

# Cultivo de Células Y Tejidos Vegetales

(Plant Cell and Tissue Culture)

Graciano Calva Calva<sup>1</sup>,  
Josefina Pérez Vargas<sup>2</sup>

## Resumen

**L**a producción de alimentos en cantidad y calidad suficiente para la cada vez más grande población mundial, es un importante reto en este milenio. La biotecnología vegetal ha demostrado ampliamente que la generación de plantas transgénicas que proporcionen alimentos de mejor calidad y productos naturales a más bajos costos, son la alternativa más viable. Sin embargo, el desconocimiento de los aspectos básicos de la biotecnología y de la bioquímica vegetal, ha provocado desacuerdo entre la comunidad sobre las consecuencias de la liberación y el uso de plantas transgénicas, sobre todo en el área de los alimentos. Es por ello que en este trabajo se dan a conocer los aspectos técnicos básicos de esta biotecnología. Se ilustra la metodología para establecer un cultivo de células vegetales, poniendo de manifiesto la importancia de seleccionar adecuadamente las condiciones fisicoquímicas y nutricionales, no sólo para obtener un desarrollo celular y producción de biomasa adecuado, sino para que la mayor parte de ellas exprese su capacidad de biosíntesis de sustancias económicamente importantes, tal y como sucede en las plantas encontradas en la naturaleza.

**Palabras clave:** Biotecnología vegetal, totipotencia, explante, callo, auxinas, citocininas.

## Abstract

Production of food in quantity and quality enough for the increasing world population is an important challenge for this millennium. Plant biotechnology has proved effectively that making transgenic plants producing food with improved quality and natural compounds at lower cost are the most viable alternatives. However, ignorance of basic aspects about plant biotechnology and biochemistry has led the community to disagree on the consequences of release and use of transgenic plants, in particular as food. Thus, in this work the basic aspects of plant biotechnology are summarized. The methodology to establish plant cell cultures is illustrated. The importance of properly selecting the physicochemical and nutritional conditions is discussed, to obtain not only adequate cellular development and biomass production, but also most cells expressing their biosynthetic capacity for economically important substances, as it happens in nature.

**Keywords:** Plant biotechnology, totipotency, explant, callus culture, auxins, cytokinins.

## Acerca de los autores...

<sup>1</sup> Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.  
<sup>2</sup> Unidad de Posgrado en Ingeniería Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

## Introducción

Dado el incremento de la población mundial, la producción de alimentos es un importante reto para este milenio. El vencerlo dependerá de la capacidad para mejorar el rendimiento y productividad de los cultivos agrícolas y desarrollar plantas mejoradas que proporcionen alimentos de mejor calidad y productos naturales a más bajos costos. En este sentido, la biotecnología vegetal comienza a tener un profundo impacto y tiende a convertirse en una estrategia tecnológica en la denominada agricultura global (Hein, 1998; Stafford, *et al.*, 1986). La evolución de las herramientas de la biotecnología vegetal ha demostrado ampliamente su potencial en la comprensión de muchos aspectos bioquímicos básicos de las plantas y ha dado lugar a la generación de alimentos y productos transgénicos como anticuerpos, antígenos y proteínas (Calva, *et al.*, 2002). Sin embargo, aunque las plantas transgénicas representan la alternativa más viable para satisfacer las necesidades de alimentos de las futuras generaciones, el desconocimiento de los aspectos básicos de la biotecnología vegetal y de la bioquímica de plantas, ha provocado incertidumbre, polémica y desacuerdo entre la comunidad general sobre las consecuencias de su liberación y uso de estas plantas. Es por ello que en este trabajo se dan a conocer los aspectos técnicos básicos de esa biotecnología.

### Toda célula vegetal lleva una copia íntegra del genoma de su planta madre

El cultivo de células y tejidos vegetales se refiere al conjunto de técnicas usadas para hacer crecer células, tejidos y órganos vegetales *in vitro*, bajo condiciones asépticas y controladas, es decir, en un medio de cultivo libre de microorganismos y en un ambiente controlado (Street, 1977; Calva y Ríos,

Año	Autor	Suceso o aportación
1902	Haberlandt	Cultivos de células vegetales <i>in vitro</i>
1958	Reinert, Stewart	Embriogénesis de zanahoria
1959	Tulecke, Nickell	Suspensiones en biorreactor
1960	Cocking	Cultivo de protoplastos
1961	Constabel	Enzimas extracelulares en callos
1962	Murashige, Skoog	Medio MS
1968	Gamborg, Miller, Ojima	Medio B5
1973	Kurz	Cultivo continuo en quimiostato
1974	Kao	Hibridación somática
1975	Withers, Kartha	Preservación criogénica
1977	Zenk	Producción en dos etapas
1979	Brodelius	Inmovilización celular
1982	Dell-Chilton et al.	Cultivo de raíces transformadas (Hairy roots)
1982	Krens et al.	Transformación de células vegetales
1983	Horsh et al.	Tabaco transgénico
1983	Mitsui Petrochemical Co.	Shikonina (Producción comercial)
1984	Redenbaugh	Semillas sintéticas
1985	Tabata, Fujita	Cultivos de células a gran escala
1986	Eilert, Constabel	Elicitación de alcaloides
1989	Giles	Producción de sanguinarina
1991	Genentech	Producción de aceite de canola
1993	Genentech	Jitomate transgénico

Tabla 1. Evolución de la técnica de cultivo de células y tejidos vegetales\*

\* Recopilada de Krikorian y Berquam, 1969; Bhojwani y Razdan, 1983; Street, 1977; Calva y Ríos, 1999; Ferl y Paul, 2000.

1999). Se basa en el principio de totipotencia, el cual indica que cualquier célula vegetal contiene una copia íntegra del material genético de la planta a la que pertenece sin, importar su función o posición en ella, y por lo tanto tiene el potencial para regenerarse en una nueva planta completa (Ferl y Paul, 2000). Al proceso involucrado en la transformación de una célula a una planta u órgano lo denominaron *diferenciación celular*.

En un principio, los investigadores sugerían que las células en las plantas se diferenciaban al retener sólo aquella parte del genoma necesario para el tipo celular del órgano al que estaban destinadas. Se pensaba en la existencia de factores externos que provocaban que las células cambiaran tomando gran diversidad de formas y funciones. Al inicio no se sabía si los cambios sufridos por la diferenciación eran permanentes e irreversibles o si sólo eran características temporales para que las células se adaptasen a las necesidades funcionales del organismo en general y del órgano en particular. Sin embargo, en experimentos realizados por Vochting en 1878 sobre la polaridad celular, se observó que las células de tallos eran capaces de rediferenciarse y formar raíces y brotes, lo que demostró que la diferenciación no era permanente, sino que

estaba dada por la posición relativa de la célula en la planta (Bhojwani y Razdan, 1983; Ferl y Paul, 2000). Ahora se sabe que la diferenciación celular está regulada por la expresión genética y que no implica la pérdida de material genético (Ferl y Paul, 2000).

Pero en ese entonces, investigando más sobre el tema, Gottlieb Haberlandt, en 1898, aisló células y tejidos de plantas superiores y las colocó en soluciones nutritivas para su crecimiento y estudio, dando origen de esta manera a la técnica de cultivo de células y tejidos vegetales (Tabla 1). Así, Haberlandt fue la primera persona en cultivar células vegetales *in vitro* completamente diferenciadas, pero reportó sus estudios y resultados en 1902, según lo indican Krikorian y Berquam (1969). Haberlandt propuso que era posible cultivar juntas células vegetativas libres y túbulos de polen adicionando soluciones nutrientes suplementadas con extractos de ápices vegetativos o con fluidos de sacos embrionarios. Es por ello que ahora se considera a Haberlandt como el padre de la técnica de cultivo de células y tejidos vegetales, que actualmente se puede definir como el conjunto de procedimientos para hacer crecer y multiplicarse células, tejidos u órganos vegetales en condiciones controladas y libres de microorganismos.

### Dos grandes descubrimientos favorecieron el desarrollo de la biotecnología vegetal

Después de Haberlandt, no fue sino hasta los años 30 que White, en Estados Unidos, y Gautheret, en Francia, demostraron en forma definitiva la posibilidad de cultivar células vegetales *in vitro*. En ese tiempo, hubo dos grandes descubrimientos que repercutieron de manera fundamental sobre el desarrollo de la técnica de cultivo de células y tejidos vegetales: primero, la identificación de las auxinas como reguladoras naturales del crecimiento vegetal, y segundo, el reconocimiento de la importancia del complejo B en el crecimiento de las plantas.

En 1934, Gautheret cultivó células de cambium de algunas especies en una solución mineral con glucosa y cloruro de cisteína. Encontró que dichas células proliferaban por algunos meses y que adicionando vitaminas y ácido indolacético (AIA) se estimulaba considerablemente su crecimiento. Más tarde, en 1939 White reportó el establecimiento de cultivos similares pero a partir de tejidos tumorales de un híbrido: *Nicotiana glauca X N. langsdorffii*. Estos investigadores, junto con Nobecourt, quien reportó en ese mismo año el establecimiento de un cultivo similar a partir de zanahoria, son considerados como los pioneros de la técnica del cultivo de células y tejidos vegetales (Bhojwani y Razdan, 1983, Street, 1977). Los medios de cultivo (Tabla 2) y métodos utilizados en la actualidad, son por lo general modificaciones de los establecidos por ellos en 1939.

**Tabla 2. Componentes de varios medios de cultivo para células y tejidos vegetales.**

1 Murashige y Skoog, 1962; 2 Shenk y Hildebrandt, 1972; 3 Gamborg, et al., 1968; 4 White, 1963; 5 Peso molecular.

	MS <sup>1</sup>	SH <sup>2</sup>	B5 <sup>3</sup>	White <sup>4</sup>	PM <sup>5</sup>
	<b>CONCENTRACIÓN</b>				
<b>Macronutrientes</b>	<b>mM</b>	<b>mM</b>	<b>mM</b>	<b>mM</b>	<b>g/mol</b>
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	20.6	25.0	---	---	80.04
KNO <sub>3</sub>	18.8	1.4	25.0	0.8	101.11
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	3.0	1.6	1.0	---	147.2
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	---	---	---	1.3	236.16
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.5	---	1.0	3.0	246.47
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	---	---	---	1.4	142.04
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	---	---	1.0	---	132.15
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.25	1.25	---	---	136.09
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	---	---	1.1	0.1	137.99
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	---	2.6	---	---	114.98
<b>Micronutrientes</b>	<b>µM</b>	<b>µM</b>	<b>µM</b>	<b>µM</b>	<b>g/mol</b>
KI	5.0	6.0	4.5	4.5	166.01
KCl	---	---	---	871.9	74.55
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	100.0	80.0	48.5	24.3	61.83
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	100.0	---	---	22.4	223.01
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	---	60	59.2	---	169.01
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	30.0	3.5	7.0	10.4	287.54
NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1.0	0.4	1.0	---	241.95
MoO <sub>3</sub>	---	---	---	0.0	143.94
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.1	0.8	0.1	0.0	249.68
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.1	---	0.1	---	237.93
Na <sub>2</sub> EDTA	100.0	55.0	---	---	336.25
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	100.0	55.0	---	---	278.06
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	---	---	---	6.3	399.87
<b>Comp. orgánicos</b>	<b>µM</b>	<b>µM</b>	<b>µM</b>	<b>µM</b>	<b>g/mol</b>
Mio-Inositol	550.0	5500.0	555.1	---	180.16
Ácido Nicotínico	4.6	40.6	8.1	0.4	123.11
Piridoxina HCl	2.4	2.4	4.9	0.0	205.64
Tiamina HCl	0.3	14.8	29.6	0.0	337.29
Glicina	26.6	---	---	40.0	75.07

### El éxito del cultivo depende de los explantes

El procedimiento general (Figura 1), consiste en inocular un medio de cultivo gelificado (generalmente con agar, Gelrite o Phytigel®) con un fragmento de tejido u órgano vegetal, llamado explante, previamente tratado para eliminar todo organismo que se encuentre en su superficie (desinfestación). El cultivo se incuba en condiciones ambientales de luz, temperatura y humedad controladas, que junto con las fisicoquímicas y nutricionales conducen el desarrollo del explante hacia la formación de una masa celular amorfa denominada callo, o hacia la diferenciación en un tejido organizado, produciendo órganos o embriones. Los callos obtenidos mediante este procedimiento, pueden subcultivarse para su mantenimiento y

propagación o inducir su diferenciación para formar órganos (organogénesis), embriones (embriogénesis) o trasladarse a un medio de cultivo líquido para obtener células y pequeños agregados en suspensión. Los cultivos se mantienen bajo las mismas condiciones físicas y fisicoquímicas usadas para la inducción de callos.

Los cultivos de órganos se pueden rediferenciar hasta plantas completas (micropropagación), que luego se transfieren a invernadero. La temperatura de los cultivos generalmente se controla entre 25-28 °C, el pH entre 5.2-6.5 y la luz de 0-12,000 lux (Calva y Ríos, 1999; Seabrook, 1980; Martin, 1980; Yasuda, *et al.*, 1972). Las plantas jóvenes o en desarrollo, con tejidos meristemáticos y crecimiento vegetativo vigoroso, son la mejor fuente de explantes. Aunque en una misma planta se puede encontrar tanto crecimiento juvenil como adulto, el primero se caracteriza por un crecimiento activo y ausencia de estructuras reproductoras, mientras que el adulto es más lento y presenta estructuras sexuales para la reproducción de la planta. Además, las plantas adultas pueden haber acumulado mayor cantidad de microorganismos en sus tejidos y contener menos células meristemáticas, necesarias para establecer los cultivos *in vitro* (Calva y Ríos, 1999; Seabrook, 1980; Street, 1977). La desinfección del

tejido a usar como fuente de explantes, se realiza con agentes como hipoclorito de sodio o calcio y cloruro mercurioso. La penetración del agente desinfectante en superficies rugosas o vellosas del tejido vegetal, se incrementa con la adición de agentes tensoactivos como el Tween 20 (Webster, 1966).

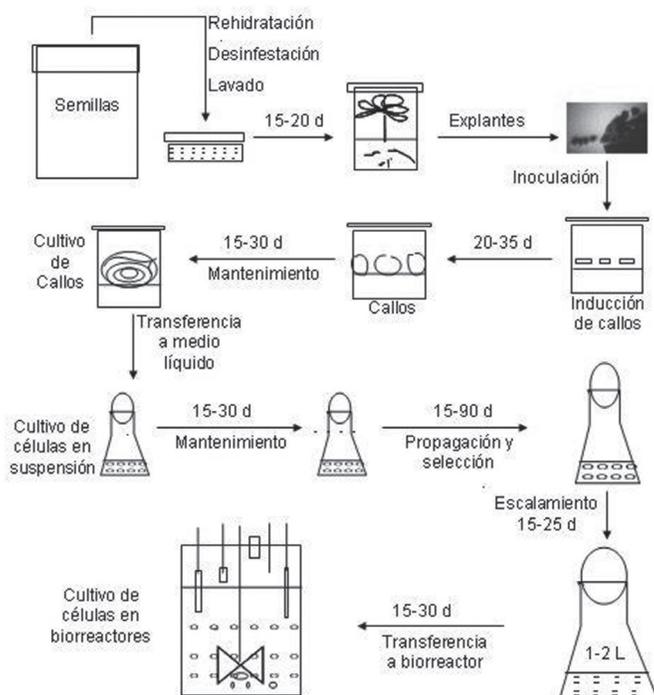
En las plantas silvestres, el tejido calloso se forma en respuesta a daños mecánicos sufridos por influencia del medio ambiente o por invasión de tejidos por ciertos microorganismos (Figura 2). Sin embargo, en cultivos *in vitro*, el tejido calloso se induce mediante la influencia de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal o fitohormonas adicionadas al medio de cultivo (Yeoman, 1970; Tempé y Schell, 1985; Crozier, *et al.*, 2000). El éxito en la inducción y establecimiento de cultivos de callos, y en consecuencia la subsiguiente regeneración a tejidos y plantas, está en función de la calidad del explante usado, que a su vez depende de la planta madre o del tejido del que se inició el cultivo.

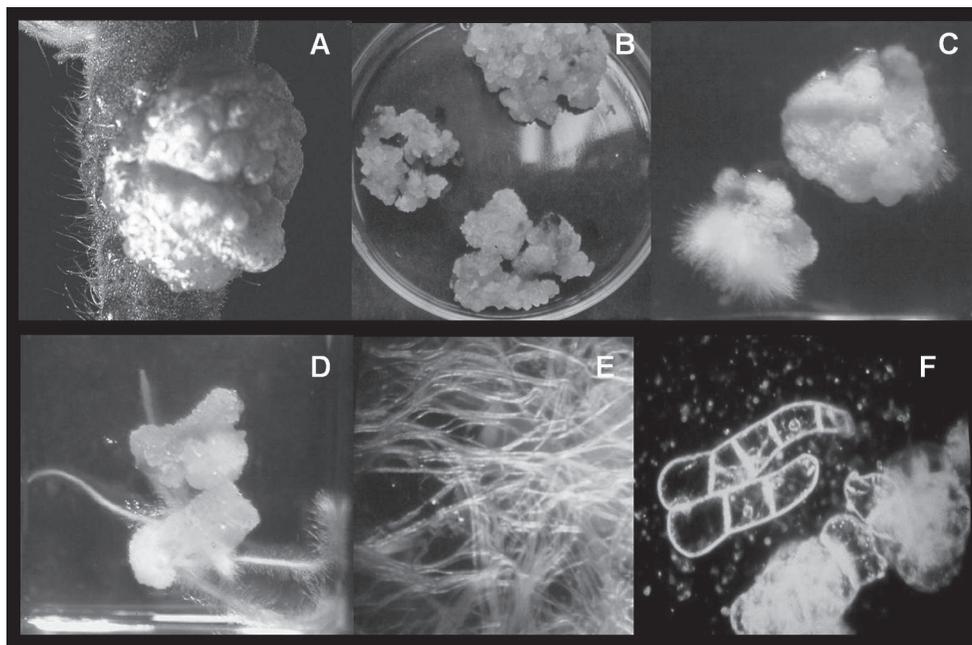
De cualquier manera, para el inicio de los cultivos se prefiere utilizar tejidos que contengan células meristemáticas. Éstas se diferencian rápidamente en la respuesta a estímulos organogénéticos como variación en el tipo y concentración de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal. Las células meristemáticas se distinguen de otras células por su tamaño relativamente pequeño, citoplasma denso, forma isodiamétrica, pared celular fina, mínima vacuolación y un gran núcleo (Doerner, 2000). En los cultivos *in vitro*, este tipo de células se encuentran en la periferia de los callos o en las suspensiones

como masas o nódulos de tejidos pre-embriónicos, lo que produce una gran variabilidad genética en las células de esos cultivos. También es necesaria la presencia de este tipo de células para poder regenerar una planta a partir de un cultivo *in vitro*.

La variabilidad genética entre y dentro de los cultivos, se refleja primero en la morfología de los callos y posteriormente en los cultivos en suspensión o sistemas de cultivo con los que se trabaja. Algunos autores (Wareing y Al Chalabi, 1985; Petiard y Bariaud, 1985) opinan que este fenómeno puede ser consecuencia de las variaciones genéticas originadas por la alta frecuencia de división celular que tiene lugar en los cultivos *in vitro*. Otros indican que también pueden ser causadas por alteraciones o cambios de factores epigenéticos originados por la forma en que se

**Figura 1. Procedimiento general de la técnica de cultivo de células y tejidos vegetales. Los tejidos meristemáticos y de crecimiento vigoroso de plantas jóvenes silvestres o crecidas *in vitro* son la mejor fuente de explantes para iniciar los cultivos.**





**Figura 2. Tejido calloso, agalla de cuello, crown gall o tumor inducido en una planta silvestre por infección con *Agrobacterium tumefaciens* (A), callos indiferenciados (B), embriogénicos (C), inducción de raíces (D), cultivos de raíces (E), y células en suspensión (F) de *Vanilla planifolia*.**

establecen los cultivos. Así, hay estudios donde se observa que callos obtenidos de diferentes órganos de una misma planta, pueden ser completamente diferentes o presentar características propias que los otros cultivos no tienen (Petiard y Bariaud, 1985; Holden, et al., 1988). Más aún, hay callos que aunque proceden del mismo explante, difieren en su morfología y características intrínsecas, por ejemplo, el color, friabilidad, dureza, tamaño, grado de diferenciación o producción de metabolitos (Lindsey y Yeoman, 1983; Bhom, 1982; Calva y Ríos, 1999).

En este último punto, se ha observado que cuando los cultivos se inician del tejido de la planta que presentan mayor producción de determinados metabolitos, se obtienen cultivos con mejores rendimientos respecto a otros de la misma planta pero provenientes de órganos o tejidos que no producen o lo hacen en muy bajas cantidades (Lindsey y Yeoman, 1983). No obstante, existen reportes donde se indica que cualquier cultivo *in vitro* puede alcanzar producciones tan altas o más

que las presentadas por la planta crecida en condiciones silvestres, sin importar de qué parte de la planta se haya establecido el cultivo (Petiard y Bariaud, 1985). De esta forma, las condiciones fisicoquímicas y nutricionales actúan sobre los cultivos para orientar la expresión genética de las células a diversos grados de diferenciación, que proporciona a los cultivos características propias y únicas, aun cuando éstos provengan de una misma planta y todavía más, de un mismo explante.

### **La expresión genética es función principalmente del medio de cultivo**

De lo anterior, queda claro que es importante encontrar condiciones de cultivo no sólo para que las células crezcan y se dividan rápidamente, sino también para que la mayor parte de ellas expresen su capacidad de rediferenciación y biosíntesis para una o varias sustancias de interés. En la mayor parte de estudios sobre cultivos de células y tejidos vegetales, esto se ha

tratado de resolver variando los componentes y concentraciones de los medios de cultivo (Martin, 1980; Yasuda, et al., 1972; Calva y Ríos, 1999), así como las condiciones físicas y fisicoquímicas de los procesos (Fowler, 1982; Rhodes, et al., 1987); esto aprovechando las ventajas que ofrece la rápida respuesta de las células en los cultivos ante pequeños cambios en su medio ambiente con respecto a las plantas crecidas por métodos tradicionales.

Los primeros medios de cultivo para células y tejidos vegetales, eran semi-sintéticos y frecuentemente contenían extractos o complejos orgánicos como agua de coco, hidrolizado de caseína, extracto de levadura, etcétera, pero actualmente la mayoría es de composición conocida (Tabla 2). Están constituidos básicamente por cinco grupos de ingredientes: nutrientes inorgánicos, fuente de carbono, fuente de nitrógeno, vitaminas y reguladores del crecimiento que *in vivo* son sintetizados por una parte u órgano de la planta, para luego ser transportados a otros órganos donde se

metabolizan y/o acumulan (Seabrook, 1980; Yasuda, *et al.*, 1972). Las fuentes de nitrógeno más comunes son el nitrato y amonio, pero también se ha utilizado urea, hidrolizado de caseína, extracto de levadura y aminoácidos. Las fuentes de carbono más empleadas son la sacarosa y la glucosa y en menor grado la maltosa, galactosa, almidón y melaza. Los micronutrientes son utilizados por las células como cofactores enzimáticos, por ejemplo el molibdeno para la nitrato reductasa y el magnesio para algunas cinasas (Murashige y Skoog, 1962; Shenk y Hildebrandt, 1972).

Las fitohormonas y sus inhibidores son sustancias producidas por las plantas y determinan su respuesta a estímulos ambientales como la luz, la temperatura y la humedad, ayudando así a regular y coordinar los procesos esenciales para el desarrollo normal de las plantas (Wain, 1980; Doerner, 2000; Crozier, *et al.*, 2000). Este tipo de sustancias son moléculas pequeñas y se pueden dividir principalmente en auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico, etileno, brasinoesteroides, poliaminas, ácido jasmónico y el ácido salicílico. Las auxinas y giberelinas promueven la elongación celular, pero inhiben la diferenciación, mientras que las citocininas estimulan la división mediante la cual se producen nuevas células y pueden también evitar el envejecimiento celular. El etileno estimula la maduración, principalmente de frutos, y el ácido abscísico inhibe la acción de las auxinas, giberelinas y citocininas, operando como sistema de defensa natural contra los efectos del estrés fisiológico.

Las más usadas en cultivos de células vegetales son las auxinas y citocininas. De las auxinas, el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) es el más usado para la inducción y mantenimiento de tejido calloso, debido a que este compuesto suprime severamente la organogénesis. De las citocininas, la más activa es la 2-indolaminopurina (2iP); sin embargo,

las más utilizadas en el cultivo de células vegetales son la bencilaminopurina (BAP) y la cinetina (Cin), una citocinina sintética afectada por la luz en el rango de longitud de onda de 300-800nm (Aitchison, *et al.*, 1977; Street, 1969 y 1977; Crozier, *et al.*, 2000).

Las principales aplicaciones de la técnica de cultivo de células y tejidos vegetales, son los campos de micropropagación, la obtención de plantas libres de patógenos, la preservación de germoplasma, el mejoramiento genético, la biosíntesis de metabolitos, y la investigación básica en áreas como la genética, fisiología y bioquímica (Fowler, 1987, Carpita y McCann, 2000). En micropropagación, la embriogénesis y organogénesis (Figura 2) pueden usarse para obtener clones somáticos y regenerar plantas completas con características uniformes y así establecer cultivares de plantas valiosas y libres de microorganismos o que sean difíciles de obtener por métodos de cultivo tradicionales. Los cultivos *in vitro* también pueden almacenarse por largo tiempo, mediante alguno de los métodos de conservación utilizados para microorganismos, como es la refrigeración y criopreservación. Esta es una forma de eliminar los problemas de espacio físico, exceso de mano de obra, contaminación de los cultivos y los efectos de la erosión genética.

Entre las principales ventajas del cultivo de células y tejidos vegetales en la investigación básica, micropropagación y producción de metabolitos secundarios, destaca el hecho de que permiten realizar estudios en un tiempo mucho menor y bajo condiciones más controladas que con plantas cultivadas por métodos tradicionales. Si los cultivos *in vitro* se incuban o someten a condiciones de estrés fisiológico, pueden expresar características de adaptación y resistencia que en condiciones naturales nunca manifestaron, creciendo selectivamente sólo aquellas

células capaces de adaptarse a sus nuevas condiciones. Esta variación genética también se puede inducir por técnicas de mutación, ingeniería genética, fusión de protoplastos y transformación genética por inclusión de DNA foráneo de manera similar a las aplicadas comúnmente en microorganismos (Yeoman, *et al.*, 1980; Rodees, *et al.*, 1987; Crozier, *et al.*, 2000). En este último caso se obtienen cultivos o plantas transgénicas, en donde el DNA foráneo debe integrarse al genoma vegetal para garantizar una expresión estable en su progenie.

Los métodos más comunes para la transformación de plantas, son el uso de bacterias del suelo y la biolística o bombardeo de partículas. El método bacteriano usa *Agrobacterium tumefaciens* o *Agrobacterium rhizogenes*. Con el primero se obtiene un tumor celular o callo transgénico denominado agalla de cuello o de la corona (crown gall, Figura 2), mientras que con el segundo, el producto es la inducción de raíces aéreas pilosas (hairy roots). En cualquier caso, el tejido lleva el DNA foráneo que por regeneración puede producir plantas transgénicas con propiedades superiores a la planta madre. Estas plantas transgénicas pueden ser usadas para la obtención de alimentos y semillas mejoradas, compuestos naturales de importancia farmacéutica e industrial, o usarse como biorreactores para la producción de nuevas biomoléculas como proteínas, antígenos y anticuerpos.

## Referencias...

- Aitchison P. A., Macleod A. J., Yeoman M. M. (1977). "Growth patterns in tissue (callus) cultures". En: Street H. E. (Ed.) *Plant tissue and cell culture*. Blackwell Sci. Publ., Oxford, England, pp. 267-306.
- Bhojwani S. S., Razdan M. K. (1983). "Plant tissue culture: Theory and practice". En: *Development in Crop Science* V. 5. Elsevier Sci., Publ., Co. New York, U.S.A. pp. 1-10.
- Bhom H. (1982). The inability of plant cell cultures to produce secondary substances. *Plant Tissue Culture. Proc.*, 5th. Int. Cong. Plant Tissue and Cell Culture, pp. 325-328.
- Calva C. G., Rios L. E. (1999). "Cultivo de callos y acumulación de metabolitos secundarios". En: Rodríguez V. R., Calva C. G., Ramos R. E. G., Salazar M. A. (Eds.) *Aspectos aplicados de la biotecnología*, pp. 267-301.
- Calva C. G., Esparza G. F., Pérez V. J., Martínez J. V. M., Silva C. S., Sánchez L. C. (2002). "Plantas como biorreactores para la producción de biomoléculas y remoción de xenobióticos". *Avance y Perspectiva*, Vol. 21: 307-312.
- Carpita N., McCann M. (2000). "The Cell Wall". En: Buchanan B., Gruissem W., Jones R. (Eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. USA: American Society of Plant Physiologists, pp. 52-108.
- Crozier A., Kamiya Y., Bishop G., Yokota T. (2000). "Biosynthesis of hormones and elicitors molecules". En: Buchanan B., Gruissem W., Jones R. (eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. USA: American Society of Plant Physiologists, pp. 850-929.
- Doerner P. (2000). "Cell division regulation". En: Buchanan B., Gruissem W., Jones R. (eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. USA: American Society of Plant Physiologists, pp. 528-567.
- Ferl, R., Paul A. L. (2000). "Genome organization and expression". En: Buchanan B., Gruissem W., Jones R. (eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. USA: American Society of Plant Physiologists, pp. 312-357.
- Fowler M. W. (1982). "The large scale cultivation of plant cells". *Progr. Ind. Microb.* Vol. 16: 207-229.
- Fowler M. W. (1987). "Products from plant cells". En: Bullock J., Kristiansen B. (Eds.) *Basic Biotechnology*. Academic Press, M., London, England, pp. 525-544.
- Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K. (1968). "Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells". *Exp. Cell. Res.* Vol. 50:151-158.
- Hein M. (1998). "Plant biotechnology". *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 9: 187-188.
- Holden P. R., Aitken M., Lindsey K., Yeoman M. M. (1988). "Variability and stability of cell culture of *Capsicum frutescens*". En: Morris P., Scragg A., Stafford A., Yeoman M. M. (Eds.) *Secondary metabolism in plant cell cultures*. Cambridge Univ. Press., England, pp. 237-243.
- Krikorian A. D., Berquam D. L. (1969). "Plant cell and tissue culture: The role of Haberlandt". *Bot. Rev.* Vol. 35(1):59-88.
- Lindsey K., Yeoman M. M. (1983). "The relationship between growth rate, differentiation and alkaloid accumulation in cell cultures". *J. Exp. Bot.* Vol. 34(145):1055-1065.
- Martin S. M. (1980). "Mass culture systems for plant cell suspensions". En: Staba E. J. (Ed.) *Plant tissue culture as a source of biochemicals*. C.R.C. Press. Inc. Boca Raton. Florida., U.S.A. pp. 149-166.
- Murashige T., Skoog F. (1962). "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures". *Physiol. Plant.* Vol. 15(3):473-497.
- Petiard V., Bariaud Fontanel A. (1985). "El cultivo de células vegetales". *Mundo Científico*, No. 7(71): 730-736.
- Rhodes M. J. C., Robins R. J., Parr A. J., Hamill J. (1987). "Secondary product formation in plant cell cultures". *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.* 105S-114S.
- Seabrook J. E. A. (1980). "Laboratory culture". En: Staba, E. J. (Ed.) *Plant tissue culture as a source of biochemicals*. C.R.C. Press, Inc, Boca Raton, Florida, U.S.A. pp 1-20
- Shenk R. A., Hildebrandt (1972). "Medium and

- techniques for induction and growth of monocotyledonous plant cell cultures". *Can. J. Bot.* Vol. 50:199-204.
- Stafford A., Morris P., Fowler M. W. 1986. "Plant cell biotechnology: a perspective". *Enzyme Microb. Technol.*, Vol. 8: 578-587.
- Street H. E. (1969). "The induction of cell division in plant cell suspension cultures". En: *Colloq. Int. C.N.R.S. (Ed.) Les cultures de tissus de plants*. Paris, France, pp. 177-93
- Street H. E. (1977). "Cell (suspension) cultures techniques". En: Street H. E. (Ed.) *Plant tissue and cell culture*. Blackwell Scientific Publishing., Oxford, England, pp. 61-102.
- Tempé J., Schell J. (1985). "La manipulación de las plantas". *Mundo Científico*, Vol. 7(71):792-801.
- Wain R. L. (1980). "El Control químico del crecimiento de las plantas". En: Ondarza N. R. (Ed.) *Los reguladores de las plantas y los insectos*. CONACyT, México, pp. 13-27
- Wareing P. F., Al Chalabi T. (1985). "Determination in plant cells". *Biol. Plant.* Vol. 27(4-5): 241-248.
- Webster J. M. (1966). "Production of oat callus and its susceptibility to a plant parasitic nematode". *Nature*, Vol. 212(5069):1472.
- White P. R. (1963) *The cultivation of animal and plant cells*, 2nd ed. Ronald Press, New York, pp 30-44.
- Yasuda S., K. Satoh T., Ishii, Furuya T. (1972). "Studies on the cultural conditions of plant cell suspension culture". En: Terui G. (Ed.) *Ferment. Technol. Today*. Proc. Int. Ferm. Symp. 4th. Soc. Ferm. Tech. Kyoto, Japan, pp 697-703.
- Yeoman M. M. (1970). "Early development in callus cultures". *Int. Rev. Cytol.* Vol. 29: 383-409.
- Yeoman M. M., Miedzybrodska M. B., Lindsey K., McLachlan W. R. (1980). "The synthetic potential of cultured plant cells". En: Sala F., Parisi B., Cella R., Cifferri O. (Eds.) *Plant cell cultures: Results and perspectives*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 327-343.