ocurre desde las 90.000 plantas (Cuadro 12). Esto muestra que el impacto del uso de la herramienta es variable según la especie, desde el punto de vista de los costos y de los volúmenes de producción.

CUADRO 12. Ahorro potencial de la implementación del Sistema SIT en un laboratorio *in vitro* convencional para arándano y frutilla

Arándanos	Producción de plantas (N°)				
	4.900	50.000	100.000	200.000	250.000
<i>In vitro</i> convencional (\$)	425.105	4.337.806	8.675.612	17.351.224	21.689.031
SIT (\$)	290.070	2.959.898	5.919.796	11.839.592	14.799.490
Ahorro potencial (\$)	135.035	1.377.908	2.755.816	5.511.633	6.889.541

Frutillas	Producción de plantas (N°)				
	4.900	10.000	50.000	80.000	90.000
<i>In vitro</i> convencional (\$)	1.116.956	2.279.502	11.397.510	18.236.016	20.515.518
SIT (\$)	765.697	1.562.647	7.813.235	12.501.176	14.063.822
Ahorro potencial (\$)	351.259	716.855	3.584.276	5.734.841	6.451.696

Si bien el ahorro potencial de la implementación del SIT no es lineal, los valores del Cuadro 12 sólo pretenden ilustrar este efecto.

Desde el punto de vista de quien opera esta tecnología, la conveniencia económica se verifica en la reducción de sus costos, fundamentalmente en la mano de obra, y/o en el aumento de sus márgenes por planta. En el presente documento se da especial énfasis a ilustrar estos beneficios, sin embargo, también existen beneficios menos evidentes aunque importantes para los usuarios.

En especies en que el coeficiente de éxito de la propagación *in vitro* es bajo y, por ende, el costo por planta hace difícil su utilización (algunas especies muy leñosas, por ejemplo), esta herramienta se constituye en una opción viable para hacer incrementos importantes de poblaciones de especies de interés, con costos menores.

► 6. Claves de viabilidad

Para que la aplicación de esta herramienta sea exitosa, se deben considerar aspectos que se relacionan tanto con la herramienta, como con los usuarios; así, las experiencias nacionales e internacionales existentes hasta la fecha dan cuenta de los elementos que deben considerarse para que esta herramienta tecnológica cumpla con los resultados esperados, como se señala a continuación.

6.1 Validación de la tecnología y desarrollo de protocolos específicos para las especies de interés

La aplicación de esta tecnología necesita de investigación básica y de ajustes pertinentes a las especies de interés, ya que todo sistema de propagación de plantas es especie-específico. Por esta razón, para que el sistema de inmersión temporal en biorreactores pueda ser aplicado en forma eficiente y se alcancen los objetivos que se persiguen, es indispensable que haya sido validado para las condiciones bajo las cuales será utilizado. Esto significa que debe desarrollarse el protocolo de propagación específico para la especie y variedad que es de interés propagar, lo que implica que deben ajustarse las variables y factores críticos que inciden en la multiplicación mediante el sistema SIT:

- **Aptitud de la planta para ser propagada en un medio líquido:** uno de los problemas que limitan el empleo de estos medios es la hiperhidratación de los brotes, por lo que es necesario

confirmar que la planta sea apta para la propagación en este medio, sin afectar la calidad de los brotes.

- **Contaminación causada por bacterias, hongos, levaduras e insectos:** esta situación puede ser más grave en sistemas automatizados, debido al manejo de un mayor volumen de plantas al mismo tiempo. Por lo tanto, se requiere aumentar los niveles de seguridad de manera de reducir al máximo los riesgos de contaminación. Se deben tomar precauciones extremas, tales como una desinfección permanente del material y evaluación exhaustiva previa al ingreso de éste al sistema de propagación.
- **Variación somaclonal:** el SIT es un sistema de micropropagación masivo, donde se obtienen altas tasas de multiplicación y no se conocen los efectos genéticos que podrían presentar las especies a propagar; por ello, es altamente recomendable incorporar un control de calidad para garantizar la estabilidad e identificación genética del material propagado.
- **Vitrificación:** su presencia puede afectar la calidad de los brotes. La vitrificación ocurre generalmente con tejidos que crecen en contacto con medio líquido; algunos tipos de tejidos y particularmente algunas especies son más sensibles a este medio (Smith & Spoomer, 1995). Para disminuir este problema se han desarrollado diferentes estrategias:
 - adición de retardantes de desarrollo y agentes osmóticos al medio;
 - modificación del medio ambiente a través de una mayor aireación en el medio;
 - uso de aparatos adecuados para el crecimiento de diferentes tipos de plantas y tejidos (Ziv & Ariel, 1994).
- Composición del medio de cultivo, frecuencia, tiempo y duración de la inmersión y relación volumen de medio/número y tipo de explantes: estos factores determinan en gran medida el coeficiente de multiplicación y la calidad de las plantas producidas en el SIT. Se considera clave el ajuste de estas variables para asegurar el éxito de la aplicación de esta herramienta.



6.2 Asesoría experta

Se requiere la disponibilidad de un servicio especializado que ofrezca asesoría adecuada para el montaje correcto e implementación del SIT en el laboratorio y, especialmente, en el desarrollo de los protocolos de propagación requeridos.

6.3 Los usuarios

- El entendimiento de la tecnología y su uso: para una aplicación efectiva de la tecnología, es importante que tanto el empresario o propietario del laboratorio *in vitro*, como el personal a cargo, estén familiarizados con sus características y requerimientos, ya que se debe mostrar especial interés por este tipo de actividad, debido a lo minucioso y detallista de las labores a realizar.



- Capacitación del personal: es necesario considerar un período de inducción del personal donde se le capacite con relación a la técnica a implementar en el laboratorio, a fin de que pueda desempeñarse de eficientemente.
- Capacidad de gestión: el usuario debe mostrar una capacidad de gestión relativamente alta respecto del desarrollo de los protocolos de propagación y, especialmente, en la ejecución de los programas de producción, ya que si la programación y coordinación entre las distintas etapas del proceso productivo no es la correcta, se pueden presentar problemas con el manejo de las plantas por falta de personal y/o espacio en las cámaras y posteriormente en los invernaderos donde se llevará a cabo la fase de aclimatación, lo que puede conducir a la obtención de plantas de regular calidad.
- Características de la explotación: la experiencia indica que el éxito de la implementación de la herramienta sólo presenta las limitaciones que fueron descritas como factores críticos en las claves de sostenibilidad. Probablemente las mayores incidencias económicas del SIT sobre los resultados de las empresas, se producirán al aplicarlas en especies de difícil propagación ya sea por las características propias de la especie y/o por la dificultad en el enraizamiento y posterior aclimatación, entre otras.
- Tamaño de la explotación: desde el punto de vista de la herramienta, no existen limitaciones para el tamaño que deben tener las explotaciones o laboratorios. El costo de la implementación del SIT es poco significativo una vez que el laboratorio se encuentra equipado para micropropagación convencional. Sin embargo, se debe considerar que al aplicar esta técnica la tasa de producción de plantas es alta, lo que obliga a ajustar la dimensión del recinto de acuerdo al programa de producción contemplado, de manera que no se altere la calidad final de las plantas obtenidas.

► 7. Asuntos por resolver

El sistema de micropropagación convencional aún presenta una serie de asuntos por resolver, por ejemplo, la baja tasa de multiplicación que presentan algunas especies, la alta demanda por mano de obra y el alto costo por planta obtenida. Cabe destacar, que muchos de estos asuntos por resolver se solucionan a través de la aplicación del SIT.

El SIT se encuentra en un nivel de desarrollo que permite su implementación inmediata, sin perjuicio de la investigación adicional que se realice y de los ajustes necesarios, los cuales, como se mencionó anteriormente, deben abordarse para el éxito de su aplicación, por ejemplo:

- Desarrollo de los protocolos de propagación y ajustes pertinentes para cada caso en particular, especialmente en relación con aspectos como: composición del medio de cultivo; definición de la frecuencia y tiempo de inmersión; volumen óptimo de medio de cultivo en comparación con la cantidad y número de explantes y duración de la etapa, y condiciones hormonales, nutricionales (auxinas y nutrientes) y ambientales (intensidad luminosa, CO₂) para obtener plantas de buena calidad.
- Estudio del efecto de la aplicación de CO₂ sobre la calidad de las plantas obtenidas en la multiplicación, específicamente en términos de las ventajas que proporcionaría al obtener plantas de mejor calidad y mayor vigor para entrar a la etapa de aclimatación y enraizamiento.
- Investigar y afinar algunos aspectos de la herramienta referidos a los factores claves que permiten validar la tecnología como, por ejemplo, la contaminación a la que están expuestas las plantas durante el proceso productivo, considerando que en las condiciones en las cuales se desarrolla el SIT en los biorreactores se amplifican los riesgos de contaminación.
- Seguir investigando en el campo el nivel de mutagénesis que podría registrar el sistema a propósito de la masificación de los materiales; cabe indicar que no es el sistema el que induce la mutagénesis, sino los propios materiales que, llevados a esta reproducción masiva, podrían eventualmente presentar una mayor proporción de plantas fuera de tipo.

Aunque algunas empresas, junto con universidades y el INIA, han seguido desarrollando iniciativas orientadas a evaluar la factibilidad técnica y comercial del SIT en especies forestales y ornamentales, entre otras, se requiere un esfuerzo de investigación adicional considerable para aprovechar cabalmente el potencial de esta tecnología.



► 8. Situación actual

Existen varias empresas que actualmente están utilizando comercialmente esta herramienta y trabajan en el desarrollo de los protocolos de propagación para las especies de su interés, además de realizar los ajustes en forma permanente. Algunas de éstas son Hortifrut (Región Metropolitana), Sone (Hijuelas, Región de Valparaíso) y Valdiflora (Valdivia, Región de Los Ríos).

A su vez, otras empresas como Vivero y Jardín Pumahuida están cofinanciando, junto con la Fundación COPEC y la Pontificia Universidad Católica de Santiago, un programa de mejoramiento genético en *Alstroemeria* nativa basado en esta técnica, con el fin de desarrollar un sistema intensivo de multiplicación *in vitro* para la especie.

También otras empresas y/o laboratorios, como Bioforest y Cooperativa de Mejoramiento Genético Forestal, están desarrollando esta técnica y se encuentran en distintas etapas en la aplicación de este sistema.

Por otra parte, algunas empresas han generado una demanda por los servicios de asesoría para la implementación del sistema de inmersión temporal en biorreactores en sus laboratorios, así como para el desarrollo de los protocolos requeridos para su correcta y eficiente aplicación.

Respecto de los materiales y equipos requeridos, la experiencia nacional ha demostrado que el sistema es muy sencillo de implementar y puede ser construido en su totalidad con componentes que venden en el comercio local, con excepción de los filtros que son importados. Básicamente consiste en recipientes de vidrio cilíndricos con boca ancha, tapas, tubos de vidrio, mangueras de plástico flexible y un compresor, entre otros.

En el plano internacional, Cuba utiliza el SIT en forma masiva en cultivos de papa, caña de azúcar, hortalizas, piña y plátanos y algunos laboratorios holandeses lo aplican en plantas ornamentales y han patentado la técnica para especies de alto valor comercial; a su vez, algunos han suscrito contratos de producción de plantas de *Lilium*, con empresas nacionales.

En Chile se está utilizando en arándanos y otros berries como frambuesas y moras, además de *Lilium* y especies forestales como *Eucalyptus*. También se están haciendo ensayos en pinos.

SECCIÓN 2

El proyecto precursor

► 1. El entorno del proyecto

Internacionalmente la técnica de micropropagación ha mostrado resultados altamente ventajosos en la propagación rápida y con calidad de diversas especies de plantas económicamente importantes. Sin embargo, en Chile esta actividad está poco desarrollada comercialmente, en comparación con los países desarrollados. Más aún, al momento de gestarse el proyecto precursor, la tecnología empleada para el cultivo *in vitro* en el país presentaba resultados interesantes, aunque no resolvía las limitaciones que presenta cualquier sistema de micropropagación convencional, como el bajo coeficiente de multiplicación, el alto uso de mano de obra y la escasa posibilidad de automatización, lo que se traduce en un alto valor de las plantas producidas por este medio. Estas características reducen su uso principalmente a aquellas especies que, por condiciones de mercado, poseen un alto retorno económico.

Por otra parte, en un escenario donde se requiere un rápido recambio varietal, como el que existe actualmente y que existía en los momentos en que se ideó el proyecto, con una dinámica varietal vertiginosa, surge la imperiosa necesidad de propagar plantas altamente demandadas por el mercado y de material escaso, de una manera rápida y eficiente, en términos de costos y calidad.

Es así como el sistema de inmersión temporal en biorreactores es fundamental para abordar esta problemática y aumentar la rentabilidad y competitividad de las empresas y de la industria.



Desde el punto de vista del entorno científico, un grupo de investigadores y productores chilenos conocieron esta herramienta a través de visitas a otros países, especialmente a Cuba, donde su uso estaba en práctica y arrojaba auspiciosos resultados. Por lo tanto, hubo una coincidencia del entorno científico con el productivo en la rápida implementación y adaptación de esta tecnología.

Lo anterior describe el entorno y la justificación del proyecto, las razones que motivaron a quienes lo impulsaron y ejecutaron, así como las necesidades existentes en ese momento y que siguen siendo válidas actualmente.

► 2. El proyecto

Los resultados y lecciones aprendidas en este documento surgen de la ejecución del proyecto “Evaluación de la factibilidad del uso de la técnica de inmersión temporal (SIT) en biorreactores, para mejorar la eficiencia de la micropropagación en especies anuales, frutales y vides”.

El proyecto fue ejecutado por el Centro Regional de Investigación, CRI-Quilmapu, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias, y Hortifrut, con la posterior incorporación de la empresa SONE, entre los años 2001 y 2005.

El objetivo general del proyecto fue determinar la factibilidad de implementar comercialmente la producción de plantas, mediante el uso del sistema de inmersión temporal (SIT) en biorreactores, para mejorar la eficiencia y rentabilidad de esta actividad.

Se utilizaron tres especies modelos: arándano, vid y papa, que representaban un amplio espectro de especies leñosas, semileñosas y herbáceas.



Los objetivos específicos fueron:

- Evaluar la factibilidad de la micropropagación en medios líquidos de las especies en estudio.
- Determinar los factores que influyen en la multiplicación y elongación de las especies sometidas al sistema SIT, tales como frecuencia, volumen óptimo y CO₂.
- Determinar las condiciones óptimas para la tuberización de papa en SIT (concentraciones hormonales y nutricionales, frecuencia y tiempo de inmersión, volumen y otros).
- Evaluar el enraizamiento *in vitro* y la aclimatación.
- Determinar la estabilidad genética.
- Realizar un análisis económico de los sistemas evaluados.
- Implementar y evaluar un ensayo piloto en papa y arándano.
- Realizar transferencia tecnológica.

2.1 Aspectos metodológicos

A continuación se describe la metodología por especie y tema.

Arándano

- **Material vegetal:** en el proyecto se eligió la especie *Vaccinium corymbosum* por la importancia que representaba el cultivo del arándano en Chile y por la necesidad creciente de reemplazar las variedades cuyas plantas están siendo producidas bajo cultivo *in vitro*. En una primera etapa del proyecto se seleccionaron tres variedades de arándano sobre la base de su importancia comercial en el país:
 - O’Neal, variedad temprana de mayor importancia comercial en la zona centro norte;
 - Duke, de buena adaptación a la zona centro-sur;
 - Elliot, de cosecha tardía y gran relevancia en la zona sur.

En la etapa final del proyecto se incorporó la variedad Aurora, de introducción más reciente al país, proveniente de la Universidad del Estado de Michigan, Estados Unidos.

Los brotes utilizados en el SIT fueron producidos por el sistema de micropropagación convencional utilizado en Hortifrut.

- **Medio de cultivo y subcultivos:** el medio de cultivo correspondió al WP,⁶ los subcultivos se realizaron cada 21 días y la cosecha y evaluación de los brotes a los 63 días.
- **Factores a evaluar:**
 - frecuencia de inmersión: 18 y 24 horas;
 - tiempo de inmersión: 1 a 3 minutos;
 - volumen del medio y número de explantes: 250, 500 y 750 ml, con 40, 60 y 80 explantes/contenedor.
- **Diseño experimental:** completo al azar con arreglo factorial, con un número variable de repeticiones. Se evaluó: número y longitud de brotes, peso seco, hiperhidracidad y relación peso seco/peso fresco.

⁶ Woody Plant (WP) medium (Lloyd y McCown, 1980).



Vid

- **Material vegetal:** como especie leñosa se consideró la vid, dada su importancia en el país y el mayor desarrollo de las técnicas de micropropagación en esta especie, lo que motivó a evaluar la posibilidad de mejorar su sistema de micropropagación a través del SIT. Se seleccionaron dos variedades de vid sobre la base de su importancia económica y uso comercial:
 - Cabernet Sauvignon, variedad vinífera;
 - Sultanina, variedad de uva de mesa.

El material vegetal inicial fue producido mediante micropropagación convencional de sarmientos obtenidos en huertos de un campo experimental del INIA; este material originó plantas madres, de las cuales se obtuvieron los explantes usados en los experimentos.

- **Medio de cultivo y subcultivos:** se usó el medio de cultivo líquido Murashige Skoog con algunas modificaciones; se cambió cada 21 días.
- **Factores a evaluar:**
 - frecuencia de inmersión: 6, 12, 18 y 24 horas;
 - tiempo de inmersión: 1, 3 y 5 minutos;
 - volumen del medio y número de explantes: 250, 500 y 750 ml, con 6, 9 y 12 explantes/contenedor.
- **Diseño experimental:** completo al azar con arreglo factorial y seis repeticiones. Se evaluó: número y longitud de brotes sanos, número de brotes hiperhidratados, peso seco y fresco de los brotes, relación peso seco/peso fresco, número de yemas por brote.

Papa

- **Material vegetal:** entre los cultivos anuales se seleccionó la papa por la importancia que tiene para el país y porque era una de las pocas especies para las cuales existían referencias que permitieran implementar y evaluar esta técnica en el país; fue la primera experiencia nacional. Para la producción de microtubérculo-semillas se seleccionaron dos variedades, considerando la importancia comercial y destino de la producción:

- Shepody, variedad apta para el procesamiento industrial como papas fritas;
- Desireé, variedad recomendada para consumo en fresco.

El material vegetal inicial fue producido mediante micropropagación convencional en el INIA-CRI Remehue.

- **Medio de cultivo y subcultivos:** se usó el medio de cultivo líquido Murashige Skoog; se realizaron subcultivos cada 20 días.
- **Factores a evaluar:**
 - frecuencia de inmersión: 3, 6 y 12 horas;
 - tiempo de inmersión: 1, 3 y 5 minutos;
 - volumen del medio y número de explantes: 250, 500 y 750 ml, con 6, 9 y 12 explantes/contenedor.
- **Diseño experimental:** completo al azar con arreglo factorial y seis repeticiones. Se evaluó: número de brotes sanos e hiperhidratados y su longitud, brotes por explante y relación peso seco/peso fresco.

2.2 Resultados

Los resultados obtenidos permitieron demostrar que:

- La Inmersión temporal es un sistema adecuado para multiplicar arándano, vid y papa.
- Las plantas de arándano y vid son altamente susceptibles a la multiplicación en medio líquido, por lo cual es muy importante trabajar con frecuencias de inmersión más largas y tiempos de inmersión cortos.
- Las plantas de papa no presentaron susceptibilidad a la multiplicación en medios líquidos por lo que se pueden usar frecuencias más cortas y tiempos más prolongados que en arándano y vid.
- Todos los cultivos y variedades evaluadas presentaron un comportamiento diferencial, por lo que la tecnología debe adaptarse a cada caso.
- La aplicación de CO₂ no modificó sustancialmente el sistema de multiplicación en el SIT.
- Es posible realizar el proceso de tuberización de papa en el SIT, pero se producen tubérculos muy pequeños, por lo que se recomienda realizar un período de engorda en invernadero.
- El proceso de multiplicación en el SIT no indujo cambios en los patrones genéticos, de acuerdo a los partidores de RAPD utilizados en los cultivos y variedades analizadas.
- Las principales ventajas económicas del SIT se presentaron en la reducción de costos de la mano de obra e insumos. Desde el punto de vista técnico, se presentó una excelente tasa de multiplicación en arándano y una escasa pérdida de plantas durante el proceso de aclimatación.

► 3. Desarrollos posteriores

El desarrollo de este proyecto incentivó la presentación de nuevos proyectos por parte de universidades y empresas privadas, así como la aplicación de esta tecnología a nuevos cultivos.

Sobre la base de los auspiciosos resultados obtenidos en el proyecto precursor, las empresas involucradas en la investigación continuaron con la aplicación comercial del SIT en sus laboratorios, obteniendo interesantes resultados (Hortifrut y Sone). Otras empresas como Valdiflora, que no participó formalmente en el proyecto, pero que se involucró en el tema debido a los interesantes resultados obtenidos, implementó laboratorios para aplicar esta herramienta, específicamente en berries y *Lilium*, financiando la investigación requerida con fondos propios y con otros concursables de la Corporación de Fomento de la Producción (CORFO).

Recientemente otra empresa nacional, Altalena Biotechnologies S.A., también decidió incorporar esta herramienta en su gestión productiva, para lo cual cuenta con ayuda financiera a través de un Capital Semilla de CORFO.

A su vez, el INIA continuó con investigaciones asociadas a empresas de otros rubros, como el forestal, orientadas a establecer sistemas eficientes de propagación clonal masiva de plantas de *Eucalyptus* (*E. globulus*, *E. nitens* e híbridos). Así surgió el Proyecto “Desarrollo e implementación del sistema de inmersión temporal (SIT) en biorreactores para la multiplicación clonal de eucaliptos”, ejecutado con financiamiento de Innova Biobío, INIA Quilmapu y Bioforest S.A., cuyo objetivo es aumentar la eficiencia y disminuir los costos de producción de plantas producidas por sistemas tradicionales de micropropagación.

SECCIÓN 3

El valor del proyecto

Los resultados obtenidos en el proyecto precursor permiten validar una herramienta tecnológica efectiva e interesante, principalmente para el sector dedicado a la multiplicación de plantas, ya que la implementación de la técnica Sistema de Inmersión Temporal en Biorreactores permitiría:

- mejorar la eficiencia en la propagación de distintas especies;
- propagar en forma masiva y rápida nuevas variedades o variedades altamente demandadas;
- reducir significativamente los tiempos requeridos para tener disponible comercialmente material vegetal escaso;
- reducir significativamente los costos de producción de plantas en laboratorio, manteniendo la calidad genética y sanitaria.

El desarrollo de este proyecto incentivó la presentación de nuevos proyectos y la aplicación de esta tecnología a otros cultivos. Algunas empresas comenzaron a multiplicar en forma comercial arán-



danos, frambuesa, moras y algunas flores de bulbo como el *Lilium*. Otras comenzaron a realizar las evaluaciones necesarias para aplicar esta metodología a la multiplicación de las dos especies de eucalipto más importantes en el país: *Eucalyptus globulus* y *E. nitens*, así como también de pino. Esto demuestra la adecuada transferencia lograda a través de este proyecto.

Por lo tanto, los resultados del proyecto han impactado en el sector, ya que diversos empresarios del rubro han incorporado esta herramienta en su gestión para aumentar su productividad y competitividad.

El proyecto confirma la factibilidad de la aplicación de la técnica SIT a distintas especies para mejorar la eficiencia de la micropropagación, aunque al mismo tiempo deja claramente establecido que el aumento en la eficiencia y el éxito en la implementación y desarrollo de la técnica exige la formulación de protocolos de propagación para cada especie y variedad que se quiera propagar, lo que requiere tiempo y recursos para definir las variables de producción como composición del medio de cultivo, frecuencia y tiempo de inmersión, volumen, tipo y número de explantes, entre otros.

Por otra parte, mediante los resultados obtenidos se valida plenamente el valor que tiene la captura de tecnologías en otros países y su desarrollo y adaptación a los intereses y condiciones locales y particulares de Chile.

Anexos

Anexo 1. Esquema del sistema de inmersión temporal

Anexo 2. Estructura y costos de producción de arándanos en sistema *in vitro* convencional

Anexo 3. Estructura y costos de producción de frutillas Elite en sistema *in vitro* convencional

Anexo 4. Homologación de estructuras de costos *in vitro* convencional en arándanos y frutillas Elite

Anexo 5. Estructuras de costos *in vitro* SIT en arándanos (adaptado del proyecto precursor)

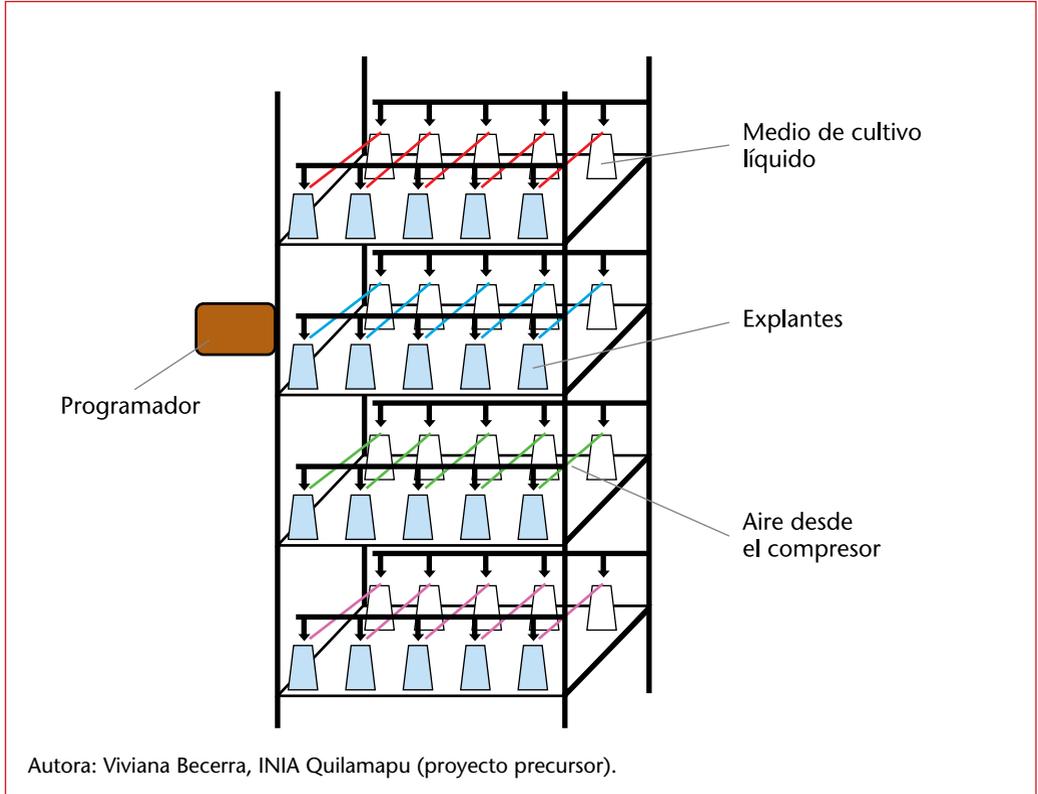
Anexo 6. Costos de producción arándanos mediante sistema SIT (proyecto precursor)

Anexo 7. Costos de implementación del sistema SIT

Anexo 8. Literatura consultada

Anexo 9. Documentación disponible y contactos

ANEXO 1. Esquema del sistema de inmersión temporal



ANEXO 2. Estructura y costos de producción de arándanos en sistema *in vitro* convencional

Ítem	Valor unitario	Unidades	Total	Participación relativa (%)
Personal (HP)			71.000,00	37,81
Jefe	7.000,00	1,00	7.000,00	3,73
Laboratorio	4.000,00	5,00	20.000,00	10,65
Jornales flujo	1.000,00	20,00	20.000,00	10,65
Jornales preparación medios	1.000,00	12,00	12.000,00	6,39
Jornales supervisión	1.000,00	12,00	12.000,00	6,39
Equipos			7.916,00	4,22
Equipos	7.916,00	1,00	7.916,00	4,22
Materiales			2.841,00	1,51
Varios	2.841,00	1,00	2.841,00	1,51
Insumos			13.055,40	6,95
Medio	1.600,00	5,00	8.000,00	4,26
Alcohol	295,00	1,00	295,00	0,16
Cloro	300,00	1,00	300,00	0,16
Jabón	1.610,00	0,10	161,00	0,09
Papel	4,00	8,00	32,00	0,02
Nova	500,00	2,00	1.000,00	0,53
Servilletas	200,00	2,00	400,00	0,21
Papel aluminio	1.500,00	0,20	300,00	0,16
Alusa plast	2.000,00	0,20	400,00	0,21
Bolsas de basura	150,00	2,00	300,00	0,16
Bolsas plásticas	50,00	4,00	200,00	0,11
Bolsas de papel	100,00	4,00	400,00	0,21
Hojas de bisturí	40,00	8,00	320,00	0,17
Cinta adhesiva	700,00	0,30	210,00	0,11
Tips	-	-	-	0,00
Desinfectante	1.174,00	0,10	117,40	0,06
Mascarilla	34,00	2,00	68,00	0,04
Gorro	26,00	2,00	52,00	0,03
Cubre calzado	250,00	2,00	500,00	0,27
Servicios generales			24.020,00	12,79
Varios	20.000,00	1,00	20.000,00	10,65
Mantenimiento	4.020,00	1,00	4.020,00	2,14
Total laboratorio			118.832,40	63,28
Aclimatación			60.000,00	31,95
Aclimatación	25,00	2.400,00	60.000,00	31,95
Administración (5%)			8.941,62	4,76
Administración	1.000,00	8,94	8.941,62	4,76
TOTAL	-	-	187.774,02	100,00

* Meristemas iniciales (MI): 800

** Plantas finales (PF): 2.400

	Unidades/ MI*	Valor \$/MI	Unidades/ PF**	Valor \$/PF	Participación relativa %
	0,06	88,75	0,02	29,58	37,81
	0,0013	8,75	0,0004	2,9167	3,73
	0,0063	25,00	0,0021	8,3333	10,65
	0,0250	25,00	0,0083	8,3333	10,65
	0,0150	15,00	0,0050	5,0000	6,39
	0,0150	15,00	0,0050	5,0000	6,39
	0,00	9,90	0,00	3,30	4,22
	0,0013	9,90	0,0004	3,2983	4,22
	0,00	3,55	0,00	1,18	1,51
	0,0013	3,55	0,0004	1,1838	1,51
	0,05	16,32	0,02	5,44	6,95
	0,0063	10,00	0,0021	3,3333	4,26
	0,0013	0,37	0,0004	0,1229	0,16
	0,0013	0,38	0,0004	0,1250	0,16
	0,0001	0,20	0,0000	0,0671	0,09
	0,0100	0,04	0,0033	0,0133	0,02
	0,0025	1,25	0,0008	0,4167	0,53
	0,0025	0,50	0,0008	0,1667	0,21
	0,0003	0,38	0,0001	0,1250	0,16
	0,0003	0,50	0,0001	0,1667	0,21
	0,0025	0,38	0,0008	0,1250	0,16
	0,0050	0,25	0,0017	0,0833	0,11
	0,0050	0,50	0,0017	0,1667	0,21
	0,0100	0,40	0,0033	0,1333	0,17
	0,0004	0,26	0,0001	0,0875	0,11
	0,0000	-	0,0000	0,0000	0,00
	0,0001	0,15	0,0000	0,0489	0,06
	0,0025	0,09	0,0008	0,0283	0,04
	0,0025	0,07	0,0008	0,0217	0,03
	0,0025	0,63	0,0008	0,2083	0,27
	0,0025	30,0250	0,0008	10,0083	12,79
	0,0013	25,00	0,0004	8,3333	10,65
	0,0013	5,03	0,0004	1,6750	2,14
	0,12	148,54	0,04	49,51	63,28
	3,00	75,00	1,00	25,00	31,95
	3,00	75,00	1,00	25,00	31,95
	0,0112	11,1770	0,0037	3,7257	4,76
	0,0112	11,18	0,0037	3,7257	4,76
	-	234,72	-	78,24	100,00

ANEXO 3. Estructura y costos de producción de frutillas Elite en sistema *in vitro* convencional

Base de cálculo y primera etapa de extracción de meristemos y siembra *in vitro*

Operario	6.000 \$/JH	750 \$/HP
Técnico	16.000 \$/JH	2.000 \$/HP
Jefe técnico	40.000 \$/JH	5.000 \$/HP
Producción anual plantas frutilla	4.900	
Plantel de meristemos	100	
Número de repiques	3	
Medio de cultivo/frasco	10 ml	
Volumen medio de cultivo	1.000 ml	

ÍTEM	Unidad	Unidad/ plantel	\$/unidad	\$/plantel	\$/ meristemo
Labores					
Preparación medio de cultivo	HP	4,00	2.000	8.000	80
Obtención meristemos	HP	12,00	2.000	24.000	240
Mantenimiento cámara crecimiento	HP	10,00	2.000	20.000	200
Subtotal labores	-	26,00	-	52.000	520
Insumos					
Agua destilada	ml	9.000,00	0,19	1.710	17,10
Alusa foil	m	1,50	93,00	140	1,40
Platillo de aluminio	Unidad	1,00	796,00	796	7,96
Cloro	l	0,50	339,00	170	1,70
Puntillas de micropipetas	Unidad	3,00	3,14	9,42	0,09
Macronutrientes					
Nitrato de calcio	gr	1,00	0,02	0,02	0,00
Nitrato de potasio	gr	0,25	0,02	0,01	0,00
Sulfato de magnesio	gr	0,25	0,02	0,01	0,00
Dihidrogenofosfato de potasio	gr	0,25	0,03	0,01	0,00
Micronutrientes					
Ácido etilendiam	mg	37,50	0,03	1,13	0,01
Sulfato de hierro	mg	27,00	0,02	0,54	0,01
Ácido bórico	mg	6,20	0,01	0,06	0,00
Sulfato de manganeso	mg	16,90	0,06	1,01	0,01
Sulfato de zinc	mg	8,60	0,02	0,17	0,00
Yoduro de potasio	mg	0,83	0,28	0,23	0,00
Sodio molibdato	mg	0,25	0,17	0,04	0,00
Sulfato de cobre	mg	0,03	0,08	0,00	0,00
Cloruro de cobalto	mg	0,03	0,42	0,01	0,00
Vitaminas					
Glicina	mg	2,00	0,04	0,08	0,00
Ácido nicotínico	mg	0,50	0,03	0,02	0,00
Piridoxina HCL	mg	0,50	0,71	0,36	0,00
Tiamina HCL	mg	0,10	0,38	0,04	0,00
Mio inositol	mg	100,00	0,19	19,00	0,19

ÍTEM	Unidad	Unidad/ planel	\$/unidad	\$/planel	\$/ meristemo
Hormonas					
Benzylaminopurina	mg	0,00	10,77	0,01	0,00
Ácido giberélico	mg	0,00	17,24	0,00	0,00
Otros insumos					
Glucosa monohidrato	mg	40,00	0,01	0,55	0,01
Agar	mg	7,00	0,10	0,71	0,01
Mio inositol	mg	0,10	0,19	0,02	0,00
Hidróxido de potasio	ml	0,50	0,01	0,01	0,00
Ácido clorhídrico fumante	ml	1,50	3,19	4,79	0,05
Alcohol etílico (95%) 1	ml	500,00	0,98	490,00	4,90
Alcohol etílico (95%) 2	ml	500,00	0,98	490,00	4,90
Cloruro de calcio (45%)	lt	1,00	-	-	0,00
Hojas bisturí	unidad	10,00	59,00	590,00	5,90
Papel estéril	unidad	100,00	-	-	0,00
Algodón hidrofílico	gr	250,00	4,30	1.075,00	10,75
Subtotal insumos				5.498	54,98
Total				57.498,23	574,98

Fuente: Bertolini (2000)

Segunda etapa de primer repique y primera multiplicación

Explantos/plantel	100
Explantos/frascos	5
ml/frasco	100
medio cultivo (ml/frasco)	40
Etapa de crecimiento (meses)	1

ÍTEM	Unidad	Unidad/ plantel	\$/unidad	\$/plantel	\$/ explante	\$/1000 explantos
Labores						
Preparación medio de cultivo	HP	4,00	2.000	8.000	80	80.000,00
Repique	HP	4,00	2.000	8.000	80	80.000,00
Mantenimiento cámara de crecimiento	HP	10,00	2.000	20.000	200	200.000,00
Subtotal labores		18,00		36.000	360	360.000
Insumos						
Puntillas de micropipetas	Unidad	3,00	3,13	9,39	0,09	93,90
Agua destilada	ml	6.000,00	0,19	1.140	11,40	11.400,00
Platillo de aluminio	Unidad	1,00	796,00	796	7,96	7.960,00
Alusa foil	m	1,00	93,00	93	0,93	930,00
Cloro	l	0,50	339,00	170	1,70	1.695,00
Macronutrientes						
Nitrato de calcio	gr	1,00	23,80	23,80	0,24	238,00
Nitrato de potasio	gr	0,25	15,98	4,00	0,04	39,95
Sulfato de magnesio	gr	0,25	17,67	4,42	0,04	44,18
Dihidrogenofosfato de potasio	gr	0,25	27,98	7,00	0,07	69,95
Micronutrientes						
Ácido etilendiam	mg	37,50	0,03	1,13	0,01	11,25
Sulfato de hierro	mg	27,00	0,02	0,59	0,01	5,89
Ácido bórico	mg	6,20	0,01	0,06	0,00	0,62
Sulfato de manganeso	mg	16,90	0,06	1,01	0,01	10,14
Sulfato de zinc	mg	8,60	0,02	0,17	0,00	1,72
Yoduro de potasio	mg	0,83	0,28	0,23	0,00	2,32
Sodio molibdato	mg	0,25	0,17	0,04	0,00	0,43
Sulfato de cobre	mg	0,03	0,08	0,00	0,00	0,02
Cloruro de cobalto	mg	0,03	0,42	0,01	0,00	0,13
Vitaminas						
Glicina	mg	2,00	0,04	0,07	0,00	0,70
Ácido nicotínico	mg	0,50	0,03	0,02	0,00	0,15
Piridoxina HCL	mg	0,50	0,71	0,36	0,00	3,55
Tiamina HCL	mg	0,10	0,38	0,04	0,00	0,38
Mio inositol	mg	100,00	0,19	19,22	0,19	192,20
Hormonas						
Ácido indol butírico	mg	0,00	7,00	0,00	0,00	0,03
Benzylaminopurina	mg	0,00	10,77	0,01	0,00	0,05
Ácido giberélico	mg	0,00	17,24	0,00	0,00	0,02
Otros Insumos						
Glucosa monohidrato	mg	40,00	0,01	0,55	0,01	5,48
Agar	mg	5,80	0,10	0,59	0,01	5,92
Mio inositol	mg	0,10	0,19	0,02	0,00	0,19
Hidróxido de potasio	ml	0,50	0,01	0,01	0,00	0,05
Ácido clorhídrico fumante	ml	1,50	3,19	4,79	0,05	47,85
Alcohol etílico (95%)	ml	1.200,00	0,98	1.176,00	11,76	11.760,00
Algodón hidrofílico	gr	250,00	4,30	1.075,00	10,75	10.750,00
Subtotal insumos				4.527	45	45.270
Total				40.527,01	405,27	405.270,06

Fuente: Bertolini (2000)

Tercera etapa de segundo repique y segunda multiplicación

Brotes/plantel	100
Brotes/frascos	5
ml/frasco	100
Medio cultivo (ml/frasco)	40
Etapa de crecimiento (meses)	1
Brotes/repique	700

ÍTEM	Unidad	Unidad/ plantel	\$/unidad	\$/plantel	\$/ brote	\$/1000 brotes
Labores						
Preparación medio de cultivo	HP	5,00	2.000	10.000	14,29	14.285,71
Repique	HP	16,00	2.000	32.000	45,71	45.714,29
Mantenimiento cámara de crecimiento	HP	22,00	2.000	44.000	62,86	62.857,14
Subtotal labores		43,00		86.000	123	122.857
Insumos						
Puntillas de micropipetas	unidad	6,00	3,13	18,78	0,03	26,83
Agua destilada	ml	10.000,00	0,19	1.900,00	2,71	2.714,29
Platillo de aluminio	unidad	1,00	796,00	796,00	1,14	1.137,14
Alusa foil	mt	6,00	93,00	558,00	0,80	797,14
Cloro	lt	1,00	339,00	339,00	0,48	484,29
Macronutrientes						
Nitrato de calcio	gr	6,00	23,80	142,80	0,20	204,00
Nitrato de potasio	gr	1,50	15,98	23,97	0,03	34,24
Sulfato de magnesio	gr	1,50	17,67	26,51	0,04	37,86
Dihidrogenofosfato de potasio	gr	1,50	27,98	41,97	0,06	59,96
Micronutrientes						
Ácido etilendiam	mg	225,00	0,03	6,75	0,01	9,64
Sulfato de hierro	mg	162,00	0,02	3,53	0,01	5,05
Ácido bórico	mg	37,20	0,01	0,37	0,00	0,53
Sulfato de manganeso	mg	101,40	0,06	6,08	0,01	8,69
Sulfato de zinc	mg	51,60	0,02	1,03	0,00	1,47
Yoduro de potasio	mg	4,98	0,28	1,39	0,00	1,99
Sodio molibdato	mg	1,50	0,17	0,26	0,00	0,36
Sulfato de cobre	mg	0,15	0,08	0,01	0,00	0,02
Cloruro de cobalto	mg	0,15	0,42	0,06	0,00	0,09
Vitaminas						
Glicina	mg	12,00	0,04	0,42	0,00	0,60
Ácido nicotínico	mg	3,00	0,03	0,09	0,00	0,13
Piridoxina HCL	mg	3,00	0,71	2,13	0,00	3,04
Tiamina HCL	mg	0,60	0,38	0,23	0,00	0,33
Mio inositol	mg	600,00	0,19	115,32	0,16	164,74
Hormonas						
Ácido indol butírico	mg	0,00	7,00	0,02	0,00	0,03
Benzylaminopurina	mg	0,00	10,77	0,03	0,00	0,05
Ácido giberélico	mg	0,00	17,24	0,01	0,00	0,01
Otros insumos						
Glucosa monohidrato	mg	240,00	0,01	3,31	0,00	4,73
Agar	mg	34,80	0,10	3,53	0,01	5,05
Mio inositol	mg	0,60	0,19	0,12	0,00	0,16
Hidróxido de potasio	ml	3,00	0,01	0,03	0,00	0,04
Ácido clorhídrico fumante	ml	9,00	3,19	28,71	0,04	41,01
Alcohol etílico (95%)	ml	1.200,00	0,98	1.176,00	1,68	1.680,00
Algodón hidrofílico	gr	250,00	4,30	1.075,00	1,54	1.535,71
Subtotal insumos				6.271	8,96	8.959
Total				92.271,47	131,82	131.816,38

Fuente: Bertolini (2000)

Cuarta etapa de tercer repique y tercera multiplicación

Brotes/plantel	700
Brotes/frascos	5
ml/frasco	100
Medio cultivo (ml/frasco)	40
Etapa de crecimiento (meses)	1
Brotes/repique	4.900

Ítem	Unidad	Unidad/ plantel	\$/unidad	\$/plantel	\$/ brote	\$/1000 brotes
Labores						
Preparación medio de cultivo	HP	40,00	2.000	80.000	16,33	16.326,53
Repique	HP	104,00	2.000	208.000	42,45	42.448,98
Mantención cámara de crecimiento	HP	44,00	2.000	88.000	17,96	17.959,18
Subtotal labores		188,00		376.000	77	76.735
Insumos						
Puntillas de micropipetas	unidad	30,00	3,13	93,90	0,02	19,16
Agua destilada	ml	60.000,00	0,19	11.400,00	2,33	2.326,53
Platillo de aluminio	unidad	10,00	796,00	7.960,00	1,62	1.624,49
Alusa foil	mt	42,00	93,00	3.906,00	0,80	797,14
Cloro	lt	5,00	339,00	1.695,00	0,35	345,92
Macronutrientes						
Nitrato de calcio	gr	40,00	23,80	952,00	0,19	194,29
Nitrato de potasio	gr	10,00	15,98	159,80	0,03	32,61
Sulfato de magnesio	gr	10,00	17,67	176,70	0,04	36,06
Dihidrogenofosfato de potasio	gr	10,00	27,98	279,80	0,06	57,10
Micronutrientes						
Ácido etilendiam	mg	1.500,00	0,03	45,00	0,01	9,18
Sulfato de hierro	mg	1.080,00	0,02	23,54	0,00	4,80
Ácido bórico	mg	248,00	0,01	2,48	0,00	0,51
Sulfato de manganeso	mg	676,00	0,06	40,56	0,01	8,28
Sulfato de zinc	mg	344,00	0,02	6,88	0,00	1,40
Yoduro de potasio	mg	33,20	0,28	9,30	0,00	1,90
Sodio molibdato	mg	10,00	0,17	1,70	0,00	0,35
Sulfato de cobre	mg	1,00	0,08	0,08	0,00	0,02
Cloruro de cobalto	mg	1,00	0,42	0,42	0,00	0,09
Vitaminas						
Glicina	mg	80,00	0,04	2,80	0,00	0,57
Ácido nicotínico	mg	20,00	0,03	0,60	0,00	0,12
Piridoxina HCL	mg	20,00	0,71	14,20	0,00	2,90
Tiamina HCL	mg	4,00	0,38	1,52	0,00	0,31
Mio inositol	mg	4.000,00	0,19	768,80	0,16	156,90
Hormonas						
Ácido indol butírico	mg	0,00	7,00	0,02	0,00	0,00
Benzylaminopurina	mg	0,00	10,77	0,03	0,00	0,01
Ácido giberélico	mg	0,00	17,24	0,01	0,00	0,00
Otros Insumos						
Glucosa monohidrato	mg	1.600,00	0,01	22,08	0,00	4,51
Agar	mg	188,00	0,10	19,08	0,00	3,89
Mio inositol	mg	4,00	0,19	0,77	0,00	0,16
Hidróxido de potasio	ml	20,00	0,01	0,20	0,00	0,04
Ácido clorhídrico fumante	ml	60,00	3,19	191,40	0,04	39,06
Carbón activo	gr	20,00	-	-	-	-
Papel estéril	unidad	700,00	-	-	-	-
Hojas bisturí	unidad	140,00	59,00	8.260,00	1,69	1.685,71
Alcohol etílico (95%)	ml	2.000,00	0,98	1.960,00	0,40	400,00
Algodón hidrofílico	gr	1.000,00	4,30	4.300,00	0,88	877,55
Subtotal insumos				42.295	8,63	8.632
Total				418.294,67	85,37	85.366,26

Fuente: Bertolini (2000)

Quinta etapa de aclimatación post *in vitro*

Ítem	Unidad	Unidad/ planta	\$/ unidad	\$ totales	\$/ planta	\$/1000 plantas	\$/4900 plantas
Labores							
Mantenimiento y manejo general	JH	0,01	6.000,0	212.019,23	43,27	43.269,23	212.019,23
Subtotal labores					43,27	43.269,23	212.019,23
Insumos							
Preparación mezcla desinfectada							
Arena	m ³	0,00	6.750,0	874,01	0,18	178,37	874,01
Tierra de hoja	m ³	0,00	7.628,00	987,69	0,20	201,57	987,69
Perlita	m ³	0,00	25.036,00	3.241,72	0,66	661,58	3.241,72
Turba	m ³	0,00	80.000,00	10.358,60	2,11	2.114,00	10.358,60
Bromuro de metilo	gr	0,02	2,76	324,02	0,07	66,13	324,02
Manga polietileno	m	0,00	1.300,00	1.122,18	0,23	229,02	1.122,18
Traspalnte de plántulas a contenedores							
Contenedor transparente	Unidad	0,03	800,00	98.000,00	20,00	20.000,00	98.000,00
Transplante de plántulas a seedlings							
Speedling	Unidad	0,01	1.100,00	51.824,85	10,58	10.576,50	51.824,85
Manejo							
Captán	gr	0,01	4,40	107,80	0,02	22,00	107,80
Benlate	gr	0,00	8,50	104,13	0,02	21,25	104,13
Systhane	cc	0,00	65,70	32,19	0,01	6,57	32,19
Salut	cc	0,00	9,98	56,24	0,01	11,48	56,24
Magister	cc	0,00	24,10	82,66	0,02	16,87	82,66
Subtotal insumos				167.116	34	34.105	167.116
Total aclimatación					77,37	77.374,56	379.135,32

Fuente: Bertolini (2000)

Resumen de estructura de frutillas *in vitro* convencional

Ítem	Valor unitario	Unidades	Total	Participación relativa (%)	Unidades/MI*	Valor \$/MI*	Unidades/PF**	Valor \$/PF**	Participación relativa (%)
Personal (HP)	-	275,00	550.000,00	53,03	2,75	5.500,00	0,06	112,24	53,03
Jefe	-	-	-	0,00	-	-	-	-	0,00
Laboratorio	-	-	-	0,00	-	-	-	-	0,00
Jornales flujo	2.000,00	136,00	272.000,00	26,23	1,36	2.720,00	0,03	55,51	26,23
Obtención de meristemos	2.000,00	12,00	24.000,00	2,31	0,12	240,00	0,0024	4,8980	2,31
Repique	2.000,00	124,00	248.000,00	23,91	1,24	2.480,00	0,0253	50,6122	23,91
Jornales preparación medios	2.000,00	53,00	106.000,00	10,22	0,53	1.060,00	0,01	21,63	10,22
Preparación medio cultivo	2.000,00	53,00	106.000,00	10,22	0,53	1.060,00	0,0108	21,6327	10,22
Jornales supervisión	2.000,00	86,00	172.000,00	16,58	0,86	1.720,00	0,02	35,10	16,58
Mantención cámara de crecimiento	2.000,00	86,00	172.000,00	16,58	0,86	1.720,00	0,0176	35,1020	16,58
Equipos	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Materiales	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Insumos	-	-	58.591,37	5,65	0,00	585,91	0,00	11,96	5,65
Servicios generales (varios, mantención)	-	-	-	0,00	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,00
Total laboratorio	-	-	608.591,37	58,68	2,75	6.085,91	0,06	124,20	58,68
Acimatación	-	-	379.135,32	36,56	-	3.791,35	-	77,37	36,56
Administración (5%)	2.000,00	24,69	49.386,33	4,76	0,2469	493,8633	0,0050	10,0788	4,76
TOTAL	-	-	1.037.113,03	100,00	-	10.371,13	-	211,66	100,00

* Meristemos iniciales (MI): 100

** Plantas finales (PF): 4.900

ANEXO 4. Homologación de estructuras de costos *in vitro* convencional en arándanos y frutillas Elite

Base de cálculo en ambas especies y estructura homologada para arándanos

Sueldo mensual bruto laboratorista <i>in vitro</i>	320.000
Horas profesionales/mes	160
Costo \$/HP	2.000
Meristemas iniciales	100
Plantas finales	4.900

Ítem	Valor unitario	Unidades	Total	Participación relativa (%)	Unidades/MI*	Valor \$/MI*	Unidades/PF**	Valor \$/PF**	Participación relativa (%)
Personal (HP)	-	-	206.666,67	48,62	0,96	2.066,67	0,02	42,18	48,62
Jefe	7.000,00	1,00	7.000,00	1,65	0,0100	70,00	0,0002	1,4286	1,65
Laboratorio	4.000,00	5,00	20.000,00	4,70	0,0500	200,00	0,0010	4,0816	4,70
Jornales flujo	2.000,00	40,83	81.666,67	19,21	0,4083	816,67	0,0083	16,6667	19,21
Jornales preparación medios	2.000,00	24,50	49.000,00	11,53	0,2450	490,00	0,0050	10,0000	11,53
Jornales supervisión	2.000,00	24,50	49.000,00	11,53	0,2450	490,00	0,0050	10,0000	11,53
Equipos	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Materiales	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Insumos	-	-	26.654,78	6,27	0,90	266,55	0,02	5,44	6,27
Medio	1.600,00	10,21	16.333,33	3,84	0,1021	163,33	0,0021	3,3333	3,84
Alcohol	295,00	2,04	602,29	0,14	0,0204	6,02	0,0004	0,1229	0,14
Cloro	300,00	2,04	612,50	0,14	0,0204	6,13	0,0004	0,1250	0,14
Jabón	1.610,00	0,20	328,71	0,08	0,0020	3,29	0,0000	0,0671	0,08
Papel	4,00	16,33	65,33	0,02	0,1633	0,65	0,0033	0,0133	0,02
Nova	500,00	4,08	2.041,67	0,48	0,0408	20,42	0,0008	0,4167	0,48
Servilletas	200,00	4,08	816,67	0,19	0,0408	8,17	0,0008	0,1667	0,19
Papel aluminio	1.500,00	0,41	612,50	0,14	0,0041	6,13	0,0001	0,1250	0,14
Alusa plast	2.000,00	0,41	816,67	0,19	0,0041	8,17	0,0001	0,1667	0,19
Bolsas de basura	150,00	4,08	612,50	0,14	0,0408	6,13	0,0008	0,1250	0,14
Bolsas plásticas	50,00	8,17	408,33	0,10	0,0817	4,08	0,0017	0,0833	0,10
Bolsas de papel	100,00	8,17	816,67	0,19	0,0817	8,17	0,0017	0,1667	0,19
Hojas de bisturí	40,00	16,33	653,33	0,15	0,1633	6,53	0,0033	0,1333	0,15
Cinta adhesiva	700,00	0,61	428,75	0,10	0,0061	4,29	0,0001	0,0875	0,10
Tips	-	-	-	0,00	0,0000	-	-	0,0000	0,00
Desinfectante	1.174,00	0,20	239,69	0,06	0,0020	2,40	0,0000	0,0489	0,06
Mascarilla	34,00	4,08	138,83	0,03	0,0408	1,39	0,0008	0,0283	0,03
Gorro	26,00	4,08	106,17	0,02	0,0408	1,06	0,0008	0,0217	0,02
Cubre calzado	250,00	4,08	1.020,83	0,24	0,0408	10,21	0,0008	0,2083	0,24
Servicios generales	-	-	49.040,83	11,54	0,0408	490,4083	0,0008	10,0083	11,54
Varios	20.000,00	2,04	40.833,33	9,61	0,0204	408,33	0,0004	8,3333	9,61
Mantenión	4.020,00	2,04	8.207,50	1,93	0,0204	82,08	0,0004	1,6750	1,93
Total laboratorio	-	-	282.362,28	66,42	1,90	2.823,62	0,04	57,62	66,42
Aclimatación	25,00	4.900,00	122.500,00	28,82	49,00	1.225,00	1,00	25,00	28,82
Administración (5%)	1.000,00	20,24	20.243,11	4,76	0,2024	202,4311	0,0041	4,1312	4,76
TOTAL	-	-	425.105,39	100,00	-	4.251,05	-	86,76	100,00

* MI: meristemas iniciales ** PF: plantas finales

Estructura homologada para frutillas Elite

Ítem	Valor unitario	Unidades	TOTAL	Participación relativa (%)	Unidades/MI*	Valor \$/MI*	Unidades/PF**	Valor \$/PF**	Participación relativa (%)
Personal (HP)	-	281,00	577.000,00	51,66	2,81	5.770,00	0,06	117,76	51,66
Jefe	7.000,00	1,00	7.000,00	0,63	0,01	70,00	0,0002	1,4286	0,63
Laboratorio	4.000,00	5,00	20.000,00	1,79	0,05	200,00	0,0010	4,0816	1,79
Jornales flujo	2.000,00	136,00	272.000,00	24,35	1,36	2.720,00	0,03	55,51	24,35
Obtención de meristemas	2.000,00	12,00	24.000,00	2,15	0,12	240,00	0,0024	4,8980	2,15
Repique	2.000,00	124,00	248.000,00	22,20	1,24	2.480,00	0,0253	50,6122	22,20
Jornales preparación medios	2.000,00	53,00	106.000,00	9,49	0,53	1.060,00	0,01	21,63	9,49
Preparación medio de cultivo	2.000,00	53,00	106.000,00	9,49	0,53	1.060,00	0,0108	21,6327	9,49
Jornales Supervisión	2.000,00	86,00	172.000,00	15,40	0,86	1.720,00	0,02	35,10	15,40
Mantenión cámara de crecimiento	2.000,00	86,00	172.000,00	15,40	0,86	1.720,00	0,0176	35,1020	15,40
Equipos	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Materiales	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Insumos	-	-	58.591,37	5,25	0,00	585,91	0,00	11,96	5,25
Servicios generales	-	-	49.040,83	4,39	0,0408	490,4083	0,0008	10,0083	4,39
Varios	20.000,00	2,04	40.833,33	3,66	0,02	408,33	0,0004	8,3333	3,66
Mantenión	4.020,00	2,04	8.207,50	0,73	0,02	82,08	0,0004	1,6750	0,73
Total laboratorio	-	-	684.632,21	61,29	2,85	6.846,32	0,06	139,72	61,29
Aclimatación	-	-	379.135,32	33,94	-	3.791,35	-	77,37	33,94
Administración (5%)	2.000,00	26,59	53.188,38	4,76	0,2659	531,8838	0,0054	10,8548	4,76
TOTAL	-	-	1.116.955,90	100,00	--	11.169,56	-	227,95	100,00

* Meristemas iniciales (MI): 100

** Plantas finales (PF): 4.900

Estructura homologada para arándanos

Ítem	Valor unitario	Unidades	TOTAL	Participación relativa (%)	Unidades/MI*	Valor \$/MI*	Unidades/PF**	Valor \$/PF**	Participación relativa (%)
Personal (HP)	-	-	206.666,67	48,62	0,96	2.066,67	0,02	42,18	48,62
Jefe	7.000,00	1,00	7.000,00	1,65	0,0100	70,00	0,0002	1,4286	1,65
Laboratorio	4.000,00	5,00	20.000,00	4,70	0,0500	200,00	0,0010	4,0816	4,70
Jornales flujo	2.000,00	40,83	81.666,67	19,21	0,4083	816,67	0,0083	16,6667	19,21
Jornales preparación medios	2.000,00	24,50	49.000,00	11,53	0,2450	490,00	0,0050	10,0000	11,53
Jornales supervisión	2.000,00	24,50	49.000,00	11,53	0,2450	490,00	0,0050	10,0000	11,53
Equipos	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Materiales	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Insumos	-	-	26.654,78	6,27	0,90	266,55	0,02	5,44	6,27
Servicios generales	-	-	49.040,83	11,54	0,0408	490,4083	0,0008	10,0083	11,54
Varios	20.000,00	2,04	40.833,33	9,61	0,0204	408,33	0,0004	8,3333	9,61
Mantenimiento	4.020,00	2,04	8.207,50	1,93	0,0204	82,08	0,0004	1,6750	1,93
Total laboratorio			282.362,28	66,42	1,90	2.823,62	0,04	57,62	66,42
Aclimatación	25,00	4.900,00	122.500,00	28,82	49,00	1.225,00	1,00	25,00	28,82
Administración (5%)	1.000,00	20,24	20.243,11	4,76	0,2024	202,4311	0,0041	4,1312	4,76
TOTAL	-	-	425.105,39	100,00	-	4.251,05	-	86,76	100,00

* Meristemos iniciales (MI): 100

** Plantas finales (PF): 4.900

Período: 19 semanas

ANEXO 5. Estructuras de costos *in vitro* SIT en arándanos (adaptado del proyecto precursor)

Ítem	Valor unitario	Unidades	Total	Participación relativa (%)	Unidades/MI*	Valor \$/MI*	Unidades/PF**	Valor \$/PF**	Participación relativa (%)
Personal (HIP)	-	-	100.500,00	34,65	0,43	1.005,00	0,01	20,51	34,65
Jefe	7.000,00	1,00	7.000,00	2,41	0,0100	70	0,0002	1.4286	2,41
Laboratorio	4.000,00	5,00	20.000,00	6,89	0,0500	200,00	0,0010	4.0816	6,89
Jornales flujo	2.000,00	19,60	39.200,00	13,51	0,1960	392,00	0,0040	8.0000	13,51
Jornales preparación medios	2.000,00	9,80	19.600,00	6,76	0,0980	196,00	0,0020	4.0000	6,76
Jornales supervisión	2.000,00	7,35	14.700,00	5,07	0,0735	147,00	0,0015	3.0000	5,07
Equipos	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Materiales	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Insumos	-	-	23.832,87	8,22	0,59	238,33	0,01	4,86	8,22
Servicios generales	-	-	29.424,50	10,14	0,0245	294,2450	0,0005	6.0050	10,14
Varios	20.000,00	1,23	24.500,00	8,45	0,0123	245,00	0,0003	5.0000	8,45
Mantenimiento	4.020,00	1,23	4.924,50	1,70	0,0123	49,25	0,0003	1.0050	1,70
Total laboratorio	-	-	153.757,37	53,01	1,04	1.537,57	0,02	31,38	53,01
Aclimatación	25,00	4.900,00	122.500,00	42,23	49,00	1.225,00	1,00	25,00	42,23
Administración (5%)	1.000,00	13,81	13.812,87	4,76	0,1381	138,1287	0,0028	2,8190	4,76
TOTAL	-	-	290.070,23	100,00	-	2.900,70	-	59,20	100,00

* Meristemos iniciales (MI): 100

** Plantas finales (PF): 4.900

ANEXO 6. Costos de producción arándanos mediante sistema SIT (proyecto precursor)

Ítem	Valor unitario	Cantidad	Total
Personal	-	-	53.000,00
Jefe	7.000,0	1,0	7.000,0
Laboratorio	4.000,0	4,0	16.000,0
Jornales flujo	1.000,0	16,0	16.000,0
Jornales preparación medios	1.000,0	8,0	8.000,0
Jornales supervisión	1.000,0	6,0	6.000,0
Inversiones mayores	-	-	21.071,1
Equipos	7.916,0	1,0	7.916,0
Accesorios neumáticos	9.247,8	1,0	9.247,8
Accesorios eléctricos	3.907,3	1,0	3.907,3
Inversiones menores	11.010,0	1,0	11.010,0
Insumos	-	-	77.255,4
Medio	1.400,0	9,0	12.600,0
Alcohol	295,0	1,0	295,0
Cloro	300,0	1,0	300,0
Jabón	1.610,0	0,1	161,0
Papel	4,0	8,0	32,0
Toalla papel	500,0	2,0	1.000,0
Servilletas	200,0	2,0	400,0
Papel aluminio	1.500,0	0,2	300,0
Alusa plast	-	0,2	-
Bolsas de basura	150,0	2,0	300,0
Bolsas plásticas	50,0	4,0	200,0
Bolsas de papel	100,0	4,0	400,0
Hojas de bisturí	40,0	8,0	320,0
Cinta adhesiva	700,0	0,3	210,0
Tips	-	-	-
Desinfectante	1.174,0	0,1	117,4
Mascarilla	34,0	2,0	68,0
Gorro	26,0	2,0	52,0
Cubre calzado	250,0	2,0	500,0
Aclimatación	15,0	4.000,0	60.000,0
Servicios generales	-	-	34.020,0
Varios	30.000,0	1,0	30.000,0
Mantenición	4.020,0	1,0	4.020,0
Administración	10%	-	9.817,8
Total laboratorio	-	-	206.174,4

ANEXO 7. Costos de implementación del sistema SIT*

Ítem	Inversión original (importados)			Inversión (materiales nacionales)		
	Cantidad	Valor unitario	Total	Cantidad	Valor unitario	Total
Compresor 1,5 HP	1	129.000	129.000	1	129.000	129.000
Válvulas MAC	4	32.175	128.700	2	45.608	91.216
Equipo fluorescente c/ tubos	20	2.700	54.000	20	2.700	54.000
Reloj horario	1	19.800	19.800	1	19.800	19.800
Contactores	2	21.000	42.000	2	21.000	42.000
Programadores	1	260.000	260.000	1	75.471	75.471
Tubos 10 -1,5 (mm)	20	2.312	46.240	20	2.312	46.240
Tubos 8 -1,5 (mm)	4	770	3.080	4	770	3.080
Filtro aire	1	327.600	327.600	1	43.800	43.800
Cable (m)	30	70	2.100	30	70	2.100
Botellas	40	14.310	572.400	40	14.310	572.400
Tapones	40	14.488	579.520	40	14.488	579.520
Derivaciones 10	15	3.887	58.305	15	2.487	37.305
Derivaciones 10-8	40	2.782	111.280	40	3.503	140.120
Unión codo 10	6	2.561	15.366	6	3.000	18.000
Válvula flujo	2	7.508	15.016	2	7.477	14.954
Racor HI 10	2	1.476	2.952	2	2.207	4.414
Racor HE 10	5	2.451	12.255	5	1.331	6.655
Válvula compuerta	1	7.508	7.508	1	6.500	6.500
Tapón GS 10	10	774	7.740	10	701	7.010
Tapón GS 8	30	750	22.500	30	700	21.000
Correas plásticas	100	15	1.500	100	15	1.500
Materiales menores	1	20.000	20.000	1	20.000	20.000
Mangueras silicona	15	2.321	34.815	15	2.321	34.815
Subtotal	-	-	2.473.677	-	-	1.970.900
Internación y transporte	1	825.500	825.500	-	-	-
Montaje y puesta en marcha	1	7.637.409	7.637.409	-	-	-
Total	-	-	10.936.582	-	-	1.970.906

Notas:

- Extraído del proyecto precursor.
- Basado en el diseño de un módulo de sistema de inmersión temporal con 20 unidades equivalentes a 40 frascos.
- Se valoró cada una de las unidades que se requiere para su implementación. Se consideró la situación al inicio del proyecto precursor, donde se importó parte importante de los materiales y equipos y la situación posterior, es decir utilizando materiales nacionales.
- En la situación inicial del proyecto se valoró el transporte, la internación, el diseño y montaje del sistema (no se consideró el costo de los estantes necesarios).



ANEXO 8. Literatura consultada

- Ackermann, D.; Bruschi, A.; Sonntag, K. & Sellner, M.** 2003. Using the temporary immersion technique for *in vitro* culturing of renewable resources plants. Pp. 46-49 In: Agricultural techniques and technologies on the light agenda.
- Aitken-Christie, J.; Kosai, T.; Takayama, Y.S.** 1995. Automation in plant tissue culture general introduction and overview. Pp. 1-18. In: J. Aitken-Christie; T. Kosai, M.A.L. Smith (eds). Automation and environmental control in plant tissue culture. Kluwer. Academic Publishers Dordrecht. The Netherlands.
- Akita, M. & Takayama, S.** 1994. Simulation of potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization by semi-continuous liquid medium surface level control. Plant Cell Reports, 13: 184-187.
- Alvard, D.; Cote, F. & Teisson, C.** 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 39:253-258.
- Avaranopoulos, F.A.** 2003. Molecular identification of micropropagated plants. Acta Horticulturae, 616: 25-47.
- Beckman, P.** 1995. *Zantedeschia*. In: Report of the Herbaceous Ornamental Crop Germplasm Committee. [En línea] <http://www.ars-grin.gov/npgs/cgc_reports/herbscgc1995.htm> [Consulta: junio, 2009].
- Bertolini, V.** 2000. Producción de plantas "Elite" de frutilla para viveristas: Estudio y Evaluación Económica. Memoria de Título, Universidad de Chile.
- Carrillo, C.** 2001. Planting date, storage and gibberellic acid affect dormancy of *Zantedeschia* hybrids. Master of Applied Science Thesis. Massey University, NZ. 94 p.
- Chu, I.** 1995. Economic analysis of automated micropropagation. Pp. 19-27. In: J. Aitken-Christie; T. Kosai, M.A.L. Smith (eds). Automation and environmental control in plant tissue culture. Kluwer. Academic Publishers Dordrecht. The Netherlands.
- Damiano, C.; Gentile, A.; La Starza, S.R.; Frattarelli, A. & Monticelli, S.** 2003. Automation in micropropagation through temporary immersion techniques. Acta Horticulturae, 616:359-364.
- Daquinta, M.; Barrera, L.; Lezcano, Y.; Mosqueda, O.; Escalona, M. y Borroto, C.G.** 1999. Efecto de la oscuridad en la multiplicación *in vitro* de banano FHIA-18 en los sistemas de inmersión temporal. Libro de Reportes Cortos. V Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal. Pp. 185-187.
- Daughtrey, M. & Chase, A.R.** 1992. Ball Field Guide to Diseases of Greenhouse Ornamentals. Ball Publishing, Illinois. 218 p.
- Escalona, M.; Lorenzo, J.C.; González, B.; Daquinta, M.; González, J.L.; Desjardins, Y. y Borroto, C.G.** 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L.Merr) micropropagation in temporary immersion systems. Plant Cell Rep., 18 (9): 743-7438.
- Funnell, K.A.** 1993. *Zantedeschia*. Pp. 683-704. In: The physiology of flower bulbs. A comprehensive treatise on the physiology and utilization of ornamental flowering bulbous and tuberous plants. A. de Hertogh and M. le Nard (Ed.) Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- George, E.F.** 1993. Plant tissue culture techniques. Pp.:3-36. In: Plant propagation by tissue culture v.1: The Technology. E.F. George (ed.). Exegetics Ltd., Edington.
- Hadrys, H.; Balick, M.; Schierwater, B.** 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular biology. Molecular Ecology, 1:55-63.
- Halligan, E.A.; Brooking, I.R.; Funnell, K.A.** 1995. Developmental changes in *Zantedeschia* tubers associated with tuber maturation. HortResearch Internal Rpt N° 98/49, Palmerston North, N.Z., 16 p.
- Jiménez, E.; Pérez, J.; de Fera, R.; Barbón, R.; Capote, A.; Chávez, M.; Quiala, E. & Pérez, J.,** 1999. Improved production of potato microtubers using a temporary immersion system. Plant cell, Tissue and Organ Culture, 59:19-23.
- Kitto, S.** 1997. Commercial micropropagation. HortScience, 32: 1012-1014
- Kuehny, J.S.; Holcomb, G.E.; Chang, W.; Branch, P.C.** 1998. Chemical treatments to control *Erwinia* soft rot of *Calla* rhizomes. HortTechnology, 8(3):353-356.
- Letty, C.** 1973. The genus *Zantedeschia*. Bothalia, 11(1&2):5-26.
- Lorenzo, J.C.; González, B.; Escalona, M.; Teisson, C.; Espinosa, P. & Borroto, C.,** 1998. Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion system. Plant cell, Tissue and Organ culture, 54:197-200.

- Lloyd, G. & McCown, B.** 1980 Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society, 30:421-427.
- Miranda, V.** 2003. El renacer de las calas. Desde el Jardín Profesional, 2(5):19-23.
- Nybohm, H.** 2001. DNA markers for different aspects of plant breeding research and its applications. Acta Horticulturae, 560:63-67.
- Palombi, M.A.; Monticelli, S.; Festa, S. & Damiano, C.** 2003. *In vitro* regeneration affects the genetic stability of strawberry plants. Acta Horticulturae, 616: 459-462.
- Pham, K.; Langeveld, S.A.; Lemmers, M.E.C. & Derks, A.F.L.M.** 1999. Detection and identification of potyviruses in *Zantedeschia*. Acta Horticulturae, 568:143-148.
- Pierik, R.L.M.** 1988. Handicaps for large scale commercial application of micropropagation. Acta Horticulturae, 230:63-71.
- Pizano, M.** 1999. *Zantedeschia*. Ediciones HortiTecnia. SantaFé de Bogotá, Colombia.54p.
- Smith, M.A.L. & Spoomer, L.S.** 1995. Vessels, gels, liquid media and support systems. In: J. Aitken-Christie; T. Kosai, M.A.L. Smith (eds). Automation and environmental control in plant tissue culture. Kluwer. Academic Publishers Dordrecht. The Netherlands.
- Snijder, R. & van Tuyl, J.** 2002. Evaluation of tests to determine resistance of *Zantedeschia* spp. (Araceae) to soft rot caused by *Erwinia carotovora carotovora*. European Journal of Plant Pathology, 108:565-571.
- Snijder, R.** 2004. Genetics of *Erwinia* resistance in *Zantedeschia*: impact of plastome-genome incompatibility. Theoretical and Applied Genetics (s/d).
- Wright, P.J., Burge, G.K. & Triggs, C.M.,** 2002. Effects of cessation of irrigation and time of lifting of tubers on bacterial soft rot of calla (*Zantedeschia* spp.) tubers. HortTechnology, 9(1):56-59.
- Ziv, M. & Ariel, T.** 1994. Vitrification in relation to stomatal deformation and malfunction in carnation leaves *in vitro*. Pp.143-154. In: P.J. Lumsden.; J.R. Nicholas, W.J. Davies (eds.). Physiology, growth and development of plant in culture. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. The Netherlands.
- Ziv, M.** 1995. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. Acta Horticulturae, 393:25-38.

Además se utilizó la información obtenida en las entrevistas realizadas a las siguientes personas:

- Marcela Zúñiga, ingeniera agrónoma, directora ejecutiva Viveros Sunnyridge Ltda., Melipilla, Región Metropolitana. Correo electrónico: marcela.zuniga@sunnyridge.cl.
- Oscar Mario Paredes, ingeniero agrónomo, investigador de INIA - Quilamapu, Chillán, Región del Biobío. Correo electrónico: mparedes@inia.cl.
- Ximena Henzi, gerenta general Valdiflora, Valdivia, Región de Los Ríos. Correo electrónico: secretaria@valdiflora.cl.
- Sandra Ascencio, Valdiflora, Valdivia, Región de Los Ríos. Correo electrónico: sascencio@valdiflora.cl.
- Viviana Becerra, ingeniera agrónoma, M.Sc., investigadora genética de INIA - Quilamapu, Chillán, Región del Biobío.

ANEXO 9. Documentación disponible y contactos

La publicación *Resultados y Lecciones en Sistema de Inmersión Temporal en Especies Anuales, Frutales y Vides* se encuentra disponible a texto completo en el sitio de FIA en Internet (www.fia.gov.cl), en la sección Banco de Negocios FIA.

El Banco de Negocios FIA se implementó durante el año 2008 y su objetivo es transferir un conjunto de opciones de proyectos y negocios factibles desde el punto de vista de su rentabilidad económica y viabilidad técnica, incluyendo además, información de los ámbitos de mercado, gestión y comercialización.

También incorpora el análisis de los resultados de iniciativas y proyectos con bajo potencial de aplicación inmediata por otros usuarios, aunque con resultados valiosos y orientadores, donde se consignan las oportunidades y las limitantes que quedan por superar en las opciones analizadas.

Este servicio técnico comercial es una instancia pionera en Chile, que se inserta en el trabajo que realiza la Fundación y está orientado a difundir y explotar los resultados valorizados de los proyectos que ha cofinanciado.

Para ingresar directamente a las publicaciones, siga los pasos que se detallan a continuación:

1º: entrar a <http://aplicaciones.fia.cl/valorizacion/home.aspx>

2º: en el menú (izquierda) seleccionar “Planes de negocio y modelos aprendidos-Documentos”

3º: seleccionar “Ver Todo”

4º: seleccionar “Ver Ficha”

5º y último: seleccionar “Documentos Asociados”. Aquí se encuentran los libros y fichas correspondientes a cada plan de negocio o modelo aprendido.

En esta misma sección existe el campo “Precusores”, que ofrece vínculos hacia los proyectos precursores que dieron origen a los documentos y que se encuentran en la base de datos de iniciativas apoyadas por FIA. Desde esta base de datos se accede a la ficha resumen de cada proyecto precursor, que contiene información adicional sobre éstos, y a los contactos de los ejecutores y profesionales participantes. Adicionalmente, esta ficha contiene un vínculo al SIG (Sistema de Información Geográfica) de FIA, para identificar con precisión la ubicación del proyecto en particular.

Toda esta documentación puede consultarse también en los Servicios de Información para la Innovación de FIA, ubicados en:

Centro de Documentación en Santiago

Loreley 1582, La Reina, Santiago. Fono (2) 431 30 96

Centro de Documentación en Talca

6 norte 770, Talca. Fono-fax (71) 218 408

Centro de Documentación en Temuco

Bilbao 931, Temuco. Fono-fax (45) 743 348