

Lilia Guadalupe Tamayo Torres y Kelly Maribel Monja Mio

# El destino *in vitro* de una célula vegetal

El cultivo *in vitro* permite obtener miles de plantas a partir de un fragmento vegetal dentro de un recipiente en un medio artificial. ¿Qué ocurre en el interior de las células de este fragmento para que cambien su destino celular y tomen el camino hacia la formación de una planta? En este artículo describimos los factores clave involucrados en el desarrollo *in vitro* de tejidos y órganos vegetales.

Las plantas poseen una extraordinaria habilidad de regeneración, característica que permite que, a partir de un fragmento vegetal (llamado explante), puedan producirse muchas plantas dentro de un recipiente en un medio artificial. Sin embargo, incluso después de mucho tiempo de estudio, existen diversas interrogantes que no han sido resueltas. ¿Qué ocurre en el interior de las células de este fragmento para que cambien su destino celular y tomen el camino hacia la formación de una planta? ¿Todas las células del explante son capaces de originar una nueva planta?

Básicamente, el cultivo *in vitro* consiste en cultivar un explante dentro de un recipiente que contiene un medio nutritivo de composición química definida, en condiciones asépticas, bajo luz y temperatura controladas. En este artículo abordaremos cómo se pueden obtener plantas a partir de las **células somáticas**, las cuales conforman el tejido del explante. En estas células ocurrirá una serie de eventos que conducirán al desarrollo de tejidos y órganos de una planta; dicho proceso es conocido como morfogénesis *in vitro*. A continuación describimos las rutas morfogénicas, algunos de los factores involucrados en la morfogénesis *in vitro*, y las condiciones del cultivo *in vitro* que pueden cambiar el destino de una célula vegetal.

## Células somáticas

Todas aquellas células que forman parte del cuerpo de una planta.

## Las rutas de la morfogénesis *in vitro*

En el cultivo *in vitro*, las células que conforman el tejido del explante (células somáticas) podrán seguir dos rutas morfogénicas alternativas: la organogénesis o la embriogénesis somática. La primera consiste en la formación de una **estructura monopolar** que da origen a un órgano (un brote o una raíz) y que se conecta con el explante. En cambio, la embriogénesis somática es la formación de estructuras bipolares (embriones somáticos), con meristemos de brote y de raíz, que permiten

## Estructura monopolar

Estructura que da origen a un órgano, ya sea un brote o una raíz.



**Embrión cigótico**  
 Futura planta que proviene de la unión de un gameto femenino y uno masculino.

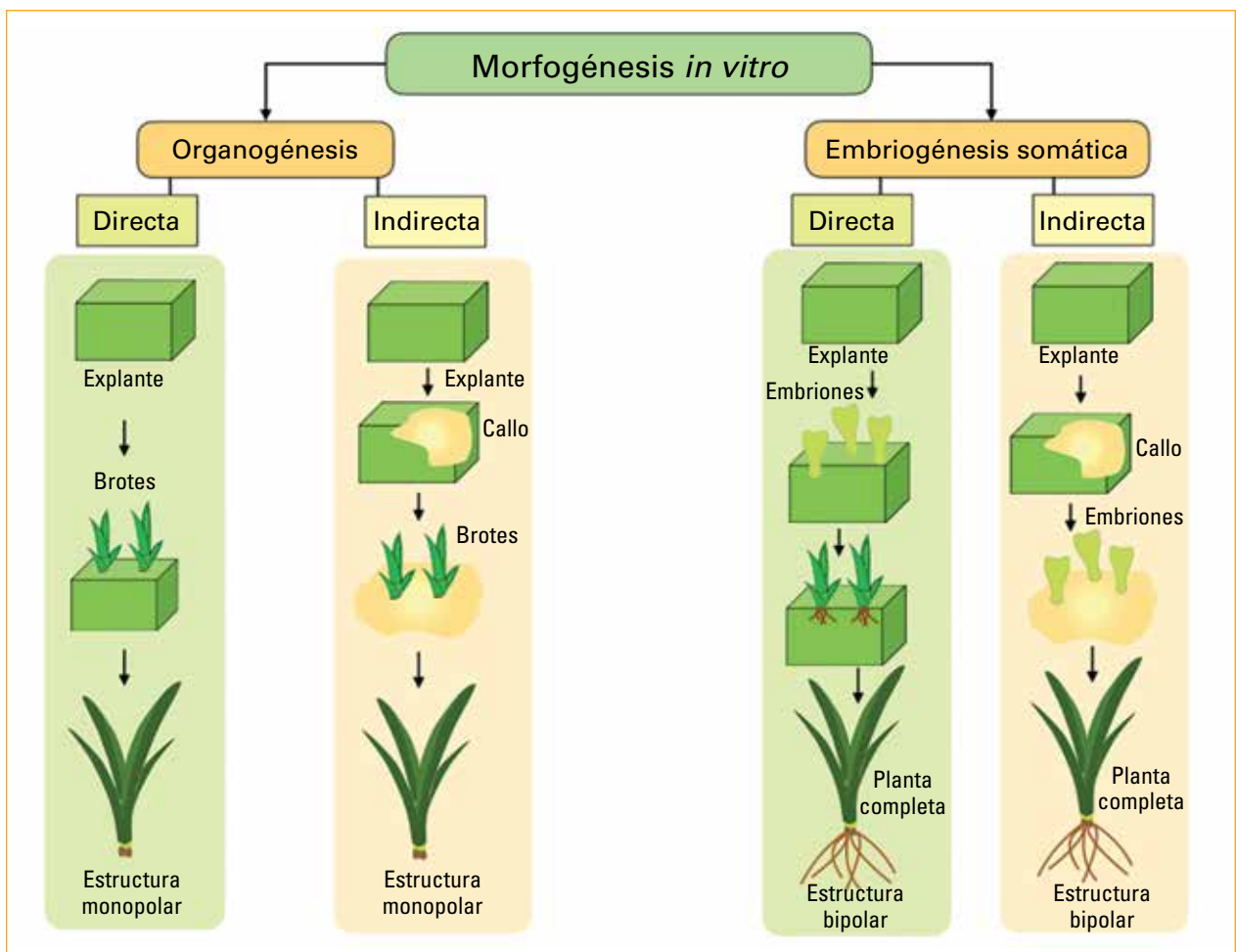
el desarrollo de un organismo completo; a diferencia de la organogénesis, no hay una conexión con el explante. Un embrión somático es muy similar a un **embrión cigótico**, sólo que, a diferencia de éste, el primero no se generó a partir de la fecundación (unión de las células sexuales), sino a partir de una célula somática.

Ambas vías morfológicas pueden darse de forma directa o indirecta. En la primera, los órganos (brote o raíz) o los embriones somáticos son obtenidos directamente del explante; mientras que, en la segunda, después de ser cultivado, el explante primero genera una masa de células denominada callo, la cual después dará origen a un órgano o embrión (véase la Figura 1).

Independientemente de la forma directa o indirecta, estas dos rutas tienen diferentes etapas en las cuales son necesarias ciertas condiciones para lograr

un desarrollo exitoso. En el caso de la formación de brotes (organogénesis), luego de la inducción, etapa en la que se determinan las condiciones necesarias para generar una respuesta del explante, se forman nuevos nichos de células meristemáticas que conllevan al desarrollo del brote y, posteriormente, en otra etapa, se forma la raíz. Por otra parte, en la embriogénesis somática, luego de la inducción, se forman los embriones somáticos, los cuales pasarán por diferentes estados de desarrollo, hasta que finalmente se conviertan en plantas.

- **Todo comienza en un recipiente: una mezcla de factores**
- El desencadenamiento de ambos procesos morfológicos tiene en común que provienen de una mez-



**Figura 1.** Rutas morfológicas: organogénesis y embriogénesis somática.

cla de factores en un recipiente. Entre los factores más importantes están: el material vegetal (el explante de la planta donadora), los reguladores de crecimiento (endógenos y exógenos) y el estrés ocasionado por el corte del explante y por las mismas condiciones del cultivo *in vitro* (véase la Figura 2). A continuación describiremos cada uno de ellos.

#### El material vegetal (explante de la planta donadora)

El explante es el pedacito de tejido tomado de la planta donadora, y es una parte fundamental para un exitoso establecimiento *in vitro*, ya que se ha documentado que la respuesta dependerá de diversos factores, como el tipo de tejido, el estado de desarrollo de la planta donadora (juvenil o maduro) y hasta el propio genotipo de la planta.

Una amplia variedad de tejidos –hojas, tallos, raíces y meristemas– se puede utilizar para los explantes

y éstos pueden ser capaces de regenerarse en un órgano (brotes o raíces) o en un organismo entero (embrión somático), bajo las condiciones de cultivo *in vitro* adecuadas. El estado de desarrollo de la planta también es importante, ya que se ha documentado que las plantas jóvenes son una mejor fuente de explantes, debido a que son más vigorosas, presentan más tejido en crecimiento y contienen menos microorganismos que una planta adulta.

Ahora, si tomamos el mismo explante, pero de diferentes especies, ¿la respuesta será igual? No precisamente. Se ha comprobado mediante la experimentación que, si tomamos un mismo tejido, pero de diferentes plantas de la misma especie, y lo sometemos a las mismas condiciones de cultivo, éste puede responder de diferentes maneras. Lo anterior se debe al genotipo, que se refiere a toda la información genética que existe en las células, la cual determina las

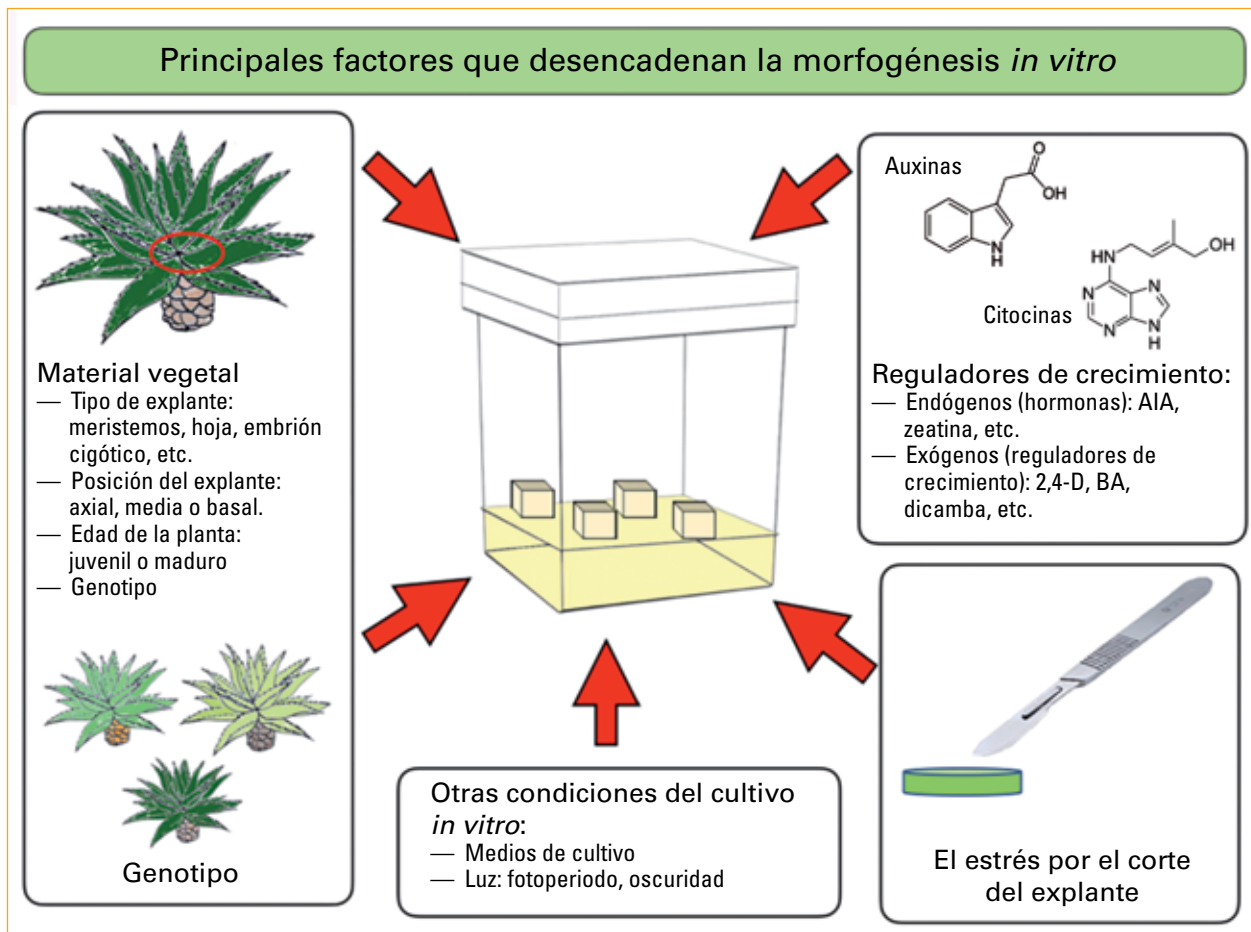


Figura 2. Factores que desencadenan la morfogénesis *in vitro* vegetal.

características morfológicas y fisiológicas de un organismo. Cada variedad de planta tiene un genotipo único, el cual regula su respuesta a las condiciones de cultivo *in vitro*, principalmente con relación a los reguladores de crecimiento; por ello, es importante determinar las condiciones que favorecen el crecimiento y desarrollo de cada especie vegetal, incluso para variedades de una misma especie.

**Reguladores de crecimiento vegetal**

Estas sustancias actúan sobre el desarrollo de las plantas y pueden ser producidas por ellas mismas (llamadas endógenas o comúnmente conocidas como hormonas vegetales), o bien pueden ser de origen sintético y ser agregadas al medio de cultivo (sustancias exógenas, denominadas por lo general como reguladores de crecimiento sintéticos). En la Tabla 1 se describen los principales grupos de reguladores de crecimiento vegetal, tanto naturales como sintéticos.

La concentración de estas sustancias es otro factor importante en el desarrollo de las rutas morfogénicas, ya que participan en la respuesta del explante. La concentración y el tipo de reguladores exógenos empleados determinarán la ruta morfogénica; sin

embargo, debemos considerar que el contenido endógeno de hormonas del explante también influye en la respuesta.

Los reguladores exógenos más utilizados en la morfogénesis *in vitro* son las auxinas y las citocininas (véase la Tabla 1). En general, para la inducción de la organogénesis, se utiliza una combinación de estos reguladores, mientras que para inducir la embriogénesis somática sobre todo se utilizan altas concentraciones de auxinas. El 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) es una de las auxinas exógenas más utilizadas para ambas rutas morfogénicas, ya sea sola o en combinación con otros reguladores del crecimiento.

**El estrés del cultivo *in vitro***

Las condiciones en las que se lleva a cabo el cultivo *in vitro*, como el corte del explante y el uso de reguladores de crecimiento sintéticos, actúan como estímulos en las células del explante y provocan una serie de alteraciones. La respuesta de las células ante estos estímulos es lo que conocemos como el estrés del cultivo *in vitro*.

Se ha señalado que el corte del explante produce un estrés en el tejido, lo que puede ser un paso

**Tabla 1.** Principales grupos de reguladores de crecimiento vegetal.

Grupos	Endógenos: hormonas	Exógenos: reguladores de crecimiento sintético
Auxinas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ácido indol – 3- acético (AIA)</li> <li>• 4- Cloro- AIA (4 Cl-AIA)</li> <li>• Ácido fenilacético</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D)</li> <li>• Ácido Naftalenacético (ANA)</li> <li>• Ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico (Dicamba)</li> <li>• 2,4,5 triclorofenoxiacético (2,4,5-T)</li> <li>• Ácido 4 amino-3,5,6- tricloropicolínico (Picloram)</li> <li>• Ácido Indol-3-butírico (AIB)</li> <li>• Ácido 4-Clorofenoxiacético</li> </ul>
Citocininas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zeatina (trans y cis)</li> <li>• Dihidrozeatina</li> <li>• Isopentil-adenina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kinetina</li> <li>• Benciladenina (BA)</li> <li>• Tidiazuron (TDZ)</li> </ul>
Giberelinas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• GA<sub>n</sub> = 1.....+ 130</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• GA<sub>3</sub></li> <li>• GA<sub>4+7</sub></li> </ul>
Ácido abscísico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ABA: Ácido abscísico</li> </ul>	
Etileno	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etileno</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ethephon (Ethrel)</li> </ul>



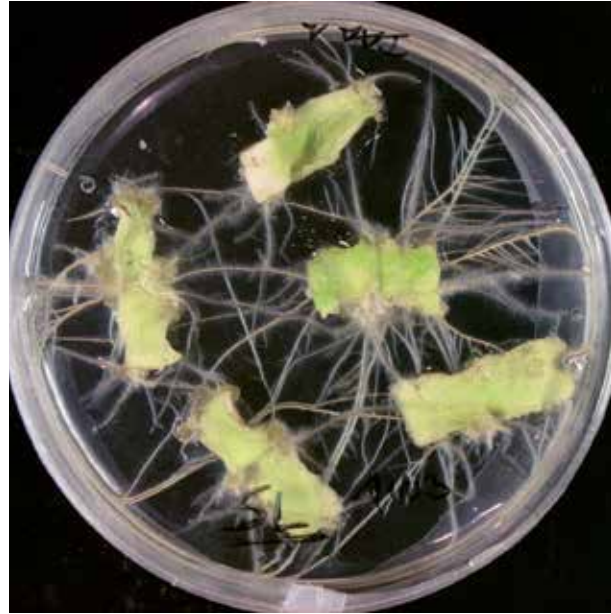
importante para romper la comunicación celular, ya que aísla a las células y las libera de su **programa genético**. Además, se ha documentado que cuando se corta el explante existe una concentración de reguladores endógenos en la zona cortada, lo cual permite la activación de una serie de señales, entre las que se puede incluir la expresión o represión de ciertos genes involucrados en el desarrollo morfogénico; esto conduce al cambio del destino celular.

Entonces, la respuesta del explante hacia una ruta morfogénica va a depender no sólo de los estímulos exógenos (corte del explante, reguladores de crecimiento sintéticos), sino también de los endógenos (hormonas vegetales). Estos estímulos hacen que las células del explante respondan y cambien su destino.

### El destino de una célula vegetal: ¿qué ocurre en el interior de las células?

En general, la regeneración de las plantas mediante rutas morfogénicas ocurre en tres fases consecutivas: la pérdida de la identidad celular, la adquisición de la competencia y la realización. En la primera, las células pierden sus funciones especializadas de un tipo celular, tal como si perdieran la memoria. En la segunda fase, adquieren la competencia morfogénica, que tiene una relación directa con el tipo, la concentración y la combinación de reguladores del crecimiento agregados al medio de cultivo. En este paso las células adquieren capacidades (**pluripotencia** o **totipotencia**) y pueden responder a las señales exógenas que las estimulan y conducen hacia una ruta morfogénica. En la tercera fase ocurren sucesivas divisiones celulares y la formación del órgano o embrión.

Entonces, lo primero que las células necesitan para empezar el programa de regeneración es liberarse de aquello para lo que fueron programadas genéticamente. El estrés causado por el corte del explante da como resultado la pérdida de la comunicación entre las células del tejido. Al perder las interacciones celulares, éstas podrían quedar excluidas de la restricción de su destino impuesta por sus células vecinas. Además, el estrés de la herida induce la acu-



### Programa genético

Información que se encuentra en el ADN y marca la identidad, características y función de una célula.

mulación local de reguladores de crecimiento endógenos en el sitio del corte y modifica la biosíntesis de estos reguladores, lo cual provoca cambios en el estado de diferenciación de las células. No todas las células del explante o del callo van a responder a las señales. Tampoco todas las células del explante o callo van a ser pluripotentes o totipotentes; es decir, no todas las células van a originar a un órgano (pluripotencia) o a un embrión somático (totipotencia). La habilidad de las células para iniciar un programa de regeneración dependerá de si tienen la maquinaria molecular para liberar el programa de desarrollo en respuesta a las señales de estrés.

### ¿Cómo ocurre la reprogramación genética de las células?

En cualquier programa morfogénico, las células deben abandonar el programa de su tejido original e iniciar una reprogramación genética, que resulta en la adquisición de la competencia para cambiar su destino celular (véase la Figura 3).

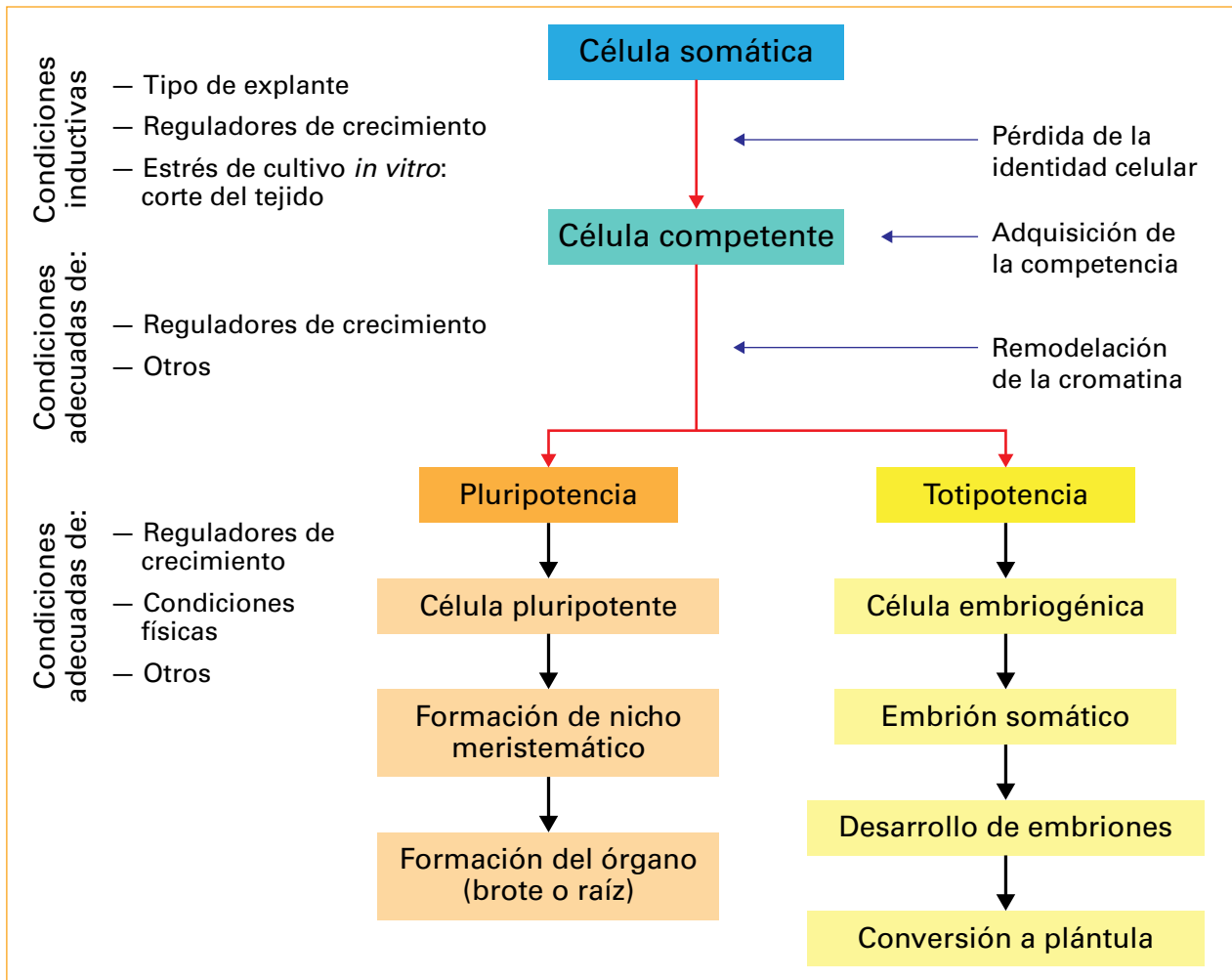
Los mecanismos que confieren flexibilidad a las células vegetales para regenerar una planta, aún son poco conocidos. Algunos autores sugieren que la remodelación de la cromatina puede ser la base de la plasticidad de los cambios en el destino celular.

### Pluripotencia

Capacidad de una célula madre para originar a la mayoría de células, pero no a todos los diferentes tipos de células que conforman el cuerpo de un organismo.

### Totipotencia

Capacidad de una célula para originar a todos los tipos de células que conforman a un organismo. Una célula puede pasar por todas las etapas de desarrollo y convertirse en un organismo completo.



**Figura 3.** Transición de una célula somática a una célula pluripotente o totipotente.

Esta estructura compleja y dinámica se encuentra en el núcleo de la célula y está compuesta por el ADN (molécula que contiene la información genética) y por las proteínas que lo empaquetan (denominadas histonas). Diversos estudios han reportado que los mecanismos epigenéticos (aquellas modificaciones que no ocasionan cambios en la secuencia del ADN) pueden alterar la estructura de la cromatina y regular de esta manera la expresión de los genes. Entre estos mecanismos se encuentran la metilación del ADN y la modificación de las histonas. La primera consiste en la adición de grupos metilos a la cadena de nucleótidos, específicamente en las citosinas; mientras que la modificación de las histonas involucra la adición de diferentes radicales químicos, como acetilos (acetilación), metilos (metilación), grupos fosfato

(fosforilación), entre otros, a los aminoácidos de las proteínas.

En respuesta al estrés ocasionado por el cultivo *in vitro*, se lleva a cabo una reprogramación dinámica epigenética en las células, la cual conduce a la reprogramación de la expresión de los genes y al incremento de la plasticidad celular. Diferentes estudios en sistemas de cultivo de tejidos vegetales han reportado que la transición de una célula diferenciada a pluripotente o totipotente está acompañada de cambios epigenéticos. Estos múltiples modificadores de la cromatina se entrelazan para coordinar la transición del destino celular y el establecimiento de la pluripotencia o totipotencia. Posiblemente, durante el cambio del destino celular, se requiera de la **descondensación** de la cromatina para permitir la

**Descondensación**  
Cambio en la organización del ADN para encontrarse menos compacto.

expresión de genes que se encuentran inactivos o reprimidos, por lo que la remodelación de la cromatina podría resultar en la activación específica de algún grupo de genes requeridos para el desarrollo morfogénico. Hay que recalcar que la activación de los genes y los mecanismos epigenéticos no son los mismos en ambas rutas morfogénicas, aunque algunos sí los comparten ambas.

### En resumen

El estrés ocasionado por las condiciones *in vitro* (corte del explante, reguladores de crecimiento exógenos) permite que las células del explante modifiquen su destino celular. Las respuestas de las células (modificaciones epigenéticas y la expresión de los genes) conducen a una reprogramación celular. En el caso de la organogénesis, algunas moléculas dirigen la formación y el desarrollo de nuevos nichos de células meristemáticas para formar un brote; mientras que, en la embriogénesis somática, las células se reprograman y se vuelven totipotentes, a partir de lo cual generan un embrión que luego de desarrollarse pasará a convertirse en una planta.

### Lilia Guadalupe Tamayo Torres

Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Mérida.

[lilo\\_azul@hotmail.com](mailto:lilo_azul@hotmail.com)

### Kelly Maribel Monja Mio

Proyecto FORDECYT, Centro de Investigación Científica de Yucatán.

[kellymabel@hotmail.com](mailto:kellymabel@hotmail.com)

### Referencias específicas

- Fehér, A. (2015), "Somatic embryogenesis — Stress-induced remodeling of plant cell fate", *Biochimica et Biophysica Acta*, 1849(4):385-402.
- Fehér, A. (2019), "Callus, Dedifferentiation, Totipotency, Somatic Embryogenesis: What These Terms Mean in the Era of Molecular Plant Biology?", *Frontier in Plant Science*, 10:1-11.
- George, E. F., M. A. Hall y G. J. De Klerk (2008), *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3.<sup>ra</sup> ed., Países Bajos, Springer.
- Lee, K. y P. J. Seo (2018), "Dynamic Epigenetic Changes during Plant Regeneration", *Trends in Plant Science*, 23(3):235-247.
- Radhakrishnan, D., A. Kareem, K. Durgaprasad, E. Sreeraj *et al.* (2018), "Shoot regeneration: a journey from acquisition of competence to completion", *Current Opinion in Plant Biology*, 41:23-31.
- Sang, Y. L., Z. J. Cheng y X. S. Zhang (2018), "Plant stem cells and de novo organogenesis", *New Phytologist*, 218:1334-1339.
- Sugimoto, K., H. Temman, S. Kadokura y S. Matsunaga (2019), "To regenerate or not to regenerate: factors that drive plant regeneration", *Current Opinion in Plant Biology*, 47:138-150.
- Verdeil, J., L. Alemanno, N. Niemenak y T. J. Tranbarger (2007), "Pluripotent versus totipotent plant stem cells: dependence versus autonomy?", *Trends in Plant Science*, 12(6):245-252.