

Importancia de los cultivos vegetales *In vitro* para establecer bancos de germoplasma y su uso en investigación

Importance of plant crops *In vitro* to establish germplasm banks and their use in research

Alcántara Cortes JS¹, Castilla Pérez MG², Sánchez Mora RM³

Recibido: 10 de noviembre de 2017

Aceptado: 08 de diciembre de 2017

Resumen

Los cultivos vegetales in vitro aportan en la investigación una gran cantidad de herramientas y técnicas que permiten fortalecer múltiples estudios referentes a temáticas relacionadas con el campo agrícola, la salud, la biología, y la genética, entre otras. Los cultivos vegetales aportan al conocimiento de la morfología y comportamiento bioquímico que presentan las plantas y la utilidad que estos compuestos pueden llegar a tener a nivel farmacológico y médico, tomando, en las últimas décadas, un rol importante como nueva manera de investigación en tratamientos contra varias enfermedades. La presente revisión hace énfasis en la relevancia de los bancos de germoplasma como una manera de fortalecer la preservación y análisis de las diferentes especies vegetales, a partir de las cuales se pueden obtener diversos metabolitos secundarios y además sirven como modelos de estudio para observar las relaciones simbióticas que se pueden generar entre las plantas y los microorganismos a razón de contribuir a mejorar la investigación en el contexto microbiológico.

Palabras claves: Cultivos vegetales, metabolitos secundarios, bancos de germoplasma, especies vegetales.

Abstract

The utility of vegetal tissues cultures in vitro have a relevant impact in the investigative field because can provide multiple tools and techniques to fortify the study of the health, biology, agriculture, genetic, and others. The vegetal tissues culture can be providing to the knowledge about the morphology and biochemical behavior that can present the plants, the utility of this biochemical components can be used in pharmacology and medical field taking an important role in the investigation of different diseases. The present review emphasizing in the relevant of

1. Estudiante de facultad de Ciencias de la Salud. Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico. Semillero de investigación Biotecnología y Genética UCMC

2. Joven Investigadora. Universidad colegio Mayor de Cundinamarca.

3. Docente UCMC

Correspondencia: jalcantara@unicolmayor.edu.co

a germplasm bank as a way to preserve and analyze the variety of vegetal species, from which can be obtaining different secondary metabolites and furthermore, can contribute as a study models for the observation of the different symbiotic relations that may generate between the microorganism and plants and could study to contribute in the deepen of the all investigations in the microbiological field.

Keywords: vegetal tissues culture, secondary metabolites, germplasm bank, vegetal species.

Introducción

La biodiversidad de las especies vegetales estudiadas en el planeta cada vez más se ha ido acrecentando a través de los últimos años, muchas de las plantas que se han estudiado a lo largo del proceso investigativo han demostrado que contienen diferentes características químicas y morfológicas que hacen de estos seres ideales para buscar una alternativa a las diferentes técnicas que se tienen como forma de mejorar los diversos problemas agrícolas, sociales, políticos, ambientales, en el marco de la salud y otros. Así pues, dentro del estudio vegetal se han encontrado: la existencia de múltiples metabolitos secundarios (los cuales forman parte de los compuestos químicos y fisiológicos que producen algunas plantas para llevar a cabo su desarrollo), diferentes microorganismos que han de interactuar con algunas plantas para mejorar su crecimiento; la posibilidad de estudiar, desde la perspectiva agrícola, diferentes técnicas de cultivos vegetales que favorezcan el crecimiento y viabilidad, y por último, la posibilidad de evaluar el efecto analgésico y antimicrobiano que algunas plantas pueden llegar a tener. Por lo anterior, uno de los objetivos principales que la biotecnología vegetal ha podido facilitar, es abrir diferentes formas de estudiar otros campos de investigación en los que aún no se ha profundizado, por medio de la creación de diferentes bancos de germoplasma (conservación vegetal) contribuyendo en el desarrollo investigativo.

Generalidades de los cultivos vegetales in vitro

La propagación in vitro de especies vegetales permite evaluar propiedades específicas a la hora de cultivar cada especie vegetal in vitro. Algunas características pueden ser controladas en el laboratorio para poder determinar su actividad biológica vegetal, por ejemplo, parte del proceso de aclimatación, la velocidad de crecimiento, la viabilidad, la regeneración, etc. Es así como se han desarrollado cultivos in vitro para algunas especies de papa, gerbera, uña de gato y cultivos de café (1–4).

El cultivo de tejidos vegetales in vitro se ha podido desarrollar gracias a la totipotencialidad que tienen las células vegetales (5), permitiendo desarrollar un nuevo ser biológico a partir de algo más simple como un órgano; esta totipotencialidad se ha definido de una mejor forma como la capacidad que tienen las células no diferenciadas (meristemáticas) para llegar a ser diferenciadas y cumplir una función específica dentro del organismo del cual hacen parte (6). En este orden de ideas, se puede definir un cultivo vegetal in vitro como el aislamiento de un órgano o tejido vegetal en un medio específico con nutrientes necesarios, condiciones óptimas y aprovechando las características totipotenciales y fenotípicas altamente estables para maximizar su desarrollo.

Condiciones de un cultivo invitro

Existen múltiples condiciones que el explante (tejido u órgano vegetal) requerirá para poder desarrollarse a lo largo del periodo de siembra, cada una de ellas permitirá que los cultivos vegetales puedan crecer de una mejor manera, sin mencionar el hecho de que estas plantas crecerán en un ambiente diferente al que normalmente se desarrollarían (7). Dentro de las condiciones encontramos:

Esterilidad: El cultivo de las especies vegetales in vitro debe mantenerse altamente desinfectado y libre de agentes patógenos, en lo posible, las condiciones tienen que ser óptimas para evitar que los cultivos puedan contaminarse, por lo que regularmente debe realizarse una desinfección minuciosa dentro del laboratorio al igual que un monitoreo del ambiente que permita conocer la cantidad de UFCs (unidades formadoras de colonias) tanto bacterianas como fúngicas que puedan existir en las diferentes áreas. Algunos estudios han creado modelos que permiten lograr una correcta desinfección de las plantas antes de su propagación, como es el caso de la estandarización realizada por Lozano G., y colaboradores para la especie *Aspidosperma polynerum* (8).

Temperatura: La temperatura ideal para el crecimiento de cultivos vegetales por lo general puede oscilar entre los 25 - 30°C, ideal para que el crecimiento de estos tejidos se pueda dar. Como lo demuestran algunos estudios en los que se cultivaron las especies *Populus tremula* y *Swietenia macrophylla*, dada la especificidad que éstas plantas requieren (9,10).

Humedad Relativa: Los cultivos vegetales in vitro necesitan una humedad relativa entre el 50% y el 80 % frente al ambiente, para que la planta pueda desarrollarse. Según el tipo de características que requiera la planta la humedad puede variar, algunos estudios muestran como la albahaca requiere una humedad

relativa entre el 70% y el 80% (11), mientras que para otros tipos de cultivos, como en el caso del café, la humedad relativa varía entre el 50% y 60% (5).

Ciclo De Luz: Usualmente las plántulas crecidas in vitro deben permanecer durante 18 horas en un ciclo de luz constante y 6 horas de oscuridad para que puedan realizar el intercambio de luz necesario para su crecimiento, como por ejemplo, en el caso del cultivo de la albahaca se emplea principalmente un fotoperiodo de luz como el que se mencionó antes, al igual que el recomendado por la Organización de las Naciones Unidas (11,12).

pH: Debe oscilar entre 5.6 y 5.8 para evitar estrés durante su cultivo. Por ejemplo, los cultivos de caña de azúcar requieren un pH menor, debido a que de forma natural crecen en ambientes más ácidos (12).

Medios de cultivo para vegetales

Sin lugar a dudas uno de los medios de cultivo más recomendado para la siembra de tejidos vegetales a nivel investigativo es el medio Murashige and Skoog (MS) dada la facilidad y poca especificidad que el medio posee; sin embargo, existen otro tipo de medios de cultivo que varían sus concentraciones de macro y micro nutrientes dada la especificidad que el explante requiere para poder desarrollarse, por lo que puede darse el caso de observar una diferencia en el crecimiento y desarrollo vegetal de acuerdo al tipo de medio que sea empleado (13), además de que se ha encontrado que algunos de estos medios pueden generar que los explantes desarrollen metabolitos secundarios específicos, según las concentraciones que cada medio presente de estos nutrientes esenciales (14); así pues, algunos de los medios más empleados a nivel investigativo pueden llegar a ser: el medio Gamborg (G5), el medio White (W), el medio

Para que la planta pueda crecer de manera natural dentro del laboratorio, debe tener a su alcance diferentes factores ambientales claves para su crecimiento. Por esto, la planta debe permanecer en un lugar específico en el que se le puedan suministrar las condiciones favorables, por ello, debe crearse un lugar permanente (fitotrones) en el que la planta pueda permanecer y desarrollarse de manera continua (12,15).

Factores necesarios para el cultivo de tejidos vegetales

La siembra de cultivos vegetales está sujeta a una serie de parámetros y normas para que se pueda dar un buen crecimiento de la planta, debido a que son muchos los factores que influyen en el momento de realizar el cultivo *in vitro* de los explantes, es importante tener en cuenta, en primer lugar, el sitio en el que se lleve a cabo la siembra. El objetivo principal de la siembra es producir un explante libre de patógenos (16) y que además de ello, tenga las características fenotípicas que se requieren para su posterior utilización. Es indispensable desinfectar todos los implementos incluyendo el laboratorio, previamente antes de llevar a cabo la siembra.

Finalmente, se deben establecer una serie de protocolos que especifiquen la desinfección del material vegetal, ya que se debe adaptar el tejido u órgano en cuestión (que se encuentra en un ambiente natural) a las condiciones de asepsia que se requieren para su establecimiento de manera *in vitro*, algunos estudios han demostrado diferentes tipos de desinfección específica; como se puede observar en el caso de la especie *Aspidosperma polyneurom* y *Zephyranthes* (8).

Lo ideal de la siembra de cultivos vegetales es promover la totipotencialidad de las células no diferenciadas, este procedimiento es

posible gracias a la preparación específica de un medio de cultivo que contenga los macronutrientes (N, P, K, S, Ca, Mg, Si) y micronutrientes (Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B, Na) necesarios para el desarrollo de la planta, según algunos de los estudios que se realizaron para la propagación de especies vegetales del género *Solalum* (17), se pudo observar la importancia de emplear la concentración adecuada de estos elementos, teniendo en cuenta el tipo de regulación que la planta requiere según los diferentes reguladores de crecimiento que existen, como lo pueden llegar a ser las auxinas (AIA, AIB), las citoquininas (BAP, KIN) y las giberelinas (GA3); estos compuestos son importantes a la hora de buscar establecer un protocolo para la preparación del medio de cultivo como se ha realizado en algunos estudios para la propagación de la especie *Ugnie molinae turcz* (18), puesto que de ello dependerá el éxito del crecimiento de las plántulas *in vitro*. Así pues, algunos estudios que involucraron algunas especies vegetales pertenecientes a las especies *Gossypium barbadense L*, *Allium sativum L*, *Tabebuia billbergii* y *Ananas comosus*, han demostrado la alta especificidad que cada medio de cultivo requiere según el tipo de técnica y especie que se desee propagar (19–22). Es importante tener en cuenta el tipo de técnica que se emplee durante la siembra según la morfología de la planta que se desee propagar, puesto que hay diferentes técnicas de cultivo *in vitro* y se requieren en algunos casos, mayor experticia en la manipulación.

Técnicas de cultivos *in vitro*

Dentro del cultivo *in vitro* de especies vegetales existen muchas técnicas que permiten lograr el objetivo de cultivar exitosamente un explante, aunque esta consecución dependerá del tipo de planta que se desee propagar de acuerdo a su morfología.

En el campo investigativo, la principal utilidad de los cultivos vegetales se centra en presentar una forma de mantener y controlar las condiciones en que estas plantas pueden desarrollarse, como se ha demostrado en algunos estudios recientes con cultivos fotoautotróficos de células vegetales en suspensión (14); además de controlar condiciones como la temperatura, también se puede calcular el tiempo de velocidad en que estas plantas pueden llegar a crecer mediado por un tipo de hormonas específicas (que puedan mejorar su desarrollo de manera *in vitro*). Otras variables que se pueden controlar son la viabilidad de los explantes y el estrés a los que pueden llegar a ser sometidos por medio del control de luz que estos deben recibir (23). Estas herramientas permitirán al investigador controlar de manera directa las características que pueden llegar a necesitar en el momento de evaluar las condiciones y el estado en que se requiere la planta para la investigación. Se conocen 6 tipos de técnicas de cultivo vegetal dentro de las cuales hay:

Embriogénesis somática directa: En este tipo de propagación, lo que se busca es obtener un nuevo organismo a partir de un embrión vegetal, que puede llegar a ser extraído de cualquier tipo de semilla dicotiledónea. La idea de realizar una embriogénesis directa consiste en aumentar la proliferación de las células madre contenidas en el embrión vegetal. Como lo han descrito algunos estudios relacionados con la especie *Azadirachta indica* A. Juss (23).

Embriogénesis somática indirecta: en este tipo de propagación *in vitro*, usualmente se emplea la siembra de semillas que puedan generar un nuevo individuo, se busca aumentar el proceso de crecimiento vegetal de las semillas y del embrión por medio de la aplicación de algunos reguladores de crecimiento, este método ha sido efectivo para algunos explantes del género *Saccharum spp.* (24).

Organogénesis directa: consiste en la obtención de un nuevo individuo a partir de la siembra de un órgano vegetal, que en este caso puede llegar a ser extraído de un vástago, una hoja e incluso una raíz que presente las características fenotípicamente estables para llevar a cabo su propagación, algunos cultivos de la especie *Jatropha curcas l.* han demostrado la capacidad que esta técnica posee (25).

Organogénesis indirecta: se realiza a partir de la siembra de un tejido vegetal que pueda ser capaz de generar la producción de células meristemáticas, en este caso, lo que se busca es aumentar el número de células vegetales presentes en el medio y que, por medio de estas, puedan generar, un nuevo órgano vegetal que continúe con el proceso de crecimiento. Como se ha empleado para la propagación de algunos tejidos vegetales de la especie *Heliconia collinsiana* GRIGGS (26).

Siembra de meristemas: es la mejor técnica de propagación vegetal *in vitro*, ya que no involucra ningún tipo de desinfección que exponga al explante, en este caso, es la célula meristemática propiamente dicha la que es sembrada en el medio de cultivo, la dificultad de esta técnica depende del tipo de método que se emplee durante la extracción del meristemo, ya que es la parte más importante a la hora realizar dicho procedimiento. Es una técnica que por involucrar directamente a las células vegetales altamente totipotenciales no requiere ningún tipo de desinfección debido a que estas células se encuentran totalmente aisladas y, por ende, 100% libres de agentes patógenos que puedan dificultar la siembra. Algunos cultivos de piña han empleado el uso de esta técnica gracias a la calidad y eficacia que presenta según la morfología que posee esta planta (27), así como también ha sido de gran impacto en algunas especies de café (4). Este procedimiento logra abarcar un gran número de utilidades para la conservación y preservación de especies vegetales (16). Es una de

las técnicas más útiles para ser aplicada en la criopreservación de especies vegetales gracias a la manipulación y viabilidad con la que es posible controlar el desarrollo de los tejidos vegetales, esto ha sido demostrado en algunos estudios referentes a la preservación de algunas plántulas de cedro (28).

Micropropagación: consiste en la propagación de plántulas *in vitro*, es un método que únicamente requiere de un banco de germoplasma previo para su realización.

Todas y cada una de estas técnicas pueden ser utilizadas para llevar a cabo la siembra de tejidos vegetales de la mayor parte de las especies vegetales. Estas a su vez, deben cumplir, si lo requieren, de un tipo de adaptación que permita continuar el proceso de crecimiento desde una fase *in vitro* hasta una fase *ex vitro*, para que con ello se pueda culminar el proceso de crecimiento natural de los explantes. Algunos estudios implicados en la preservación de tejidos vegetales de frailejones resultaron útiles para la correcta propagación y conservación de esta especie vegetal en peligro de extinción (29).

Usos de los cultivos *in vitro* de vegetales

El cultivo de tejidos vegetales *in vitro* en el campo investigativo puede ayudar a cumplir

múltiples objetivos específicos: el primero, es la posibilidad de estudiar los metabolitos secundarios presentes en diferentes especies vegetales capaces de ser usados en la creación de nuevos antibióticos o fármacos que puedan contribuir al tratamiento de enfermedades, como se ha sugerido en algunas investigaciones que mencionan la posibilidad de extraer algunos metabolitos secundarios por medio de técnicas de purificación y extracción, como los estudios realizados con *Annona muricata* y *Whiteringia coccoloboides* en el modelo de *C. elegans* (30). Otro objetivo es la manipulación de especies vegetales agrícolas para el mejoramiento de la calidad en el ámbito de la industria, como en el caso del plátano bocadillo, el cual para la industria colombiana presenta una gran utilidad a nivel comercial en el ámbito biotecnológico, esta especie se ha podido cultivar de una manera mucho más controlada (31). También, ha permitido evaluar las relaciones simbióticas que realizan con los microorganismos presentes en ellas. Otras investigaciones como en el caso de la papa y su relación con el crecimiento de *Petrobacterium atrosepticum*, ha sugerido que ésta realiza una interacción entre la raíz y un tipo específico de compuestos bioquímicos que secreta la planta para su mutuo desarrollo (32). Además, la implementación de fitohormonas específicas permite obtener un mejor crecimiento de las plantas en comparación a su crecimiento tradicional (Ver figura. No 2).



Figura 2. Esquema que muestra las utilidades de la propagación de tejidos vegetales *in vitro*.

Fuente. Autores.

Utilidad de los metabolitos secundarios para la investigación

Todas las especies vegetales presentan dentro de su funcionamiento la creación de dos tipos de metabolitos: los metabolitos primarios son aquellos procesos químicos producidos por las plantas que intervienen de forma directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción de la misma, como lo pueden llegar a ser la fotosíntesis, la respiración, la síntesis de proteínas, etc., mientras que los metabolitos secundarios son todos aquellos compuestos que aunque no son esencialmente importantes para las funciones vitales de la planta, juegan un rol importante en la supervivencia de los ecosistemas, algunos de estos compuestos pueden cumplir funciones de defensa (33).

Es por esto que la producción y evaluación de metabolitos debería considerarse como una prioridad, ya que de esta manera se podría obtener más información que exprese el comportamiento bioquímico del proceso de producción del metabolito. Igualmente, la propuesta de creación de bancos de germoplasma permitirá contener un buen número de especies vegetales capaces de aportar múltiples usos en el campo de la salud, que no están limitados únicamente al estudio de la producción de metabolitos secundarios, como se ha evidenciado en algunos cultivos de plantas específicas dentro de las cuales se encuentra la especie *Ipomoea carnea* spp. (34).

Por último, las diferentes investigaciones referentes a la propagación in vitro de tejidos vegetales han tomado un nuevo rumbo hacia la modificación y mejoramiento genético de diferentes especies vegetales, gracias al desarrollo de nuevas técnicas de suspensión celular y la evolución de la organogénesis indirecta, se ha podido trabajar en el desarrollo del perfeccionamiento genético de estos explantes, buscando una mejora en las caracte-

rísticas fenotípicas que cada uno de estos poseen, para lograr definir un tipo de especies vegetales mucho más reguladas y de mejor calidad, estas investigaciones se han realizado en algunos explantes de vainilla (35); ya que por sus características generacionales ha permitido un mayor desarrollo en esta área, obteniendo nuevos métodos, que desde el estudio genético, favorecen el desarrollo de nuevas variedades vegetales. Por otro lado, los metabolitos secundarios pueden ser usados como modelos de estudios en líneas celulares como en el caso de algunas enfermedades de transmisión sexual como por ejemplo en *Chlamydia trachomatis*(36–38).

Bancos de germoplasma

Dentro de una de las aplicaciones más importantes de la biotecnología vegetal se encuentra la creación de múltiples clones vegetales cuyo fin principal será la preservación y propagación constante de los mismos (39), debido a que el objetivo principal de estos bancos de germoplasma se centra en la conservación, y multiplicación de material vegetal como mecanismo de seguridad para especies en peligro de extinción (40), este también puede cumplir un rol fundamental al momento de ser usado en investigaciones si se llegase a requerir una gran cantidad de recursos de especies vegetales o si en algunos casos se necesita la aplicación de cultivos vegetales que puedan mantenerse sin variabilidad genética, como se ha podido trabajar con algunos géneros de la familia *Orchidaceae* (41), al igual que con algunas especies de clavel (42). De igual forma, se pueden obtener plántulas que nunca podrán ser atacadas o infectadas con algún patógeno fitopatológico, (que pueda interferir con las condiciones en que las plantas deben mantenerse) para ser usadas en investigación. Así pues, la preservación de un banco de germoplasma podrá acercarnos a la evaluación de la estabilidad genética que las plantas pueden

llegar a presentar si sus condiciones ambientales son controladas de manera in vitro, por medio de la clonación y regeneración vegetal (43,44).



Figura 3. Propagación de tejidos vegetales por medio de una micropogracion.
Fuente. Autores.



Figura 4. Micropropagación de la especie drosera en un medio murashige and skoog.
Fuente. Autores.

Creación de un banco de germoplasma

Para la creación de un banco de germoplasma (cultivo de tejidos vegetales in vitro) es importante tener algunas características necesarias para que el crecimiento y diferenciación celular puedan darse (15). Las condiciones

mencionadas anteriormente son necesarias para que la diferenciación celular pueda darse, además del tipo de técnica que se emplee para el cultivo de tejidos vegetales según la morfología y fisiología que la planta presente. Algunas especies de plantas, como en el caso de la Teca, son importantes, dado a sus múltiples usos a nivel industrial, pero, su cultivo es altamente selectivo y difícil de preservar de manera in vivo, por ello, se han ido desarrollando múltiples formas de preservar esta especie (45). Estos cultivos pueden ser utilizados para evaluar el efecto simbiótico que pueden presentar con algunos microorganismos bacterianos o fúngicos, ya que, es posible evaluar con diferentes tipos de especies vegetales el efecto que alguno de estos microorganismos específicos puede llegar a tener como lo puede ser *Fusarium virguliforme* (46); e incluso pueden ser utilizados en la identificación de especies nativas naturales, como en el caso de la especie de oliva (47).

La criopreservación es una técnica que cumple un papel esencial al momento de hablar de la creación de un banco de germoplasma, ya que permite aumentar el tiempo de conservación que las plantas pueden mantener desde el cultivo de tejidos o células vegetales. Consiste en introducir algunos de los tejidos o células en nitrógeno líquido para conservar de una mejor forma los tejidos que se deseen preservar sometiéndolos a una criolesión o en algunos casos a un tipo de estrés químico, una correcta criopreservación puede mejorar el nivel de supervivencia y alargar el tiempo de conservación que se puede llegar a obtener de estos tejidos y células, sin generar daños considerables en el momento de la manipulación, manteniendo la posibilidad de regenerar y poder generar un nuevo crecimiento hasta obtener nuevas plantas en forma de clones. Algunas plantas como la fresa chilena (48), la vainilla (49) y las especies vegetales en peligro de extinción (50), son algunos ejemplos para la preservación y creación de un banco de

germoplasma que permita mantener la cantidad de individuos por medio de la criopreservación.

La utilidad de esta Criopreservación se centra en el acceso que se puede obtener a la integridad genética de las plantas a estudiar e incluso puede permitir recuperar un tipo de germoplasma a un determinado clima específico al cual se desee implementar, generando la posibilidad de recuperar plantas que permitan el acercamiento a características fenotípicas, histológicas, bioquímicas y moleculares dentro de las mismas. Ésta técnica puede contribuir al estudio de la estabilidad genética que las células y tejidos vegetales poseen para comprender el tipo de variaciones que estas pueden llegar a tener con el tiempo; también puede permitir la conservación de material vegetal por periodos de tiempo mucho más largos que el mismo cultivo vegetal in vitro para su futuro uso, si se llegara a necesitar para otro tipo de estudios. Por último, existen múltiples plantas que pueden ser utilizadas en el ámbito de la salud y que por falta de investigación aún no han sido estudiadas; es por ello que, estos bancos de germoplasma pueden contribuir al descubrimiento de nuevos principios activos que presentan las plantas, dada a la variedad de metabolitos que éstas pueden producir y que pueden llegar a tener un efecto antimicrobiano (51), al igual que varios estudios han demostrado el efecto antioxidante(52), antiinflamatorio, anticarcinógeno y con efecto benéfico sobre enfermedades neurodegenerativas que pueden llegar a producir los extractos etanólicos que estas especies son capaces de producir (53,54).

Conclusiones

- Existen diferentes formas de estudiar y contribuir al campo microbiológico, farmacológico, médico y agrícola desde la biotecnología vegetal a través del

estudió de las diferentes interacciones que se pueden obtener entre los microorganismos y las plantas, a partir del análisis de su actividad bioquímica y simbiótica.

- La creación de un banco de germoplasma es una herramienta que permitirá la conservación preservación de las especies vegetales que se desee estudiar incluyendo el control de las características ambientales y fenotípicas durante su desarrollo.
- El estudio de los diferentes metabolitos secundarios que las plantas generan son altamente importantes para el estudio contra diferentes enfermedades y patologías ya que estos pueden presentar diferentes propiedades terapéuticas y analgésicas que pueden contribuir a encontrar posibles tratamientos.
- La creación de un banco de germoplasma favorece el estudio de la actividad genética que estas plantas pueden presentar a lo largo de su desarrollo contribuyendo de esa manera a la investigación desde el campo biológico y medico

Referencias

1. Kasuni Dilhara Edirisinghage Jayawardana. TESIS DE DIPLOMA Respuesta in vitro y en casa de cultivo de variedades cubanas durante la obtención de semilla original de papa (*Solanum tuberosum* L .) Respuesta in vitro y en casa de cultivo de variedades cubanas durante la obtención de semilla original. 2015.
2. Adice SR, Arconi PLM. Clonación in vitro de diversos cultivares de *Gerbera jamesonii* a partir de capítulos florales. 1998;103(2):111–8.
3. Alvarenga-venutolo S. Callogénesis y establecimiento del cultivo de células en suspensión de *Uncaria tomentosa* (Willd .) D . C . (uña de gato) Callus formation of cell suspensions in *Uncaria tomentosa* (cat ' s claw). 2014;28:105–20.

4. Lozano kretschmar GA. Propagación *in vitro* de café (*Coffea arabica*) -variedad Lempira- a partir de meristemas Propagación *in vitro* de café (*Coffea arabica*) -variedad Lempira- a partir de meristemas. Escuela Agrícola panamericana; 2014.
5. Acosta Andrade Jose Andres. Embriogénesis somática en café (*coffea canephora* y *coffea arabica*) para su aplicación y adopción de sistemas de micropropagación masal. Universidad de Guayaquil-Ecuador; 2015.
6. Navarro Peralta Luis Alberto. Cultivo *in vitro* de tejidos vegetales de plantas del género *zephyranthes* y evaluación de su producción de alcaloides. 2014.
7. Landi M, Flexas J, Gallego PP, Gago J, Martí L. Modeling the Effects of Light and Sucrose on *In Vitro* Propagated Plants : A Multiscale System Analysis Using Artificial Intelligence Technology. 2014;9(1).
8. Lozano G, Lorena D, Neftalí ML, Guerrero O, Lily M. Estandarización del protocolo de desinfección para la micropropagación de *Aspidosperma polyneuron* Standardization of the disinfection protocol for the micropropagation of *Aspidosperma polyneuron*. 2015;XVII(2).
9. Hermoso Blanco, J; Otaño Llorente, A, Pando Fernández, V. 2 y Sierra De Grado r. Estudio de la influencia de IBA (ácido indolbutírico) en la fase de enraizamiento en el cultivo *in vitro* de *Populus tremula* L. 2013;1–18.
10. Caoba K, Reyes HF. PROPAGACIÓN CLONAL *in vitro* DE *Swietenia macrophylla* King (CAOBA). 2015;(November).
11. Juan R osorio. Establecimiento de cultivos *in vitro* de albahaca (*ocimum basilicum*) para la producción de aceite esencial. Universidad Autonoma Del Estado De Mexico; 2014.
12. Organizacion de las Naciones unidas para la Alimentacion y la agricultura. Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenicos para la alimentacion y la agricultura. Comision De Recursos geneticos Para La Alimentacion y La Agricultura, editor. Roma; 2014.
13. Tazeb A. Plant Tissue Culture Technique as a Novel Tool in Plant Breeding: A Review Article. *Environ Sci* [Internet]. 2017;17(2):111–8. Available from: [https://www.idosi.org/aejaes/jaes17\(2\)17/2.pdf](https://www.idosi.org/aejaes/jaes17(2)17/2.pdf)
14. Gómez-Torres LM, Moreno-Gómez B, Velásquez-Lozano ME, Aguirre-Mancilla C, Aguado-Santacruz GA. Plant cell photoautotrophic suspension cultures. Establishment and application perspectives. *Rev Fitotec Mex*. 2014;37(2):165–79.
15. Navarro L. Practicas de biotecnología vegetal. 2013;
16. Macgayver M, Morales B, Murillo CM, Carolina A, Morales A. Conservación *in vitro* : una perspectiva para el manejo de los recursos fitogenéticos *In-vitro* conservation : a perspective for the management of phylogenetic resources *Conservação in vitro : uma perspectiva para*. *Rev Investig Agrar y Ambient*. 2015;6(1):67–82.
17. Andrade Diaz D, Cordoba Figueroa monica E, Criollo Escobar H, Lagos Burbano TC. Evaluación de medios de cultivo para propagación *in vitro* de semillas y explantes de especies silvestres de *Solanum*. *Acta gronomica*. 2013;62(num 1):27–36.
18. Eraud MAROB, Ásquez NEHO V, Urán XIARD, Ampe JOT, Érez P, Arambio VILOM, et al. Efectos del ácido giberélico , bencilaminopurina y fluridona en la germinación *in vitro* de *Ugni molinae* Turcz . (*Myrtaceae*) Effects of gibberellic acid , benzylaminopurine and fluridone on the *in vitro* germination. 2016;73(1):77–84.
19. Rojas-idrogo C, Delgado-paredes GE. Propagación clonal *in vitro* y enraizamiento de estacas de algodón nativo (*Gossypium barbadense* L .).
20. Pardo A, Susana R, Alvarado G. Conservacion *In Vitro* de microbulbos de Ajo (*Allium sativum* L.). *Bioagro*. 2014;26(2):115–22.
21. From O, Of E, Vitro IN. Propagación *in vitro* de guayacán negro , *tabebuia billbergii* (bignoniaceae), a partir de explantes obtenidos de plántulas *in vitro*. *Cent Biotecnol*. 2014;3(1):6–14.
22. Francisco J, Zometa C, Eduardo C, Vargas S, Católica U, Salvador D El, et al. Multiplicación *in vitro* de piña MD-2 (*Ananas comosus* (L.) Merrill) haciendo uso de fertilizantes comerciales. *Prod Agropecu y Desarro Sosten*. 2015;2:77–88.

23. Montilla V, Fern R. Establecimiento del sistema de embriogénesis somática en *Azadirachta indica* A. Juss a partir de suspensiones celulares, acoplado a la producción de azadiractina in vitro. Universidad de Carabobo; 2017.
24. Gómez-merino FC. Aplicaciones del cultivo de tejidos vegetales en caña de azúcar (*Saccharum* spp.). 2015;(March 2014).
25. Pequeño-Granado¹ IL, R.E. V-A, Santos-Haliscak¹ JA, Luna-Maldonado¹ AI, Moreno-Degollado³ G, Iracheta-Donjuan² L, et al. Inducción organogénica de *Jatropha curcas* L. a partir de hojas jóvenes Organogenic induction of *Jatropha curcas* L. from young leaves. *polibotanica*. 2015;39:79–89.
26. Hernández-meneses E, Cristina M, López-peralta G, Adolfo A. Callogenesis de *Heliconia collinsiana* GRIGGS in vitro: establecimiento, inducción y proliferación * Callogenesis of *Heliconia collinsiana* GRIGGS in vitro: establishment, induction and proliferation Resumen Introducción. 2013;4:1175–86.
27. Villalobos Olivera A, Pelegrín RM, Nápoles L, González-Olmedo J, Iglesias A, Martínez J, et al. Cryogenic strategy for the establishment of a germplasm bank of pineapple (*Ananas comosus* var. *Comosus*). *Cultiv Trop*. 2016;37(especial):81–90.
28. Rojas TG, Esquivel AA. CRIOCONSERVACIÓN DE ÁPICES Y SEMILLAS DE CEDRO (*Cedrela odorata* L.) MEDIANTE LAS TÉCNICAS DE VITRIFICACIÓN. *Agron Costariquense*. 2013;37(1):113–26.
29. Bohorquez Quintero MA, Araque-barrera EJ, Pacheco Maldonado JC. Propagación in vitro de *Espeletia paipana* S. Díaz y Pedraza, frailejón endémico en peligro de extinción. *Actual Biol*. 2016;38(104):23–36.
30. Bustos AVG, Jiménez MG, Mora RMS. The *Annona muricata* leaf ethanol extract affects mobility and reproduction in mutant strain NB327 *Caenorhabditis elegans*. *Biochem Biophys Reports* [Internet]. 2017;10(November 2016):282–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.04.016>
31. A. Medina M, Lorena Medina C, Karime Medina L. Propagación in vitro de *Musa acuminata* (Simmunds) plátano bocadillo del Chocó, Colombia, a partir del cultivo de meristemos apicales In vitro propagation *Musa acuminata* (Simmunds) plátano bocadillo of Chocó, Colombia, from apical meristems culture. *Biodivers Neotrop*. 2015;5(1):47–53.
32. Koroney AS, Plasson C, Pawlak B, Sidikou R, Driouich A. Root exudate of *Solanum tuberosum* is enriched in galactose-containing molecules and impacts the growth of *Pectobacterium atrosepticum*. *Ann Bot*. 2016;118:797–808.
33. Filová A. Production of Secondary Metabolites. *Res J Agric Sci*. 2014;46(1):236–46.
34. Rojas-idrogo C, Kato MJ, Delgado-paredes GE, Iochet E, Floh S, Handro W. Producción de metabolitos secundarios en cultivo de raíces in vitro y suspensiones celulares de *Ipomoea carnea* spp. *carnea Jacq*. 2014;107–20.
35. Figueroa JLG. Establecimiento de las bases biotecnológicas y ecológicas en la mejora genética de *Vanilla planifolia*. *Cuad Biodivers*. 2014;45:1–6.
36. Shubach APJ, Devia JLG, Mora RMS. Asociación de HSP60 de *Chlamydia trachomatis* y desarrollo de cáncer de ovario. *Nova* [Internet]. 2017;15(28):57–68. Available from: <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/2079>
37. Carrera Páez LC, Pirajan Quintero ID, Urrea Suarez MC, Sanchez Mora RM, Gómez Jiménez M, Monroy Cano LA. Comparación del cultivo celular de HeLa y HEp-2: Perspectivas de estudios con *Chlamydia trachomatis*. *Nova*. 2015;12(21):17–29.
38. Jutinico Shubach AP, Malagón Garzón E, Sánchez Mora RM. Cultivo de la línea celular HEp-2: doblaje poblacional y coloración con Giemsa Perspectivas para el estudio de la infección con *Chlamydia trachomatis*. *Nova*. 2013;11(20):23–33.
39. Castillo MC. Aplicación de la micropropagación y criopreservación a la conservación ex situ de especies vegetales de interés. Universidad de Alicante; 2013.
40. Fidel E, Ardisana H. Perspectivas futuras e impacto social de las biotecnologías vegetales. 2017;(February).
41. Cerna M, Cardenas S, Cruz A, Jácome I. Colección

- de germoplasma de especies de la familia orchidaceae del cantón santiago de méndez - morona santiago, ecuador Compilation of orchidaceae family species germplasm in santiago de mendez, morona santiago, ecuador. *La granja*. 2014;20(2):5–19.
42. Valdés YC, Vega MEG, Rodríguez ML. Determinación de estabilidad genética en vitroplantas de clavel español (*Dianthus caryophyllus* L.), micropropagadas con biobras-16. 2014;35(1):67–74.
 43. Peres S. Saving the gene pool for the future: Seed banks as archives. *Stud Hist Philos Sci Part C Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* [Internet]. 2016;55:96–104. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.shpsc.2015.09.002>
 44. Pellegrini PA, Balatti GE. Los bancos de semillas: entre la preservación y la apropiación de recursos naturales. El acceso a los recursos fitogenéticos en la Argentina. *Desenvolv e Meio Ambient* [Internet]. 2017;41:105–23. Available from: <http://revistas.ufpr.br/made/article/view/46802>
 45. Gómez AH, Castillo PV, Esquivel AA. Crioconservación de semillas de teca (*Tectona grandis* L.F). *Agron Costarricense*. 2013;37(1):51–60.
 46. Giachero ML, Marquez N, Gallou A, Luna CM, Declerck S, Ducasse DA. An In Vitro Method for Studying the Three-Way Interaction between Soybean , *Rhizophagus irregularis* and the Soil-Borne Pathogen *Fusarium virguliforme*. 2017;8(June):1–9.
 47. Trujillo I, Diego B, Trujillo I, Ojeda MA, Urdiroz NM, Potter D. Identification of the Worldwide Olive Germplasm Bank of Córdoba (Spain) using SSR and morphological markers Identification of the Worldwide Olive Germplasm Bank of Córdoba (Spain) using SSR and morphological markers. 2013;(May 2014).
 48. Quiroz KA, Berríos M, Carrasco B, Retamales JB, Caligari PDS, Gonzáles RG. Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch .). *Biol Res*. 2017;1–11.
 49. Le M, No CV, Zapata E. CONSERVACIÓN DE VAINILLA (*Vanilla planifolia* Jacks .) BAJO CONDICIONES DE LENTO CRECIMIENTO *in vitro* *In vitro* CONSERVATION OF VANILLA (*Vanilla planifolia* Jacks .) UNDER SLOW GROWTH CONDITIONS. *Fitotec*. 2015;38(2):165–71.
 50. López-orenes A, Ros-marín AF, Ferrer MA, Calderón AA. Antioxidant Capacity as a Marker for Assessing the In Vitro Performance of the Endangered *Cistus heterophyllus*. 2013;2013.
 51. Zhang L, Ravipati AS, Koyyalamudi SR, Jeong SC, Reddy N, Bartlett J, et al. Anti-fungal and anti-bacterial activities of ethanol extracts of selected traditional Chinese medicinal herbs. *Asian Pac J Trop Med*. 2013;6(9):673–81.
 52. Das N, Islam ME, Jahan N, Islam MS, Khan A, Islam MR, et al. Antioxidant activities of ethanol extracts and fractions of *Crescentia cujete* leaves and stem bark and the involvement of phenolic compounds. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 2014;14(1):45. Available from: <http://bmc-complementalternmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6882-14-45>
 53. Mucklow JC, Sultana R, Emran T Bin, Islam MS, Rahman MA, Chakma JS, et al. Effects of organic extracts of six Bangladeshi plants on *in vitro* thrombolysis and cytotoxicity. *Bmj* [Internet]. 1995;311(7018):1506–1506. Available from: <http://www.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bmj.311.7018.1506>
 54. Ferro P, Katerine L, Bustos G, Viviana A. Caracterización fenotípica de la cepa N2 de *Caenorhabditis elegans* como un modelo en enfermedades neurodegenerativas. *Nova*. 2017;15(28):69–78.