
EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FACTORES FÍSICO-QUÍMICOS SOBRE CULTIVOS CELULARES PRIMARIOS DE CORTO TÉRMINO DE *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apoidea)

MARÍA ISABEL GÓMEZ JIMÉNEZ, MARTA LUCÍA BUENO,
GUIOMAR NATES PARRA

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,
Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

El empleo de cultivos celulares en investigaciones entomológicas se inició a comienzos del siglo XX, desde entonces se han desarrollado sistemas de cultivo más eficientes y apropiados para el establecimiento de líneas celulares de crecimiento continuo, que han sido esenciales para estudios de patología, fisiología, biología molecular y del desarrollo y en biotecnología como modelos para la expresión de genes foráneos. Existe un altísimo porcentaje de especies de las que no se han establecido líneas celulares o cuyo establecimiento es extremadamente difícil, lo cual se debe en gran medida del escaso conocimiento que se tiene sobre los requerimientos nutricionales y del ambiente de cultivo de cada tipo celular estudiado. Para *Apis mellifera* no se conoce ninguna línea celular establecida a pesar de que es un excelente modelo experimental. Este trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de factores físico-químicos sobre cultivos celulares primarios de corto término desarrollados a partir de hemocitos de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apoidea). Para cumplir con este objetivo, se realizaron cultivos de hemocitos obtenidos de larvas de quinto instar de 0,1537 gramos, en las cuales se obtuvo un volumen alto de hemolinfa (45µL) con una mayor cantidad de hemocitos en suspensión y alta pureza y esterilidad. Para determinar los valores de pH, osmolalidad, temperatura de incubación, medio de cultivo y concentración de estimulantes del crecimiento en los que los hemocitos presentaban mayor adaptabilidad estimada en una mayor área, morfología normal con membrana íntegra, adherencia y alto porcentaje de viabilidad, se realizaron ensayos sucesivos modificando en cada experimento uno de estos factores mientras se mantenían los otros constantes. Se realizaron observaciones, conteos y mediciones de las células en suspensión y luego de tres y 120 horas de cultivo por análisis en el programa ImageJ (1.29) de imágenes capturadas en estos lapsos de tiempo. Se encontró una viabilidad del 100% y un área mediana de 14,41 µm² en los hemocitos en suspensión. Se estableció que las condiciones más favorables para el mantenimiento de hemocitos de *Apis mellifera* en cultivo fueron: pH 7,2, osmolalidad 500 mmol/kg, temperatura de incubación 27° C, medio TC-199, sin adición de suero fetal bovino y con fitohemaglutinina a 16 µg/ml, con las cuales se obtuvo luego de 120 horas de cultivo un porcentaje de viabilidad de 92,7%, área mediana de 112,42 µm², alta cantidad de filopodios, morfología alargada y muchas vacuolas y gránulos. El suero fetal bovino y la favina a cualquier concentración tuvieron efectos nocivos sobre estas células.

Palabras clave: *Apis mellifera*, cultivo, hemocitos.