

### Propagación *in vitro* del cultivar de plátano burro 'INIVITPB-2012' en Sistema de Inmersión Temporal

*In vitro* propagation of the banana cultivar 'INIVITPB-2012' in Temporary Immersion System

Milagros Basail Pérez <sup>\*1</sup>, Víctor Medero Vega<sup>1</sup>, Ayme Rayas Cabrera<sup>1</sup>, Arletys Santos Pino<sup>1</sup>, Sadi Trujillo Machado<sup>1</sup>, Yoel Beovides García<sup>1</sup>

<sup>1</sup> [Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales \(INIVIT\)](#) / Santo Domingo, Villa Clara / Cuba;

\*Correspondencia. [sit.biotec@inivit.cu](mailto:sit.biotec@inivit.cu).



---

### RESUMEN

El Sistema de Inmersión Temporal (SIT) se ha empleado para la multiplicación *in vitro* de diferentes cultivos que permitan obtener elevados coeficientes de multiplicación. El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar las condiciones de cultivo en el cultivar a propagar que permitan incrementar el coeficiente de multiplicación. Se seleccionó el cultivar de plátano burro 'INIVITPB-2012', de alto potencial de rendimiento, procedente del Banco de Germoplasma del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales, (INIVIT). Se llevaron a cabo experimentos independientes y consecutivos donde se determinó el efecto del tiempo de inmersión, la frecuencia de inmersión y el volumen de medio de cultivo que posibilitará un incremento en el número de explantes a obtener. Como resultado se pudo determinar que con un tiempo de inmersión de diez minutos, frecuencia de inmersión cada 3 horas y 30 ml de medio de cultivo por explante a los 18 días de cultivo se obtuvieron los mejores resultados en las variables evaluadas.

**Palabras clave:** coeficiente de multiplicación; cultivar; frecuencia de inmersión; volumen de medio de cultivo.

---

### ABSTRACT

Temporary immersion systems (SIT) have been used for the *in vitro* multiplication of different cultivars, allowing high multiplication coefficients to be obtained. The present work was carried out with the objective of determining the cultivation conditions in the cultivar to be propagated that allow for the increase of the multiplication coefficient. With high yield potential, the donkey banana cultivar 'INIVITPB-2012' was selected from the Germplasm Bank of the Tropical Viands Research Institute (INIVIT). Independent and consecutive experiments were carried out where the effect of immersion time, immersion frequency, and the volume of culture medium that would enable an increase in the number of explants to be obtained were determined. As a result, it was determined that with an immersion time of ten minutes, immersion frequency every 3 hours, and 30 ml of culture medium per explant after 18 days of culture, the best results were obtained in the variables evaluated.

**Keywords:** multiplication coefficient; cultivar; frequency the inmersión; volume of culture medium

---

### INTRODUCCIÓN

El plátano (*Musa* spp.) es una fuente importante de alimentos para gran parte de la población mundial, localizada principalmente en países tropicales. La producción anual de plátano fue de 141,02 MMt<sup>1</sup>.

Dentro de las técnicas de cultivo de tejidos, la micropropagación es una alternativa desarrollada para la producción a gran escala de plantas, que ha sido utilizada con éxito desde los años 60 del siglo pasado. La principal ventaja de esta técnica estriba en la multiplicación rápida del material clonal libre de enfermedades, fisiológicamente uniforme y con un desarrollo normal. Estas características han servido para introducir rápidamente en el mercado nuevas variedades de plantas obtenidas mediante la selección, mutación, programas de mejora y manipulación genética<sup>2</sup>. En general la micropropagación de plantas presenta algunas desventajas como son: bajos coeficientes de multiplicación, alto costo por mano de obra y la escasa posibilidad de automatización que brinda el proceso<sup>3</sup>.

En los últimos tiempos se han desarrollado investigaciones sobre la automatización en la propagación de plantas, que incluyen el diseño de nuevos sistemas para la micropropagación, ya que reducen el costo por explantes debido a la no utilización del agar agar ya que 1.0 gramo cuesta en el mercado internacional 0.095 centavos Euros, permiten una mayor optimización biológica por los altos coeficientes de multiplicación que se obtienen y un mejor comportamiento de las vitro plantas *ex vitro* por mayor metabolismo autotrófico durante la fase *in vitro*<sup>4,5,6</sup>.

Los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT) además de solucionar las dificultades de los cultivos en medios líquidos estáticos, abren la posibilidad de semiautomatizar algunas etapas del cultivo *in vitro*<sup>7</sup>, permiten mayor facilidad de escalado y aumentan la eficiencia biológica y productiva del material propagado<sup>8,9,10,11,12</sup>. Al mismo tiempo la morfología y el comportamiento fisiológico de los cultivos son muy semejantes a los que presentan las plantas en condiciones *ex vitro*, lo que permite una mayor tasa de supervivencia<sup>13,14</sup>.

Los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT) son una de las herramientas más avanzadas para la micropropagación comercial. Se basan en el principio operativo de simplemente sumergir las células, tejidos u órganos en medios líquidos durante períodos de tiempo<sup>15,16,6</sup>; además promueve procesos fisiológicos como la fotosíntesis, la respiración, el desarrollo de la clorofila y el funcionamiento estomático, lo que favorece el desarrollo durante el proceso de aclimatación<sup>17</sup>.

La utilización de medios de cultivo líquidos en Sistemas de Inmersión Temporal es una condición para lograr desarrollar esta alternativa<sup>5</sup>.<sup>18</sup> Desarrollaron el Sistema de Inmersión Temporal, el cual ha sido empleado para el cultivo de microesquejes, organogénesis y embriogénesis somática en varias especies de interés agrícola<sup>19,20</sup>, con altas tasas de multiplicación, lo cual ha permitido disminuir los costos de producción y reducir riesgos de contaminaciones.

Teniendo en cuenta lo anterior el presente trabajo se realizó con el objetivo de incrementar el coeficiente de multiplicación en el cultivar de plátano burro 'INIVITPB-2012' utilizando el Sistema de Inmersión Temporal.

## MATERIALES Y METODOS

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Cuba. En el período comprendido entre octubre del 2021 a septiembre del 2022.

### Procedimientos generales

Los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 121 °C de temperatura y una presión de 1,2 Kg.cm<sup>-2</sup>; el tiempo de esterilización varió en dependencia del volumen de medio de cultivo. El instrumental (pinzas, espátulas y bisturí) se desinfectó en un esterilizador eléctrico (DENT-EQ) que permaneció dentro del flujo laminar horizontal. Las condiciones de cultivo fueron: temperatura 27 ± 2°C y régimen de 16 horas de luz (DFFF de 62-68 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) y ocho de oscuridad.

### Medios de cultivo

Se utilizó el medio de cultivo basal MS<sup>22</sup> con 2,25 mg l<sup>-1</sup> de 6-BAP; 0,18 mg l<sup>-1</sup> de AIA; 30,0 g l<sup>-1</sup> de sacarosa; 10,0 mg l<sup>-1</sup> de ácido ascórbico (control)<sup>23</sup>.

### Condiciones de cultivo *in vitro*

Luz artificial: se utilizó un fotoperíodo de 16 horas de luz y ocho de oscuridad, y una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) de 62-68 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, temperatura 27±2°C.

### Componentes del sistema de inmersión temporal

Se emplearon baterías de frascos de cultivo formados por dos frascos de cuatro litros de capacidad, uno para el crecimiento de los explantes y el otro como reservorio de medio de cultivo. Estos frascos fueron conectados entre sí por una manguera de silicona de seis milímetros de diámetro mediante conectores que atraviesan la tapa. En la parte interna de la misma se colocó una manguera menos flexible, la cual desciende hasta el fondo en ambos recipientes. El medio de cultivo circuló de un frasco a otro en dependencia de la apertura o cierre

de las electroválvulas, las cuales estaban conectadas a un temporizador programable para la determinación de la frecuencia y la duración de la inmersión. A la entrada de los frascos se colocaron filtros hidrofóbicos (0,22  $\mu\text{m}$ , Midisart 2000, Sartorius AG) para garantizar la esterilidad y la presión de aire, está fue regulada por un manómetro. Además, posee un compresor de aire con encendido automático que garantizó la disponibilidad del mismo<sup>24</sup>.

### Material vegetal

Se utilizó el cultivar de plátano burro 'INIVIT PB-2012' procedentes del Banco de Germoplasma INIVIT. A partir de plantas en floración, previamente seleccionadas con buen estado fitosanitario y nutricional, se seleccionaron los hijos de tipo "espada" con una altura entre 25 y 30 cm, los cuales fueron llevados a condiciones semicontroladas (Fase 0 de la micropropagación) en una casa de cultivo cubierta por una malla plástica de color verde (zarán), que logra una reducción de la intensidad luminosa del 70%. El riego se realizó por microaspersión mediante el sistema microjet con una frecuencia de seis riegos al día y una duración de dos minutos cada uno, lo cual garantizó una humedad relativa del 85-90%. Transcurridos 45 días se eliminaron las partes más externas del cormo y las vainas foliares, hasta obtener secciones de aproximadamente diez centímetros de largo y cinco centímetros de diámetro, que encierran el ápice vegetativo.

Con el objetivo de determinar el tiempo de inmersión en el cultivar de plátano 'INIVIT PB-2012' se estudiaron tres tratamientos: tiempo de inmersión por 5 minutos, 10 minutos y 15 minutos (control).

También se determinó la frecuencia de inmersión donde se estudiaron tres tratamientos: frecuencia de inmersión cada 3, 6 y 8 horas (control).

Se evaluó el efecto de cuatro volúmenes de medio de cultivo (cantidad de nutrientes) por explantes: 10; 20; 30 y 40 ml (control) y se colocaron 50 explantes por frasco. El volumen de medio de cultivo fue de 500; 1000; 1500 (control) y 2000 ml.

En los experimentos las evaluaciones se realizaron a los 18 días de cultivo donde se evaluó:

- I. Coeficiente de multiplicación (unidades). Se determinó por el número de brotes finales con respecto al número de brotes iniciales.
- II. Altura de los brotes de yemas axilares (cm). Se midió desde la base del pseudotallo hasta la inserción de la primera hoja.
- III. Grado de oxidación según escala<sup>25</sup>
  - Grado 0: no hubo oxidación, coloración del explante de blanco-amarillo crema.
  - Grado 1: Incipiente coloración carmelita sin llegar a la necrosis del tejido.
  - Grado 2: 25% de tejido necrótico en la base del explante.
  - Grado 3: 50% de tejido necrótico en la base del explante.
  - Grado 4: 75% de tejido necrótico en la base del explante con penetración.
  - Grado 5: 100% de tejido necrótico en la base del explante con penetración y se necesitan cortes profundos para lograr que la asimilación de nutrientes sea efectiva.
- IV. Diámetro del pseudotallo de los brotes de yemas axilares (cm). Se midió el diámetro de la base del pseudotallo.

Todos los medios de cultivo el pH se ajustó a 6,1 antes de la esterilización en autoclave.

Se emplearon 10 baterías por tratamiento.

En los experimentos se aplicó un diseño completamente aleatorizado por entender homogéneas las condiciones de cultivo dentro de las cámaras y considerar como única fuente de variación los tratamientos.

Se comprobó el ajuste a la distribución normal de los datos de cada tratamiento (Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de las varianzas (Levene). Puesto que se encontró normalidad y homogeneidad de varianzas, con un nivel de significación de  $p < 0.05$ , los datos se procesaron mediante análisis de varianza de clasificación simple y la comparación múltiple de medias se realizó según la prueba de Tukey. Para el procesamiento de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS ver 25.0 para *Windows*.

## RESULTADOS

Al aplicar un tiempo de inmersión de 10 minutos (Tabla 1) se obtienen los mejores resultados en todas las evaluaciones realizadas para el coeficiente de multiplicación, diámetro del pseudotallo, grado de oxidación y altura de los brotes de yemas axilares explante con diferencias significativas respecto al resto de los demás tratamientos.

Tratamientos	Coefficiente de Multiplicación (u)	Diámetro del pseudotallo (cm)	Grado de oxidación (u)	Altura de los brotes de yemas axilares (cm)
5 minutos	4,82 c	0,32 c	3,25 c	1,28 c
10 minutos	6,77 a	0,61 a	2,98 a	2,85 a
15 minutos (control)	5,46 b	0,47 b	2,17 b	1,99 b
EE ±	0,26*	0,11 *	0,15 *	0,09 *
CV (%)	9,94	11,26	12,89	11,65

\*Letra diferentes indican diferencias estadísticas para  $p < 0.05$  según la prueba de Tukey

**Tabla 1. Efecto del tiempo de inmersión en el cultivar de plátano ‘INIVIT PB-2012’ en Sistema de Inmersión Temporal.**

Cuando se utilizó la frecuencia de inmersión cada tres horas, con un tiempo de 10 minutos se obtuvieron los mejores resultados para las variables evaluadas, con diferencias significativas respecto al resto de los tratamientos sin la presencia de brotes hiperhidratados, ni multiyemas (Tabla 2).

Tratamientos	Coefficiente de Multiplicación (u)	Diámetro del pseudotallo (cm)	Grado de oxidación (u)	Altura de los brotes de yemas axilares (cm)
3 horas	8,75 a	0,67 a	2,25 b	3,75 a
6 horas	5,26 c	0,28 c	3,98 a	3,29 b
8 horas (control)	4,21 b	0,45 b	3,56 a	2,99 c
EE ±	0,32*	0,12 *	0,14 *	0,10 *
CV (%)	9,38	14,26	11,25	12,56

\*Letra diferentes indican diferencias estadísticas para  $p < 0.05$  según la prueba de Tukey

**Tabla 2. Efecto de la frecuencia de inmersión en los brotes axilares en el cultivar de plátano ‘INIVITPB-2012’ en Sistema de Inmersión Temporal.**

El volumen de medio de cultivo tuvo influencia sobre todas las variables evaluadas con la adición de 50 explantes por frasco de cuatro litros de capacidad. Los mayores valores en cuanto a las variables evaluadas se alcanzaron cuando se empleó una relación de 30 ml de medio de cultivo por explante. En cuanto al grado de oxidación se obtuvo el menor valor (Tabla 3).

Tratamientos	Coefficiente de Multiplicación (u)	Diámetro del pseudotallo (cm)	Grado de oxidación (u)	Altura de los brotes de yemas axilares (cm)
10 ml/explante	5,11 d	0,63 c	2,25 c	2,52 b
20 ml/explante	6,22 b	0,59 c	2,75 b	2,78 b
30 ml/explante	9,58 a	0,95 a	2,12 c	2,99 a
40 ml/explante (control)	8,01 c	0,75 b	3,01 a	2,43 b
EE ±	0,29*	0,37 *	0,18 *	0,14 *
CV (%)	10,45	11,26	12,96	12,10

\*Letra diferentes indican diferencias estadísticas para  $p < 0.05$  según la prueba de Tukey

**Tabla 3. Efecto del volumen de medio de cultivo sobre las variables evaluadas en los “brotes axilares” del cultivar de plátano burro ‘INIVIT PB-2012’ en Sistema de Inmersión Temporal.**

Con estos resultados se demuestran las ventajas del uso de los Sistemas de Inmersión Temporal en la fase de multiplicación *in vitro* en el cultivar ‘INIVIT PB-2012’ para aumentar la disponibilidad y calidad de los explantes en el proceso de propagación *in vitro*. Además los experimentos desarrollados permitieron incrementar el coeficiente de multiplicación de 5,46 a 9,58 obteniendo plantas con características muy superiores a las obtenidas en medios de cultivo en estado semisólido. (Figura 1).

Los experimentos desarrollados permitieron establecer una metodología que incrementa significativamente el coeficiente de multiplicación en el cultivar de plátano ‘INIVIT PB-2012’, basada en la inmersión temporal de los explantes. La superioridad del nuevo método entre otros aspectos está dada por el empleo del medio de cultivo en estado líquido, que, a diferencia del medio de cultivo en estado semisólido, facilita la asimilación de los nutrientes por los explantes. Además, en estos sistemas los explantes no están constantemente en contacto con el medio de cultivo, sino, sólo a determinada frecuencia y un período corto de tiempo que permite la renovación constante de la atmósfera interna de los frascos y evita la acumulación de gases nocivos como el etileno, así como, facilita la regulación de la concentración de CO<sub>2</sub> y la oxigenación de los tejidos.



Figura 1. Plantas *in vitro* del cultivar de plátano ‘INIVIT PB-2012’ multiplicadas en el Sistema de Inmersión Temporal.

## DISCUSIÓN

En el cultivo de la Vainilla (*Vanilla planifolia*, A.),<sup>26</sup> lograron incrementar el coeficiente de multiplicación de 20,0 a 36,0 al utilizar un tiempo de inmersión de 15 minutos con una frecuencia cada seis horas y 40 ml de medio de cultivo por explante con el empleo de Biorreactores de Inmersión Temporal.

En el cultivar de Morera *Morus alba* L. variedad criolla,<sup>27</sup> al utilizar un tiempo de inmersión de tres minutos con una frecuencia cada ocho horas logró aumentar el número de brotes de 1,9 (método convencional) a 4,67 (Sistema de Inmersión Temporal) con diferencias significativas con el resto de los demás tratamiento.

Al utilizar “cluster” en el cultivar de Vainilla (*Vanilla planifolia* J.) provenientes de yemas axilares<sup>28</sup> inició la micropropagación en Sistemas de Inmersión Temporal por medio de segmentos nodales provenientes de yemas axilares donde demostró que el tiempo de inmersión utilizado en estos sistemas varía de manera importante según la especie y del tipo de SIT que se selecciona para la micropropagación de plantas.



Al utilizar un tiempo de inmersión de diez minutos, obtuvieron los mejores resultados en la multiplicación del cultivar de plátano 'INIVIT PV-2011' (AAB), obteniendo un coeficiente de multiplicación de  $4,10^{29}$ .

En el cultivo de guayaba (*Psidium guajava* L.), al utilizar el Sistema de Inmersión Temporal tipo RITA<sup>®</sup> obtuvieron coeficientes de multiplicación de 10,4 con un tiempo de inmersión de dos minutos y frecuencia de cuatro veces al día<sup>14</sup>.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por<sup>30</sup> y<sup>31</sup> donde las frecuencias cortas aumentan el coeficiente de multiplicación.

Cuando se utilizaron diferentes Sistemas de Inmersión Temporal en el cultivar de mariguana (*Cannabis sativa* L.) y se obtuvo como resultado coeficientes de multiplicación de 8,0 por cada explante adicionado al sistema RITA<sup>®</sup> y en el Platform de 24,0; muy superior al sistema anterior con un tiempo de inmersión de un minuto con una frecuencia cada ocho horas (tres inmersiones por día)<sup>32</sup>.

Durante la propagación *in vitro* de hierba dulce (*Stevia rebaudiana* B.)<sup>33</sup> obtuvieron coeficientes de multiplicación de 13,50 al utilizar una frecuencia de inmersión cada 12 horas (dos inmersiones al día) y tres minutos de inmersión.

En el cultivar de Anturium (*Anthurium andreanum* L.)<sup>34</sup> obtuvieron 43 brotes por explante en la multiplicación *in vitro* en Sistema de Inmersión Temporal, tipo RITA<sup>®</sup> con seis inmersiones diarias, es decir, cada cuatro horas.

En Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT)<sup>35</sup> lograron incrementar el coeficiente de multiplicación en brotes de Alcaparro (*Capparis spinosa* L.) de 38,5 por el método de propagación convencional, semisólido a 89,0 con el empleo del BIT con un tiempo de inmersión de dos minutos y una frecuencia cada seis horas.

En el cultivo de la zábila (*Aloe barbadensis* M.)<sup>36</sup> cuando se empleó el menor tiempo de inmersión en los sistemas tipo RITA<sup>®</sup> de un minuto se produjo el mayor número de brotes, peso fresco y peso seco, independientemente de las frecuencias, siendo el número de brotes la variable determinante en la fase de multiplicación.

En el cultivar de plátano vianda CEMSA <sup>3</sup>/<sub>4</sub> (AAB)<sup>37</sup> reportaron un incremento en el número de brotes (6,4) utilizando Biorreactores de Inmersión Temporal. <sup>38</sup> trabajaron con Sistemas de Inmersión Temporal con capacidad de 5000 ml y donde aumentaron el número de brotes a 7,0 por explante en el cultivar de plátano fruta Gran enano.

En el cultivo del banano (Gran enano)<sup>39</sup> alcanzaron un coeficiente de multiplicación a 7,3; incluso superior a los resultados informados por<sup>37,38</sup> quienes trabajaron con los sistemas SETIS<sup>™</sup> en el cultivar de plátano 'CEMSA <sup>3</sup>/<sub>4</sub> (AAB) '.

Es necesario proveer a los explantes con suficientes cantidades de nutrientes esenciales, de tal manera que no sean un factor limitante para el desarrollo. Al evaluar el volumen de medio de cultivo, se comprende que existe relación entre la cantidad de explantes que se utilizan por unidad experimental con respecto al volumen de medio de cultivo y el tiempo de subcultivo.

Al utilizar una frecuencia de inmersión temporal cada 12 h y 50 ml/explante en el cultivar del Anturium (*Anthurium andreanum* L.)<sup>40</sup> lograron obtener un coeficiente de multiplicación de 33,12 explantes en Biorreactores.

Al utilizar una relación de 25 ml/explante de medio de cultivo por cada brote de zábila (*Aloe barbadensis* M.) cultivado en los RITA<sup>®</sup> favoreció el crecimiento y desarrollo de los brotes en la fase de multiplicación *in vitro*<sup>36</sup>.

En el cultivar de jengibre (*Zingiber officinale* R.) al utilizar un tiempo de inmersión de cinco minutos, una frecuencia de inmersión cada seis horas y un volumen de medio de cultivo de 40 ml/explante en el Sistema de Inmersión Temporal obtuvieron un coeficiente de multiplicación de 4,4 lo que superó la respuesta obtenida de brotes de jengibre cultivados en medio de cultivo semisólido (2,9)<sup>41</sup>.

Al utilizar un volumen de medio de cultivo de 30 ml/explante en dos variedades de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)<sup>42</sup>, obtuvieron un coeficiente de multiplicación de 50 brotes por explante.

En el cultivo del arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) con un tiempo de inmersión de un minuto y una frecuencia cada una hora y aireación una vez por hora con una duración de cuatro minutos obtuvieron una tasa de proliferación más alta ( $6,20 \pm 0,81$ ) en el biorreactor que contenía 500 ml de medio de cultivo, mientras que los brotes más largos ( $4,19 \pm 0,25$  cm) se registraron en el biorreactor con 400 ml del medio de cultivo.

En el cultivo de la Avellana (*Corylus avellana*; L) también lograron la mayor tasa de proliferación ( $0,93 \pm 0,07$ ) en el biorreactor que contenía 400 ml, mientras que los brotes más largos ( $3,13 \pm 0,49$  cm) se midieron en el biorreactor que contenía 500 ml de medio<sup>43</sup>.

Durante la propagación *in vitro* del Anturium (*Anthurium andreanum* L.) con un volumen de medio de cultivo de 20 ml/explante<sup>44</sup> obtuvieron un coeficiente de multiplicación de 26,4 por explantes al utilizar el Sistema de Inmersión Temporal tipo RITA<sup>®</sup>.

Durante la propagación *in vitro* de la palma (*Carludovica palmata* R.) con un tiempo de inmersión de cinco minutos, una frecuencia cada seis horas y 100ml/explante de medio de cultivo lograron obtener coeficientes de multiplicación de 10,60, pero cuando utilizaron volúmenes de medio de cultivo de 200 ml/explante obtuvieron 11,32 brotes por cada explante adicionado al Sistema de Inmersión Temporal<sup>45</sup>.

En el cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum spp.*), variedad 'LAICA 04-809'<sup>46</sup> al utilizar diferentes Sistemas de Inmersión Temporal y un volumen de 50 ml/explante obtuvo el mayor coeficiente de multiplicación (RITA<sup>®</sup>  $25,53 \pm 11,42$ , BIT<sup>®</sup>  $20,08 \pm 4,1$  y SETIS<sup>™</sup>  $11,47 \pm 1,27$ ). Los resultados de este trabajo sugieren que la combinación del sistema BIT<sup>®</sup> con el volumen de medio/explante de 50 ml representa las mejores condiciones para la propagación masiva de brotes de caña de azúcar después de cuatro semanas de cultivo.

Al utilizar un volumen de medio de cultivo de 15 ml por brote de yema axilar en el clon de malanga 'Viequera'<sup>47</sup> obtuvieron los mejores resultados en la fase de multiplicación en cuanto al coeficiente de multiplicación que fue de 10,50.

Para el cultivar de plátano vianda 'INIVITPV-2011' (AAB)<sup>29</sup> obtuvieron que en frasco de Sistema de Inmersión Temporal de 10 litros de volumen total, al utilizar una densidad de 60 explantes por frasco lograron aumentar el coeficiente de multiplicación de 4,18 a 8,45.

En el cultivo de maguey tepeztate (*Agave marmorata* R.) utilizando un nuevo Sistema de Inmersión Temporal (GreenTray<sup>®</sup>)<sup>48</sup> lograron incrementar el coeficiente de multiplicación de 2,33 por el método de propagación convencional, semisólido a 5,69 con estos Biorreactores al utilizar un tiempo de inmersión de un minuto con una frecuencia de inmersión cada seis horas.

Estos resultados son consistentes con los obtenidos en otros estudios de micropropagación que utilizan sistemas de inmersión temporal de otras especies<sup>49, 50</sup>.

Al utilizar Biorreactores SETIS<sup>™</sup> en la propagación *in vitro* de malanga (*Colocasia esculenta* L.) lograron incrementar el coeficiente de multiplicación de 20 brotes por el método de propagación convencional a 36 con el empleo de estos nuevos sistemas<sup>51</sup>.

En brotes de mimbrera blanca (*Salix viminalis* L.)<sup>52</sup> obtuvieron altos coeficientes de multiplicación sumergiendo durante un tiempo de inmersión de 1 minuto con una frecuencia de inmersión de tres o seis veces al día, con aireación adicional de un minuto por hora en los biorreactores Plantform<sup>™</sup>.

Los Sistemas de Inmersión Temporal se han utilizado para intensificar el uso de medios de cultivo en estado líquido en la propagación *in vitro* de plantas. Además, se ha logrado incrementar los coeficientes de multiplicación respecto al medio de cultivo semisólido en múltiples especies de plantas por ejemplo en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.),<sup>53</sup> en plátano (*Musa spp.*)<sup>54,55</sup>; en eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.)<sup>56</sup>; en ñame (*Discorea spp.*)<sup>57</sup>; en arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)<sup>58</sup>; en anthurium (*Anthurium andreanum* L.)<sup>44</sup>; en híbrido de durazno (*Prunus persica* P.)<sup>59</sup>; vainilla (*Vanilla planifolia* A.)<sup>60</sup> en pitahaya (*Selenicereus undatus* H.)<sup>61</sup>.

En el cultivar de banano 'Gran Enano' (AAA) con inmersiones de dos minutos cada cuatro horas obtuvieron un coeficiente de multiplicación de 7,5 y para veinte minutos cada cuatro horas un índice de multiplicación de 8,0 en frascos de 10,0 L<sup>62</sup>.

El Sistema de Inmersión Temporal RITA<sup>®</sup>, aumenta los índices de multiplicación entre 3,5 y 2,6 veces más que el sistema de cultivo convencional en medio semisólido para el cv. 'Williams' (AAA) y cv. 'Plátano Hartón' (AAB) respectivamente. Los índices de multiplicación promedios obtenidos para el banano cv. Williams (AAA) fueron 8,4 y 2,4 y para Plátano Hartón los valores obtenidos fueron 11,2 y 4,3 para Sistemas de Inmersión Temporal (20 min cada 4 horas) y medio de cultivo semisólido respectivamente<sup>62</sup>.

Para meristemos de banano 'FHIA-18' (AAAB), disectados en cuatro partes y cultivados en RITA<sup>®</sup> se obtuvieron 60 brotes por meristemo, mientras que en medio de cultivo semisólido lograron obtener 12 brotes por explante inicial cultivado<sup>10</sup>.

Los mejores resultados para la multiplicación de los cultivares de banano 'FHIA-01' (AAAB) y 'FHIA-18' (AAAB) se alcanzaron con la densidad de cinco explantes y una frecuencia de inmersión de tres veces durante un minuto cada 24 horas, en frascos de Inmersión Temporal, tipo RITA<sup>®63</sup>.

En el cultivar de plátano vianda 'INIVIT PV06-30' (*Musa* spp., AAB) se logró su multiplicación con un tiempo de inmersión de 10 minutos, frecuencia de inmersión cada seis horas y 40 ml de medio de cultivo por explante, incrementando de esta forma los parámetros a evaluar, excepto el grado de oxidación donde se obtiene el menos valor<sup>64</sup>.

Con un tiempo de 10 minutos y una frecuencia de inmersión cada tres horas, se alcanzaron los mejores resultados en cuanto al número de explantes obtenidos en el cultivar de banano 'FHIA-18' (AAAB) en frascos de 10 litros de capacidad. Con este tiempo y frecuencia de inmersión los explantes presentaron el mayor diámetro del pseudo tallo y coeficiente de multiplicación<sup>65</sup>.

En la etapa de enraizamiento del cultivar de *Bergenia* spp, variedad *Herbs tblute* se redujo a la mitad el tiempo necesario para inducir la proliferación adecuada de raíces, pasando de 23 días en medio semisólido, a 11 días en medio líquido en Sistema de Inmersión Temporal tipo RITA<sup>®66</sup>.

En plantas de *Eucalyptus grandis*, propagadas en Sistema de Inmersión Temporal y con un manejo de las condiciones de cultivo, presentaron un incremento en el número de estomas que permanecían cerrados en un alto porcentaje, lo que posibilitó el desarrollo e incrementó de los porcentajes de supervivencia de las plantas durante la fase de aclimatización *ex vitro* a más del 90%<sup>67</sup>.

En la fase de aclimatización de plantas de *Chrysanthemum* propagadas en biorreactores<sup>68</sup> se obtuvieron el 100% de supervivencias lo que permitió un desarrollo vigoroso de las mismas.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT) son una herramienta eficaz para la micropropagación de diversas especies vegetales. Se ha demostrado que la optimización de parámetros como el tiempo, la frecuencia de inmersión y el volumen de medio de cultivo, permiten maximizar la propagación y obtener material vegetal de alta calidad. El SIT ofrece ventajas frente a los métodos convencionales, como una mayor eficiencia en la producción y un menor uso de recursos. En particular, se ha comprobado la eficacia del SIT en la micropropagación del plátano burro 'INIVIT PB-2012', logrando una multiplicación exitosa y una reducción en el tiempo y los recursos necesarios.

Se logró la multiplicación del cultivar de plátano burro 'INIVIT PB-2012' con un tiempo de inmersión de 15 minutos a 10 minutos. Además, se disminuyó la frecuencia de inmersión de los explantes de forma considerable de 8 horas a 3 horas (8 inmersiones al día) incrementando el coeficiente de multiplicación de 1:5,46 a 1: 9,58 y el volumen de medio de cultivo por explante se disminuyó de 40 ml/explante a 30 ml/explante.

Con base en estos resultados, se recomienda la aplicación del SIT para la producción a gran escala de esta y otras especies vegetales. Es crucial continuar la investigación para optimizar los parámetros de inmersión en diferentes especies y variedades. Asimismo, se sugiere realizar estudios para evaluar la calidad fisiológica y genética de las plantas producidas mediante SIT, y su capacidad de adaptación durante la aclimatización *ex vitro*. Comparar la eficiencia de diferentes tipos de SIT y estudiar otros factores que pueden influir en su eficiencia, como la composición del medio de cultivo y la concentración hormonal, son aspectos relevantes para futuras investigaciones.



## Contribuciones de los autores

Contribución de los autores: Conceptualización, Milagros Basail Pérez; Metodología, Milagros Basail Pérez, Víctor Medero Vega, Ayme Rayas Cabrera y Arletys Santos Pino; Validación, Milagros Basail Pérez y Víctor Medero Vega; Análisis formal, Milagros Basail Pérez y Arletys Santos Pino; Investigación, Milagros Basail Pérez y Víctor Medero Vega; Análisis de datos, Milagros Basail Pérez, Arletys Santos Pino, Sadi Trujillo Machado y Yoel Beovides García; Escrito borrador del manuscrito, Milagros Basail Pérez y Víctor Medero Vega; Revisión y edición, Milagros Basail Pérez; Supervisión, Sadi Trujillo Machado y Yoel Beovides García. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

## Financiamiento:

Esta investigación recibió financiación del Programa Nacional de Alimento Humano y su Agroindustria, financiado por el Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA).

## Agradecimientos:

Los autores agradecen a los colegas que aportaron con su conocimiento para la versión final del manuscrito.

## Conflictos de interés:

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

---

## REFERENCIAS

1. FAO Statistics Division. <http://faostat.fao.org/site/526/default.aspx>. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2020. Plátanos y Bananos. [http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP\\_FaoRlc/old/prior/segalim/prodalim/prodveg/cdrom/contenido/libro11/cap3.htm](http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/segalim/prodalim/prodveg/cdrom/contenido/libro11/cap3.htm)
2. Cañal M. Fisiología del cultivo *in vitro*. En: Biotecnología Vegetal: Libro de reportes cortos del 5<sup>to</sup> Coloquio Internacional de Biotecnología vegetal, IBP, Santa Clara, Cuba, 1999; pp. 14-22.
3. Kitto S. Commercial Micropropagation HorScience, 1997; 32(6): 1-3.
4. Simonton W, Robacker C. Programmable micropropagation apparatus using cycled liquid médium, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1991; pp. 211-218.
5. Aitken-Christie J, Davies H, Kubota C, Kosai T. Automation in Plant Tissue Culture. General introduction overview: Automation and environment control in *Plant Tissue Culture Kluwer*, Academic Publisher, Dordrech, 1995; pp.1-19.
6. Georgiev V, Schumann A, Pavlov A, Bley T. Temporary immersion systems in plant biotechnology. *Engineering in Life Sciences*, 2014; 14(6): 607–621.
7. Alvard D, Cote F, Teisson C. Comparison of methods of liquids medium culture for banana micropropagation. Effects of temporary immersion of explants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1993; 32(2):55-60. <https://doi.org/10.1007/BF00040116>.
8. Escalona M, González B, Lorenzo J, Daquinta M, Espinosa P, Fundora Z, Espinosa D, Borroto C, Propagación *in vitro* de la piña en Sistemas de Inmersión Temporal. BioVeg '97. Técnicas de avanzada aplicadas a la propagación masiva de plantas. Ciego de Ávila, Cuba. Libro de resúmenes, 1997; 157 p.
9. Lorenzo J, González B, Escalona M, Teisson C, Espinosa P, Borroto C. Sugarcane shoot in an improved Temporary ImmersionS. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1998; 54(3): 197-200.
10. Ventura J, Medero V, López J, García M, Rodríguez S, García J, Reynaldo D. Manejo de los explantes en Inmersión Temporal, clon de Plátano 'FHIA-18'. III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. Palacios de convenciones de La Habana. FAO. Cuba, 1998; 64 p.

11. Jiménez E, Pérez N, De Feria M, Barbón R, Capote A, Chávez M, Quiala E, Pérez C. Improved production of potato microtubers using a Temporary Immersion System. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1999; 59, pp. 19-23.
12. Castro D, Díaz JN. Clonal propagation of bananas by biorreactors of temporary immersion. In: Acorbat. *Memorias XV Reunión: Realizada en Cartagena de Indias*, 2001; Colombia.
13. Teisson C, Alvard D. A new concept of plant *in vitro* cultivation liquid medium: Temporary Immersion. En: *Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, Florence, Italy, 12-17 June, 1994; pp. 105-110.
14. Escalona M, Cid M, Lezcano Y, Capote I, Yáñez E, González J. Propagación de la piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) en biorreactores de Inmersión Temporal. Efecto de la frecuencia de inmersión y el paclobutrazol. *BioVeg'99*. Ciego de Avila, Cuba. Libro de resúmenes, 1998; 28 p.
15. Vervit M. SETIS™ Bioreactor Temporary Immersion Systems in plant micropropagation. <http://www.setis-systems.be>, 2018; Cited 10 de Feb 2018.
16. Wu H, Kuo M, Chen C. Promotion of vegetative growth in force-ventilated *Protea cynaroides* L. explants cultured in modified Temporary Immersion culture vessels. *HortScience*, 2018; 53(1): 231–235. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI12513-17>.
17. Aragón C, Sánchez C, González J, Escalona M, Carvalho L, Amâncio S. Comparison of plantain plantlets propagated in Temporary Immersion bioreactors y gelled medium during *in vitro* growth y acclimatization. *Biol Plant*, 2014; 58(1): 29–38.
18. Teisson C, Alvard D, Berthouly B, Cote F, Escalant J, Etienne H, Lartaud M. Simple apparatus to perform Plant Tissue Culture by temporary immersion. *Acta Horticulturae*, 1996; 440, pp. 521-526.
19. Vilchez J, Albany N. Multiplicación *in vitro* de *Psidium guajava* L. en Sistema de Inmersión Temporal. *Revista Colombiana de Biotecnología Vegetal*, 2014; 16(2): 96-103.
20. Albany N, Vilchez J, León S, Molina M, Nava A, Martínez L, Molina M. Medios de cultivo líquidos: un avance para la micropropagación comercial de Zábila (*Aloe barbadensis* Mill.). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2015; 17(2): 24-31.
21. Sigma. Catalogue. Sigma Chemical Company, EUA, 1991.
22. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 1962; pp. 473-497.
23. López J, Ventura J, Santos A. Genetic Improvement of *Musa* spp. by *in vitro* mutational plant breeding. Report of the Second Research Co-ordination Meeting of FAO/IAEA/BADC Coordinate Research Project, held in Kuala Lumpur, IAEA, Vienna, Austria, 2008; pp. 63-64.
24. Escalona M. Tesis para optar por el grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad de Ciego de Ávila, Centro de Bioplasmas de Ciego de Ávila, 1999; 94 p.
25. Novak F, Afza R, Duren M, Perea-Dallos M, Comger B, Tang X. Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspensions cultures of dessert (AA and AAA) and cooking (ABB) bananas (*Musa* spp.). *Biotechnology*, 1997; 7(2): 154-159.
26. Villegas-Ramírez J, Palma-Zúñiga T. Caracterización morfogénica de la Vainilla (*Vanilla planifolia*, Andrews) para su propagación. *Revista Agronomía Costarricense*, 2022; 46(1): 9-24.
27. Pérez J, Fonseca M, Bahi M, Silva J, Werbrouck S. Multiplicación *in vitro* de *Morus alba* L. variedad criolla en Sistemas de Inmersión Temporal. *Revista SciELO Analytics*, 2020; 43(3): 235-243.

28. Ramirez M, Iglesias L. Evaluation of different Temporary Immersion System (BIT, BIG and RITA<sup>®</sup>) in the micropropagation of *Vanilla planifolia* Jacks. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2016; 52(1): 154-160. <https://doi.org/10.1007/s11627-015-9735-4>.
29. Basail M, Mederos V, Otero E, Torres M, López J, Cabrera M, Santos A, Rayas A, Bauta M, Beovides Y. Nueva alternativa para la micropropagación en Inmersión Temporal del cultivar de plátano vianda 'INIVI-TPV-2011' (AAB). *Revista Colombiana de Biotecnología Vegetal*, 2013; 15(1): 98-107.
30. Ahmadian M, Babaei A, Shokri S, Hessami S. Micropropagation of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) in liquid medium by Temporary Immersion bioreactor in comparison with solid culture. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2017; 15(2): 309-315: <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.07.005>.
31. Uma S, Karthic R, Kalpana S, Suthanthiram B, Saraswathi M. A novel Temporary Immersion bioreactor system for large scale multiplication of banana (Rasthali AAB—Silk). *Scientific Reports*, 2021; <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99923-4>.
32. Rico S, Garrido J, Sánchez C, Ferreira C, Codesido V, Vidal V. A Temporary Immersion System to improve *Cannabis sativa* micropropagation. *Front. Plant Sci.* 13, pp. 895-971. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.895971>.
33. Rosales C, Brenes J, Salas K, Arce S, Abdelnour A. Micropropagation of *Stevia rebaudiana* in Temporary Immersion Systems as an alternative horticultural production method. *Revista Chapingo Ser.Hortic*, 2018; 24(1): 69-84. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2017.08.028>.
34. Morales J, Jadan M, Romero P. Micropropagación de Anturio (*Anthurium andreanum* L.) en un Sistema de Inmersión Temporal mediante organogénesis indirecta a partir de secciones de hoja. Carrera de Ingeniería en Biotecnología. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Sede Sangolquí, 2018; <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/7704/1/AC-B-ESPE-047633.pdf>.
35. Contreras F, Chávez L, Morales J, Pérez E. Micropropagación del alcaparro en medio semisólido y en biorreactores de Inmersión Temporal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2022; 12(1): 12-25.
36. Albany N. Propagación *in vitro* de Zábila (*Aloe barbadensis* Mill.) utilizando retardantes del crecimiento en Sistemas de Inmersión Temporal. Tesis para aspirar al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, 2015; pp. 1-167.
37. Roels S, Noceda C, Escalona M, Sandoval J, Canal M, Rodríguez R, Debergh P. The effect of headspace renewal in a Temporary Immersion bioreactor on plantain (*Musa* AAB) shoot proliferation and *quality*. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2016; 84(2): 155–163.
38. Wilken D, González E, Gerth A, Gómez R, Schumann A, Claus D. Effect of Immersion Systems, lighting, and TIS designs on biomass increase in micropropagating banana (*Musa* spp. cv. 'Grande naine' (AAA). *In vitro Cell Dev Biol-Plant*, 2014; 50, pp. 582–589.
39. Bello J, Cruz C, Pérez J. A new Temporary Immersion System for commercial micropropagation of banana (*Musa* AAA cv. Grand Naine). *In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. Springer, 2019; 55(3): 313–320.
40. Martínez E, Isla B, Pérez J, Bello J. Temporary Immersion improves *in vitro* multiplication and acclimatization of *Anthurium andreanum* Lind. *Scientia Horticulturae*, 2019; 249, pp. 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.01.053>.
41. Villegas-Ramírez J, Palma-Zúñiga T. Multiplicación *in vitro* de *Zingiber officinale* Roscoe cv. 'Gran Caimán' en Sistema de Inmersión Temporal. *Revista Biotecnología Vegetal*, 2019; 19(4): 12-22.

42. Rodríguez B, Morales D. Efecto de la densidad de explantes y el volumen de medio de cultivo sobre la multiplicación *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) variedades Brigitta y Legacy. Revista Colombiana de Biotecnología, 2015; 13(1): 94-102.
43. Doina M, Borsal O, Pamfil D. Micropropagation of *Vaccinium Corymbosum* l. and *corylus avellana* l. Using a Temporary Immersion bioreactor system clapa. Revista Agriculture, 2019; 3(4): 111-112.
44. Alamilla J, Caamal J, Criollo M, Vera J, Reyes J. Biofábricas y biorreactores de Inmersión Temporal: Propagación *in vitro* de *Anthurium andreaum* L. y su viabilidad económica. Revista Agroproductividad, 2019; 12(10): 23-29.
45. Minchala N, Hoyos R, Correa G. Micropropagation of *Iraca (Carludovica palmata* Ruiz y Pav) using a Temporary Immersion System. Revista Research Square, 2021; pp. 1-18 <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2156412/v1>.
46. Ortiz O, Sánchez L, Matthey A. BIT<sup>®</sup> Bioreactor increases *in vitro* multiplication of quality shoots in sugarcane (*Saccharum* spp. variety LAICA 04-809). Plant Cell Tiss Organ Cult, 2022; <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02392-4>.
47. Santos A, Reynaldo D, Basail M, Medero V. Multiplicación *in vitro* de yemas de brotes axilares del clon de malanga Viequera (*Xanthosoma* spp.) en sistemas de cultivo semiautomatizado. Memorias del VIII Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal. BioVeg, 2011; ISBN: 978-959-16-1286-1.
48. Mendoza R, Dolcet R, Orellana M, López I, Vargas, M, Isaac R. Micropropagación de *Agave marmorata* utilizando un nuevo Sistema de Inmersión Temporal. Revista indexada auspiciada por el convenio CONCYTEP-Academia Journals, AcademiaJournals.com, 2022; 2(1). ISSN 2691-1728.
49. Ramírez M, Iglesias L. Evaluation of different Temporary Immersion System (BIT, BIG and RITA<sup>®</sup>) in the micropropagation of *Vanilla planifolia* Jacks. *In vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant, 2016; 52(1): 154-160. <https://doi.org/10.1007/s11627-015-9735-4>.
50. Niemenak N, Noah A, Omokolo M. Micropropagation of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) in Temporary Immersion bioreactor. Plant Biotechnol Rep, 2013; 7(3): 383-90.
51. Mancilla E, Pérez J, Núñez R, Spinoso C, Bello J. Comparison of different semi-automated Bioreactors for *in vitro* propagation of Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott). *Plants*, 2021; 10(5):1005- 1010. <https://doi.org/10.3390/plants10051010>.
52. Regueira M, Rial E, Blanco B, Bogo B, Aldrey A, Correa B, Varas E, Sanchez C, Vidal N. Micropropagation of axillary shoots of *Salix viminalis* using a Temporary Immersion System. Springer, 2018; 32(1): 61-71.
53. Lorenzo J. Micropropagación de la caña de azúcar en Sistemas de Inmersión Temporal. Tesis para optar por el grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Centro de Bioplantitas. UNICA, 2000; 100 p.
54. Martínez R, Ramírez-Mosqueda M, Mosqueda F, Escalona M, Morgado M, Rivas P, Rodríguez E, Daquinta M, Bello-Bello J. Influence of Vitrofur<sup>®</sup> on sugarcane micropropagation using Temporary Immersion System. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2020; 141: 447-453. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01800-x>
55. Aragón C, Escalona M, Capote I, Cejas I, Rodríguez R, Sandoval L, Roels S, Debergh P, González J. Aspectos metabólicos del crecimiento y desarrollo de las plántulas de plátano (CEMSA ¾) micropropagadas en Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT). Cultivos Tropicales, 2006; 27(1): 39-44.
56. González R, Ríos F, Sánchez M. *In vitro* multiplication of *Eucalyptus globulus* by Temporary Immersion System. Bosque. (in spanish), 2011; 32(2):147-154.
57. Jova M, Gómez R, Cuellar E. Efficiency of semi-automated culture systems on microtubers formation of yam (*Discorea alata* L.). Biotechnology. Agron. Soc. Environ, 2012; 16(1): 45-47.

58. Arencibia A, Vergara C, Quiroz K, Carrasco B. An approach for micropropagation of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) plants mediated by Temporary Immersion bioreactors (TIBs). *Am Journal Plant Science*, 2013; 4(5): 1022-1028.
59. Delfino P, Rivata R, Bima P. Sistema de Inmersión Temporal (SIT): alta eficiencia en la propagación *in vitro* del portainjerto híbrido *Prunus persica* x *P. amygdalus*. *Nexo Agropecuario*, 2020; 8(1): 13-18.
60. Ramírez-Mosqueda M, Bello-Bello J. SETIS™ bioreactor increases *in vitro* multiplication and shoot length in Vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. Ex Andrews). *Acta Physiol Plant*, 2021; 43(4). <https://doi.org/10.1007/s11738-021-03227-z>
61. Bello-Bello J, Schettino-Salomón S, Ortega-Espinoza J. A Temporary Immersion System for mass micropropagation of pitahaya (*Hylocereus undatus*). 2021. *3 Biotech*, 11(437): 2-8.
62. Colmenares M, Giménez, C. Multiplicación *in vitro* *Musa* spp. mediante Sistema de Inmersión Temporal. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 2003; 20(4): 468-477.63
63. Posada P, Gómez R, Reyes M, Álvarez L. Empleo de los Sistemas de Inmersión Temporal (RITA®) en la propagación de plantas vía organogénesis en caña de azúcar y bananos. *Bioteología Vegetal*, 2003; 3(1): 6-8.
64. Basail M, Medero V, Otero E, Torres M, López J, Cabrera M, Santos A, Rayas A, Bauta M, Beovides Y. Empleo del Sistema de Inmersión Temporal como alternativa para la multiplicación *in vitro* del cultivar de plátano vianda INIVIT PV 06-30 (*Musa* spp., AAB). *Bioteología Vegetal*, 2012; 12(1): 53-57.
65. Basail M, Medero V, Ventura J, Otero E, Torres M, López J, Cabrera M, Santos A, Rayas A, Bauta M, Beovides Y. Multiplicación del clon de banano FHIA-18 (AAAB) en Sistema de Inmersión Temporal. *Revista Colombiana de Bioteología*, 2012; 14(1): 8-19.
66. Murrell M, Flores D, Azofeifa O. Establecimiento de un Sistema de Inmersión Temporal para la micropropagación y el enraizamiento de *Bergenia* spp var. *Herbstblüte*. *Revista Tecnología en Marcha*, 2002; 15 (4): 75-81.
67. Castro D, González J. Cultivo mixotrófico de *Eucalyptus grandis* hill ex maiden en biorreactores de Inmersión Temporal. *Memorias Congreso Internacional de Bioteología y Agricultura (Bioveg'05)*. Centro de Bioplasmas. Versión digital, 2005; pp. 545-553.
68. Hahn J, Paek Y. Multiplication of *Chrysanthemum* shoots in bioreactors as affected by culture method and inoculation density of single node stems. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2005; 81(3): 143-153.

**Received:** June 5, 2024 / **Accepted:** September 3, 2024 / **Published:** December 15, 2024

**Citation:** Basail M, Medero V, Rayas A, Santos A, Trujillo S, Beovides Y. Propagación *in vitro* del cultivar de plátano burro 'INIVITPB-2012' en Sistema de Inmersión Temporal.

*Bionatura journal*. 2024;1(4):14. doi: 10.70099/BJ/2024.01.04.14

**Additional information** Correspondence should be addressed to [basailmilagros@gmail.com](mailto:basailmilagros@gmail.com)

**Peer review information.** *Bionatura* thanks anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>

**ISSN.3020-7886**

All articles published by *Bionatura Journal* are made freely and permanently accessible online immediately upon publication, without subscription charges or registration barriers.

**Publisher's Note:** *Bionatura Journal* stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Copyright:** © 2024 by the authors. They were submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).