

# Biotecnología Vegetal, una Visión General

Montserrat Lizbeth Sánchez Martínez<sup>a</sup>, Mariana Zuleima Pérez González<sup>b</sup>  
e Ignacio García Martínez<sup>c</sup>



## Resumen

La biotecnología vegetal, ha demostrado ser de utilidad para producir alimentos de alta calidad y en suficiente cantidad, asimismo, es un recurso altamente utilizado para la obtención y producción de compuestos biológicamente activos, que han demostrado tener aplicaciones terapéuticas. Estos sistemas son eficaces cuando las plantas, los tejidos o explantes de interés tienen condiciones específicas de crecimiento o suelen ser plantas perennes o semiperennes, pero debido a ello, el desarrollo de éstos resulta complejo y genera altos costos, debido a las condiciones especiales. Por lo anterior, resulta de vital importancia el conocimiento de todas las aplicaciones

### Acerca de los autores

<sup>a</sup> Estudiante de Doctorado en Ciencias en Ingeniería Bioquímica, Tecnológico Nacional de México/TES de Ecatepec.

<sup>b y c</sup> Académico adscrito a la División de Ingeniería Química y Bioquímica, Tecnológico Nacional de México/TES de Ecatepec.

y metodologías establecidas junto con sus mejoras para satisfacer la creciente necesidad de medicamentos y alimentos. El objetivo del presente trabajo, es brindar el conocimiento sobre las principales aplicaciones, principios básicos y características de operación de la biotecnología vegetal.

## **Abstract**

*Plant biotechnology has proven to be useful for producing high-quality foods in sufficient quantity. Likewise, it is a highly used resource for obtaining and producing biologically active compounds, which have been shown to have therapeutic applications. These systems are effective when the plants, tissues or explants of interest have specific growth conditions or are usually perennial or semi-perennial plants, but due to this, their development is complex and generates high costs, due to the special conditions. Therefore, knowledge of all established applications and methodologies along with their improvements is of vital importance to satisfy the growing need for medicines and food. The objective of this work is to provide knowledge about the main applications, basic principles and operating characteristics of plant biotechnology.*



## **Palabras clave**

Cultivo de células vegetales, micropropagación, biotecnología vegetal, cultivo de tejidos vegetales, compuestos bioactivos.

## **Keywords**

*Plant cell culture, micropropagation, plant biotechnology, plant tissue culture, bioactive compounds.*

## **Introducción**

El cultivo de células vegetales y tejidos está referido al conjunto de técnicas usadas para hacer crecer células y tejidos vegetales *in vitro*, bajo condiciones asépticas, controladas y libres de microorganismos (Calva, G. y Pérez, J., 2005). Durante mucho tiempo, los cultivos celulares han sido las herramientas que han permitido a los investigadores trazar las vías metabólicas y descubrir los mecanismos implicados en la señalización celular, la regulación de la expresión genética, la síntesis de proteínas, la proliferación celular (Halliwell, B., 2014) y la producción de valiosos metabolitos secundarios derivados de plantas (Zhong, J., 2001). Dichos cultivos han florecido debido a la necesidad de obtener compuestos útiles en condiciones controladas, libres de microbios e insectos e independientes de los cambios climáticos o el estado del suelo (Benítez, I. *et al.*, 2014). Este cultivo debe su origen a las ideas del científico alemán, Haberlandt a comienzos del siglo XX (Pasqua, G., *et al.*, 2003). Los sistemas de cultivos de células en suspensión se podrían utilizar para la producción a gran escala de células de la planta, de la cual se podrían extraer



metabolitos secundarios; la ventaja de este método es que en última instancia, puede proporcionar una fuente continua y fiable de productos naturales (Vanisree, M., *et al.*, 2004).

El cultivo de células vegetales tiene tres aplicaciones principales: la producción de metabolitos secundarios, la micropropagación y el estudio de la genética de células vegetales, la fisiología, la bioquímica y la patología. Su ventaja es que no están limitados por las condiciones ambientales, ecológicas o climáticas, por ello, las células vegetales pueden proliferar a tasas de crecimiento más altas, en comparación con las plantas enteras (Zhong, J., 2001). La micropropagación está dada cuando los cultivos de órganos se pueden rediferenciar hasta plantas completas, que luego pueden ser transferidas a invernaderos (Calva, G. y Pérez, J., 2005). Se pueden regenerar plantas a partir de suspensiones de células y protoplastos, ya que las células tienen la capacidad de volver a crecer como las plantas, e incluso los protoplastos aislados de células en suspensión se han regenerado en nuevas plantas (Kamo, K., *et al.*, 1990). Las células vegetales y los cultivos de órganos han demostrado ser un sistema eficaz para sintetizar productos naturales a gran escala (Pasqua, G., *et al.*, 2003). Los cultivos de células vegetales representan una población heterogénea en donde las características fisiológicas individuales de las células vegetales son diferentes (Vanisree, M., y Hsin-Sheng, T., 2004).

## 1. Cultivos en suspensión

El cultivo de células vegetales se basa en el principio de totipotencialidad, estableciendo que a partir de cualquier célula de una planta es posible

regenerar a un individuo completo; para las plantas, la diferenciación celular implica una serie de señales bioquímicas y fisiológicas en donde cada célula diferenciada emerge de un meristemo indiferenciado. Por medio del uso de estas herramientas, se pueden obtener células indiferenciadas en forma de callos y células en suspensión, de igual modo, es factible lograr cultivos de órganos como brotes y/o raíces (St- Pierre, B., *et al.*, 1999; Calva, G., y Pérez, J., 2005; Trejo, G., y Rodríguez, M., 2007).

Los cultivos de células no diferenciadas presentan velocidades de crecimiento mayores a los de células diferenciadas u órganos (raíces y brotes); además, los procesos de transferencia de masa son más eficientes y pueden desarrollarse cultivos con densidades celulares más elevadas, lo que representa ventajas para el desarrollo, control y manipulación de procesos a escala industrial (Trejo, G., y Rodríguez, M. 2007).

## 2. Usos y aplicaciones

Un cultivo en suspensión se desarrolla mediante la transferencia de la porción relativamente fiable de un callo en medio líquido y se mantiene en condiciones adecuadas de aireación, agitación, luz, temperatura y otros parámetros físicos (Chattopadhyay, S., *et al.*, 2002). Los cultivos en suspensión de células son particularmente adecuados para estudios fisiológicos, bioquímicos y moleculares del proceso de embriogénesis somática y sus diferentes etapas: desarrollo de inducción, maduración y la conversión (Lantcheva, A., *et al.*, 2006). Debido a que están conformados de poblaciones uniformes de



células que pueden ser crecidas en condiciones controladas, estos sistemas pueden ser utilizados para el establecimiento de procesos confiables y reproducibles a nivel reactor (Gómez, L., *et al.* 2014). Los resultados de las recientes investigaciones indican que las células en suspensión de plantas se pueden utilizar para la producción de proteínas recombinantes en condiciones controladas (Mulabagal, V. and Hsin-Sheng, T., 2004). Otros estudios han utilizado los cultivos de células en suspensión de maíz, transformadas para expresar las cadenas con sentido o antisentido de la hemoglobina cebada para sobreexpresar sin expresar la hemoglobina Clase 1 (Dordas, C., *et al.*, 2004).

Los cultivos celulares tienen diferentes aplicaciones; Gomes-Junior, *et al.* (2006), realizó estudios sobre cultivos celulares de café, para poder comprobar el efecto de la concentración Cd. Por todo lo dicho anteriormente, se puede establecer que existe una necesidad urgente de desarrollar sistemas de micropropagación, callos y cultivos de raíz, para proporcionar material vegetal para fomentar los estudios sobre la producción de plantas, fitoquímico y análisis farmacológico (Catapan, E., *et al.*, 2002).

### 3. Micropropagación

La micropropagación se utiliza como un sistema biotecnológico avanzado para la producción de plantas idénticas libres de patógenos, sin embargo, está técnica es costosa, debido a que requiere una manipulación manual intensiva en diversas fases de su cultivo (Ziv, M., 2000). La propagación vegetativa de plantas es una metodología que permite la multiplicación masiva de plantas en espacios y tiempos reducidos; esta técnica puede conseguirse por medio de tres vías: a) a través de la proliferación de yemas axilares, en donde se promueve el crecimiento de yemas latentes o activas, de tal manera que puedan producir un tallo o tallos múltiples de forma indefinida a través de subcultivos periódicos; b) por inducción de yemas o brotes adventicios, consiste en la inducción de tallos, hojas, tubérculos, cormos, bulbos, rizomas o estructuras florales a partir de brotes, raíces, bulbos adventicios y otros estructuras similares, resultando en un sistema de multiplicación mayor en comparación con la propagación por proliferación de yemas axilares; finalmente, c) por embriogénesis somática, siendo el sistema de mayor potencial para la propagación clonar rápida, obteniendo miles de embriones

somáticos a partir de unos pocos gramos de callo o de pocos mililitros de una suspensión celular (Roca, W. y Ramírez, H., 2000).

Los protocolos de micropropagación optimizados ofrecen la posibilidad de utilizar técnicas celulares, cultivos de órganos vegetales para propagación y estudios de metabolitos primarios y secundarios (Catapan, E., *et al.*, 2000).

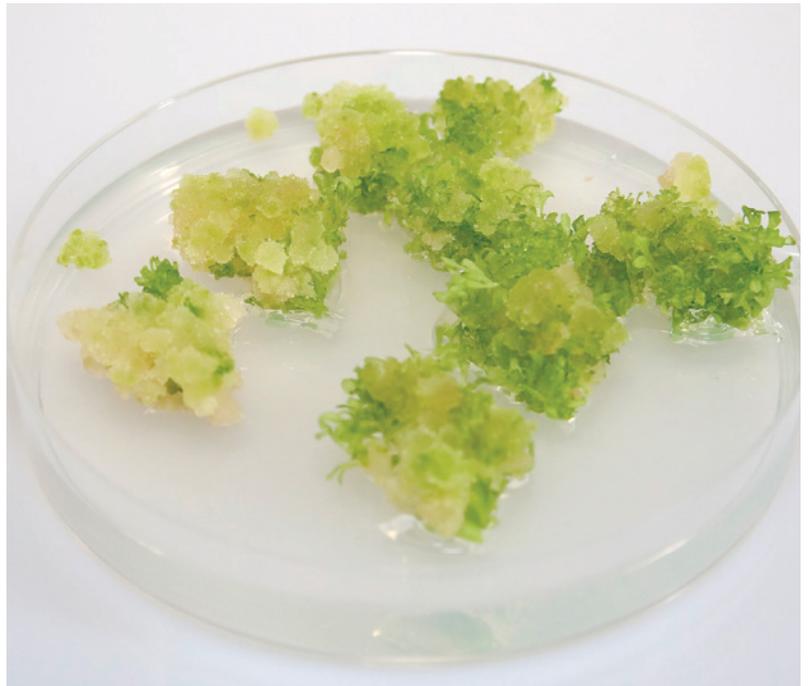
### 4. Cultivo de callos

El callo es una masa de células proliferadas sin ninguna diferenciación significativa. Un callo se puede obtener de cualquier parte de la planta; para maximizar



la formación de un compuesto particular, es deseable iniciar el callo de la parte que contenga células en división (Chattopadhyay, S., *et al.*, 2002).

El cultivo de callos puede ser obtenido a partir de reguladores del crecimiento, la mayoría de los medios de cultivo contienen una auxina y una citoquinina, que ayudan a mantener el crecimiento celular y promueven la división celular, generalmente en concentraciones de 10 QM (Franklin, C. and Dixon, R. 1994). Los requerimientos nutricionales del callo también han sido bien estudiados, desde los que han cambiado de componentes naturales hasta los nutrientes sintéticos (Matsumoto, T., *et al.*, 1971). La naturaleza del callo producido depende de la fuente del explante y el medio de cultivo (Le Roux, J. y Van Staden, J., 1991). El crecimiento del callo puede requerir niveles más bajos de auxina de los necesarios, a menudo, los niveles bajos de auxina o su omisión, puede producir organogénesis (Franklin, C., y Dixon, R., 1994). Muchos factores pueden influir en la eficiencia de un procedimiento de callogénesis; los factores principales que determinan la respuesta del cultivo de tejido y otros cultivos recalcitrantes incluyen genotipo, planta donante, el tipo de reguladores de crecimiento, el tipo de azúcar y el medio de cultivo (Michel, Z., *et al.*, 2008). Behbahani, M., *et al.* (2011), probó la influencia de la luz sobre el crecimiento del callo, encontrando que el efecto favorable de la oscuridad en el crecimiento se podría explicar por la supresión de los daños foto-oxidativos debido a la ausencia de los carotenoides.



## 5. Obtención de metabolitos

El cultivo de células vegetales ha surgido como una alternativa para la obtención de metabolitos de interés, en especial cuando las plantas silvestres requieren largos periodos de cultivo, tienen rendimientos de metabolitos secundarios bajos o no se cuenta con procesos de síntesis química. En este sistema, la producción es independiente de factores externos, como disponibilidad de tierra, clima, y condiciones geopolíticas; además, es posible controlar las condiciones de cultivo (Arias, M., *et al.*, 2009). Debido a que la función principal de los metabolitos secundarios de las plantas es para protegerlas de ataques de insectos herbívoros, patógenos o para sobrevivir al estrés abiótico y biótico, se han generado nuevas estrategias para aumentar el rendimiento de tales metabolitos, éstas incluyen: tratamiento con diversos inductores, compuestos señales y estrés abiótico (Zhao, J., *et al.*, 2005).

El cultivo de células *in vitro* ofrece una ventaja para la síntesis de proteínas en situaciones extrañas, puesto que pueden ser diseñados para producir proteínas de uso terapéutico, incluyendo anticuerpos monoclonales, proteínas antigénicas que actúan como inmunógenos, albúmina de suero humano, interferón, proteína inmuno-anticonceptiva, ribosoma inactivador tricosantina, drogas antihipertensivas, hemoglobina humana, entre otras (Vanisree, M., *et al.*, 2004).

Las plantas contienen una enorme diversidad de compuestos químicos, distintos a los compuestos intermedios y de los productos del metabolismo primario, que varían de acuerdo con la familia y especie; éstos hacen una importante contribución a los olores, sabores y colores específicos de la planta (Bennett, R. y Wallsgrove, R., 1994).

Las plantas medicinales son la fuente más exclusiva de medicamentos que salvan la vida de la mayoría de la población mundial. Los compuestos bioactivos extraídos de las plantas actualmente se utilizan como aditivos alimentarios, pigmentos, colorantes (como la curcumina, que se ha utilizado principalmente como colorante de alimentos), insecticidas, cosméticos, perfumes y productos de química fina (Kaminaga, Y., *et al.*, 2003; Mulabagal, V. y Hsin-Sheng, T., 2004). Los metabolitos secundarios de las plantas suelen clasificarse en función de sus rutas biosintéticas, las tres grandes familias moleculares generalmente consideradas son: fenólicos, terpenos y esteroides, y alcaloides (Bourgaud, F., *et al.*, 2001).

Los metabolitos primarios, tales como los fitosteroles, lípidos acilo, nucleótidos, aminoácidos y los ácidos orgánicos que están presentes en todas las plantas, realizan funciones metabólicas que son esenciales. (Croteau, R., Kutchan, T., y Lewis, N., 2000). La producción de metabolitos secundarios es a menudo variable de un ciclo de subcultivos a otro. Después de un tiempo (varias semanas a varios años) se produce la estabilidad genética del callo, que puede ser considerado como un agregado celular homogéneo (Bourgaud, F., *et al.*, 2001).

## Conclusiones

Los cultivos de células vegetales son una alternativa atractiva para la generación de diferentes metabolitos de interés, con la ventaja de poder obtenerlos en condiciones controladas, donde se puedan manipular la producción, cantidad y calidad de los productos de interés. Esta herramienta es sumamente útil cuando las plantas tienden a ser caducifoleas y los extractos de interés provienen de sus hojas, flores o frutos, por lo que el cultivarlos bajo

estas condiciones, le garantizaría que la producción del metabolito de interés no se vea afectada por las condiciones externas.



## Referencias

- Arias, M., Aguirre, A., Angarita, M., Montoya, C. y Restrepo, J. (2009). *Aspectos ingenieriles del cultivo in vitro de células vegetales para la producción de metabolitos secundarios*. Dyna. 76(157): 109-121.
- Behbahani, M., Shanehsazzadeh, M. and Javad, M. (2011). "Optimization of callus and cell suspension cultures of *Barringtonia racemosa* (Lecythidaceae family) for lycopene production". *Scientia Agricola*. 68(1): 69-76.
- Bennett, R., Wallsgrave, R. (1994). "Secondary metabolites in plant defence mechanisms". *New phytologist*. 127(4): 617-633.
- Benítez, I., Venegas, P., Meléndez, A., Heredia, F., Paredes, O. and Del Villar, A. (2014). "Callus cultura development of two varieties of *Tagetes erecta* and carotenoid production". *Electronic Journal of Biotechnology*. 17(3): 107-113.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S. and Gontier, E. (2001). "Production of plant secondary metabolites: a historical perspective". *Plant Science*. 161(5): 839-851.
- Calva, G. y Pérez, J. (2005). "Cultivo de Células y Tejidos vegetales: Fuente de alimentos para el futuro", *Revista Digital Universitaria*, 6(11): 2-16.
- Catapan, E., Fleith, M., & Viana, A. (2000). "In vitro cultura or *Phyllanthus stipulatus* (Euphorbiaceae)". *Brazilian Journal of Botany*. 24(1). 25-34.
- Catapan, E., Luís, M., da Silva, B., Netto, F., & Viana, A. (2002). "Micropropagacion, callus and root cultura of *Phyllanthus urinaria* (Euphorbiaceae)". *Plant cell, tissue and organ culture*. 70(3): 301-309.
- Chattopadhyay, S., Farkya, S., Srivastava, A. and Bisaria, V. (2002). "Bioprocess Considerations for Production of Secondary Metabolites by Plant Cell Suspension Cultures". *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 7(3): 138-149.
- Croteau, R., Kutchan, T., and Lewis, N. (2000). "Natural products (secondary metabolites)". *Biochemistry and molecular biology of plants*. 24: 1250-1319.
- Dordas, D., Hasinoff, B., Rivoal, J and Hill, R. (2004). "Class-1 hemoglobins, nitrate and NO levels in anoxic maize cell-suspension cultures". *Planta*. 219(1): 66-72.
- Franklin, C. and Dixon, R. (1994). *Initiation and maintenance of callus and cell suspension cultures. Plant cell cultures a practical approach*, 2<sup>nd</sup> edn. IRL Press, Oxford: 1-25.
- Gomes, R., Moldes, C., Delite, F., Pompeu, G., Gratao, P., Mazzafera, P., Lea, P. and Azavedo, R. (2006). "Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium". *Chemosphere*. 65 (8): 1330-1337.
- Gómez, L., Moreno, B., Velásquez, M., Aguirre, C., y Aguado, G. (2014). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37(2): 165-179.
- Halliwell, B. (2014). "Cell culture, oxidative stress, and antioxidants: avoiding pitfalls". *Biomedical Journal*, 37(3): 99-103.
- Iantcheva, A., Vlahova, M., Atanassov, A., Duque, A., Araújo, S., dos Santos, D., and Fevereiro, P. (2006). "Cell Suspension cultures". *Medicago truncatula handbook*, Version November 2006: 1-12.
- Kaminaga, Y., Nagatsu, A., Akiyama, T., Sugimoto, N., Yamzaki, T., Maitani, T., and Mizukami, H. (2003). "Production of unnatural glucosides of curcumin with drastically enhanced water solubility by cell suspension cultures of *Catharanthus roseus*". *Febs Letters*. 555(2): 311-316.
- Kamo, K., Chen, J., and Lawson, R. (1990). "The Establishment of Cell Suspension Cultures of *Gladiolus* That Regenerate Plants". *In vitro Cellular & Developmental Biology*, 26(4): 425-430.
- Matsumoto, T., Okunishi, K., Nishida, K., Noguchi, M., and Tamaki, E. (1970). "Studies on the Culture Conditions of Higher Plant Cell in Suspension Culture". *Agricultural and Biological Chemistry*. 35(4): 543-551.
- Michel, Z., Hilaire, K., Mongomaké, K., Georges, A., and Justin, K. (2008). "Effect of genotype, explants, growth regulators and sugars on callus induction in cotton (*Gossypium hirsutum* L)". *Australian Journal of Crop Science*, 2(1): 1-9.
- Mulabagal, V., and Hsin-Sheng, T. (2004). "Plant Cell Cultures-An Alternative and Efficient Source for the Production of Biologically Important Secondary Metabolites". *International Journal of Applied Science and Engineering*. 2(1): 29-48.
- Le Roux, J., and Van Staden, J. (1991). "Micropropagation and tissue culture or Eucalyptus- a review". *Tree Physiology*. 9(4): 435-477.
- Pasqua, G., Avato, P., Monacelli, B., Santamaria, A. and Argentieri, M. (2003). "Metabolites in cell suspension cultures, calli, and in vitro regenerated organs of *Hypericum perforatum* cv. Topas". *Plant Science*, 165(5): 977-982.
- Roca, W., y Ramírez, H. (2000). "Introducción a la Biotecnología Vegetal". CEDAF. Sección 2. *Cultivo de Tejidos Vegetales*: 19-33.
- St-Pierre, B., Vázquez, F., and De Luca, V. (1999). "Multicellular Compartmentation of *Catharanthus roseus* Alkaloid Biosynthesis Predicts Intercellular Translocation of a Pathway Intermediate". *The Plant Cell*. 11: 887-900.
- Trejo, G., y Rodríguez, M. (2007). "La agregación celular en la producción de metabolitos secundarios en cultivos vegetales in vitro". *Iterciencia*. 32(10): 669-674.
- Vanisree, M., Lee, C., Lo, S., Manohar, S., Yih Lin, C. and Tsay, H. (2004). "Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue cultures". *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. 45(1): 1-22.
- Zhao, J., David, L., and Verpoorte, R. (2005). "Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites". *Biotechnol Advances*. 23: 285-333.
- Zhong, J. (2001). "Biochemical engineering of the production of plant-specific secondary metabolites by cell suspension". *Springer Berlin Heidelberg*: 1-26.
- Ziv, M. (2000). "Bioreactor Technology for plant micropropagation". *Horticultura reviews*. 24: 1-24.