

LA MORFOGÉNESIS EN LA PROPAGACIÓN ASEJUAL, CON ÉNFASIS EN CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

[MORPHOGENESIS IN ASEJUAL PROPAGATION, WITH EMPHASIS ON PLANT TISSUE CULTURE]

Maura Elisama Miguel-Luna¹, José Raymundo Enríquez-del Valle¹, Rodolfo Benigno de los Santos-Romero¹, Gerardo Rodríguez-Ortiz¹

Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. C.P. 71230.

§Autor para correspondencia: (jose.ev@voaxaca.tecnm.mx).

RESUMEN

Los procedimientos de propagación asexual de plantas usan fragmentos de tejidos somáticos, órganos vegetativos, que son separados de la planta seleccionada y colocados en un ambiente en que se induce la regeneración de nuevos órganos, respuestas de morfogénesis, para obtener plantas completas. Se aborda el proceso de morfogénesis en plantas, con sus variantes de embriogénesis somática y organogénesis; los eventos que ocurren en las células y tejidos que son inducidos a dividirse y formar nuevos órganos, así como también los factores que influyen en los niveles de respuesta: la especie, genotipo, tipo, edad y condición fisiológica del explante; del ambiente de propagación que incluye la composición del medio de cultivo en concentración de nutrientes y reguladores de crecimiento, así como las condiciones físicas de incubación.

Palabras clave: Cultivo *in vitro*, embriogénesis somática, organogénesis, reguladores de crecimiento totipotencia.

ABSTRACT

Asexual plant propagation procedures use fragments of somatic tissues, vegetative organs, which that are separated from the selected plant and placed in an environment that induces the regeneration of new organs, morphogenesis responses, to obtain complete plants. It addresses the process of morphogenesis in plants, with its variants of somatic embryogenesis and organogenesis; the events that occur in cells and tissues that are induced to divide and form new organs, as well as the factors that influence response levels: the species, genotype, type, age and physiological condition of the explant, of the environment that includes the composition of the culture medium in concentration of nutrients and growth regulators, as well as the physical conditions of incubation.

Keywords: *In vitro* culture, somatic embryogenesis, organogenesis, plant growth regulators, totipotency.

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de cultivo *in vitro* han permitido la regeneración de más de 1,000 especies vegetales diferentes (Alvarez-Aragonet *et al.*, 2020). Y que a partir de ejemplares seleccionados estas técnicas se aplican para la producción masiva y rápida de poblaciones sanas, fértiles, homogéneas y de alta calidad genética (Arzate-Fernández *et al.*, 2016). En algunos casos se propone su aplicación en especies endémicas que se encuentran amenazadas o en peligro de extinción, mientras que otras se propagan debido a su importancia económica o por el valor medicinal que brindan a la sociedad (Verma *et al.*, 2011). Los procedimientos más empleados en el cultivo de tejidos han sido la embriogénesis somática, la activación de yemas axilares y la regeneración de brotes adventicios que posteriormente son inducidos a que formen raíces (Lema y Kulus, 2014).

En las primeras investigaciones sobre morfogénesis se desconocía si los cambios que ocurren en las células durante su diferenciación eran permanentes e irreversibles, o si solo eran temporales para que las células se adaptaran; en este sentido Vochting en 1878, realizó experimentos con plantas superiores sobre la polaridad celular en los que observó que algunas células que forman parte de los tejidos y cumplen con una función especializada en el tallo, eran capaces de desdiferenciarse y formar raíces y brotes, lo que demostró que la diferenciación celular no era permanente (Ferl y Paul, 2000). En la actualidad se sabe que la diferenciación está regulada por la expresión genética, por lo tanto, no hay pérdida de material genético (Gurdón, 1974), por lo que el objetivo de la presente revisión fue describir los avances logrados hasta el estado actual del arte sobre el conocimiento de la morfogénesis vegetal, así como sus aplicaciones prácticas tanto en la conservación de germoplasma, como en la propagación clonal de numerosas especies de importancia económica.

DESARROLLO

La morfogénesis en la propagación asexual

Para la propagación asexual se usan órganos vegetativos (tallos, hojas, rizomas, cormos, tubérculos, entre otros) de una planta seleccionada por características sobresalientes (productividad, resistencia a enfermedades, características de flores, frutos etc.) para generar un nuevo organismo que sea genéticamente idéntico a la planta seleccionada (García *et al.*, 2011). Sadhu (1989) indica que mediante la propagación asexual se generan clones o individuos (rameto) genéticamente similares a la planta madre (orteto). El término clon, de la palabra griega *klon*, significa “pequeña rama” y se usó por primera vez en 1903 (Hernández-Marroquín, 2021). En la propagación asexual una célula vegetal diferenciada, que cumple una función especializada en algún tejido de la planta, es inducida a dividirse mediante mitosis y da origen a nuevas células desdiferenciadas, y que en divisiones posteriores algunas de las nuevas células poseen características en forma y síntesis de polipéptidos, para formar grupos de células organizadas en meristemos (Alcantara-Cortes, 2017; Fehér, 2019) y ya que cada célula somática contiene una copia de la información genética de la planta donante, expresa totipotencia con la cual se originan nuevas células que se diferencian y organizan en tejidos, órganos y forman un individuo completo (Morales-Rubio *et al.*, 2016).

La propagación asexual de numerosas especies vegetales es importante para la producción agrícola, ya que las cualidades genéticas, fisiológicas y sanitarias de las plantas obtenidas influyen en los rendimientos y calidad de las cosechas (Rueda-Sánchez, 2013). Así mismo los genotipos seleccionados, la edad del material vegetal, la condición fisiológica de las plantas madre, el ambiente de propagación que incluye, el uso de reguladores de crecimiento (RC), los sustratos, la temperatura, la humedad relativa, la irradiancia, el abastecimiento nutricional, el control de plagas y enfermedades son variables de manejo que influyen en la eficiencia de propagación (Blanco-Valdés, 2019). Se han descrito procedimientos eficientes de propagación asexual para numerosas especies en condiciones de vivero, pero aumentando los niveles de control de factores que influyen en la división celular y morfogénesis, es posible crear procedimientos de propagación más eficientes, lo cual se ha logrado en condiciones de laboratorio, mediante la técnica de cultivo de tejidos vegetales (Angulo y Paredes, 2011; Vidal *et al.*, 2011). Independientemente del nivel de tecnificación que se use para la propagación asexual de una determinada especie, se busca que el material vegetal obtenido responda a la morfogénesis la cual presenta dos modalidades: la embriogénesis somática y organogénesis.

La morfogénesis es el proceso que ocurre en las células y tejidos vegetales cultivados *in vitro* para que a partir de una célula que se divide, se originen numerosas células que se organizarán en tejidos y órganos que formarán posteriormente una planta entera (Fehér, 2019). Al inducir la formación de brotes, raíces o flores como rutas de organogénesis, cada ruta implica la expresión de diferentes conjuntos de genes (Smith, 2013). Bertrand-García *et al.* (1992) estudiaron la síntesis de polipéptidos en dos líneas de callos de *Nicotiana tabacum*, una con capacidad de formación de brotes (CFB) y la segunda línea de callo carecía de capacidad de formación de brotes (AFB), cuando se les cultivo en medio de cultivo inductor para formación

de brotes. Las dos líneas de callo fueron (isogénicas) al ser derivadas de un mismo explanto de tejido de tabaco. Transcurridos siete días de cultivo, las observaciones histológicas mostraron que la línea que carecía de la capacidad de formación de brotes (AFB) estuvo integrada por células de parénquima grandes, vacuoladas y fue notoria la ausencia de estructuras organizadas. En contraste, los callos de la línea con capacidad de formar brotes (CFB) tenían desde el inicio del cultivo agrupaciones compactas de células pequeñas que estuvieron en división meristemática. Estos meristemoides se encontraban dispersos entre la gran población de células de parénquima altamente vacuoladas que no se estaban dividiendo. En los primordios de brote en los tejidos (CFB) cuando transcurrió un día de cultivo, al tercer día mostraron brotes con hojas. En ambas líneas celulares se detectaron varios centenares de proteínas y compartieron la mayoría de polipéptidos nucleares y celulares, que se supuso tuvieron la función en eventos importantes para el mantenimiento celular. Pero también desde el inicio del cultivo en las condiciones inductoras de formación de brotes, las líneas celulares mostraban algunas diferencias en sus perfiles de proteínas, ya que la línea (CFB) tenía dos polipéptidos que no se encontraban en la línea (AFB).

De Almeida *et al.* (2015) indican que la regeneración *in vitro* de una planta a partir de células somáticas puede ocurrir a través de dos vías: embriogénesis somática y organogénesis (Figura 1).

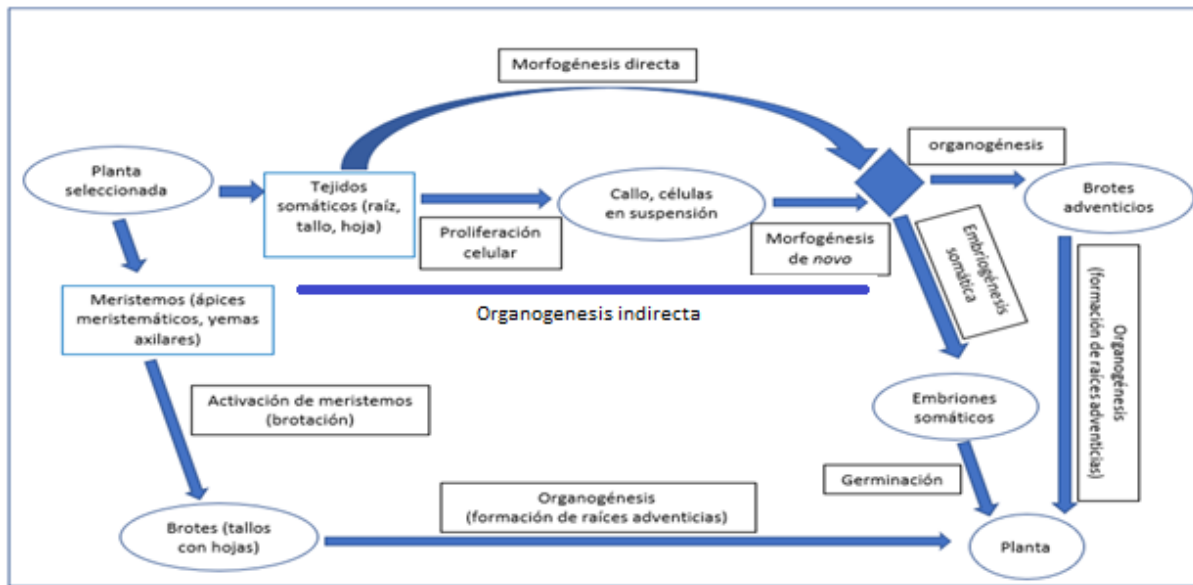


Figura 1. Rutas de morfogénesis en cultivos vegetales *in vitro*.

Los embriones somáticos se derivan de grupos de células, designadas masas de células pro embrionarias (PEM) las que a su vez se derivan de células individuales (Guevara *et al.*, 2012). Las células embriónicas se derivan de células somáticas de un explante ya sean callos o células en suspensión, que al continuar incrementando en número mediante divisiones celulares dan origen a una estructura multicelular organizada conocida como embrión somático (Adobkar *et al.*, 2012; Ikeuchi *et al.*, 2016). En el caso de la organogénesis, las divisiones celulares dan origen a la formación de meristemas que desarrollan raíces, o bien, meristemas que desarrollan brotes, que en un segundo evento de inducción pueden formar los órganos que completan una planta (Greb y Lohmann, 2016).

La embriogénesis somática ha llevado al desarrollo del concepto de semillas sintéticas para la producción masiva de plantas, mediante el desarrollo de tecnologías para: 1. Producir embriones somáticos; 2. Sistemas de escalamiento del cultivo. 3. El proceso de integración entre la embriogénesis somática y la encapsulación (Vacca-Molina *et al.*, 2014). La otra vía expresión de morfogénesis, es la organogénesis que

consiste en la formación de centros meristemáticos que dan origen a nuevos brotes o la formación de raíces; por lo que eventos de organogénesis presentan dos señales diferentes de inducción, una para inducir brotes y otra para inducir raíces, este proceso puede ocurrir de forma directa o indirecta (Acosta, 2012).

Ambas vías morfogénicas, tanto la organogénesis de brotes como la embriogenesis somática, pueden ser inducidas simultáneamente en las mismas condiciones de cultivo de tejidos en donde el equilibrio de reguladores de crecimiento (RC) auxina y citoquinina, aplicadas exógenamente en el medio de cultivo, pueden determinar la ruta que las células del tejido sigan en regeneración, en el que altas proporciones de auxina a citoquinina generalmente conducen a la regeneración de la raíz y altas proporciones de citoquinina a auxina tienden a promover la regeneración de brotes (Arzate-Fernández y Mejía-Franco, 2011; Alcántara-Cortes *et al.*, 2019).

Bronner *et al.* (1994) cultivaron *in vitro* embrionescigóticos inmaduros de girasol (*Helianthus annuus*) en que describieron la embriogénesis somática y organogénesis somática. Usaron fragmentos de tejidos de hipocótilo de 6 mm que establecieron en diferentes medios de cultivo variando las concentraciones de sacarosa, desde 3 a 12%, ocurriendo en estos la morfogénesis, se observó que los brotes y embriones somáticos se originaron a partir de divisiones periclinales (paralelas a la superficie) de la epidermis y en capas externas del cortex del hipocótilo. Los tejidos establecidos en los medios de inducción con bajo contenido, 3% de sacarosa, en el día uno se observaron divisiones celulares periclinales en las capas externas del borde superior de la zona de hipocótilo-radícula y afectaron la epidermis y la subepidermis, ocasionalmente se observaron divisiones en la segunda capa de la corteza. Estas divisiones fueron responsables de los leves aumentos de volumen (hinchazones) en los explantes. En el día dos continuaron las divisiones periclinales sin alteración de la capa epidérmica, se produjeron algunas divisiones anticlinales (perpendiculares a la superficie) y era posible reconocer las capas celulares originales del explante involucradas en la actividad de división. En las células divididas el compartimento de la vacuola aumentó y las gotas de lípidos se redujeron considerablemente. En el día cuatro ocurrían divisiones celulares periclinal, oblicua y anticlinal, que produjeron las hinchazones observados a nivel morfológico y se consideraba que estas hinchazones forman brotes porque en sus puntas se desarrolló una zona con grupos de células organizadas en meristemas. Las células meristemáticas tuvieron citoplasma relativamente denso y un núcleo grande con nucléolos agrandados, contenían solo pequeñas vacuolas o ninguna en absoluto, se identificó claramente las capas celulares del explante inicial de donde se derivaron los hinchazones, después de continuas divisiones, en esta zona desarrollaron las hojas y el tallo en el que se diferenciaron los haces vasculares, la conexión vascular del brote con el explante inicial.

Bronner *et al.* (1994) indican que en los tejidos de *H. annuus* que se establecieron en medios de inducción con alto contenido, 12% de sacarosa, ocurrió la embriogénesis somática. En el día uno el inicio de la división ocurrió también en la zona de hipocótilo-radícula, las divisiones periclinales ocurrieron en las capas epidérmica y subepidérmica, pero también en la segunda y tercera capa de la corteza de esta región. En el día dos aumentaron en número las divisiones celulares, periclinales, oblicuas y anticlinales, las células resultantes de las divisiones fueron más pequeñas y menos rectangulares, tenían un citoplasma denso, núcleos grandes y nucléolos prominentes, algunas células mostraron el inicio de la fragmentación del compartimento vacuolar y resultaron pequeñas vacuolas redondeadas. En el día cuatro las células que constituyen las protuberancias eran de forma y tamaño irregulares, con alta actividad metabólica, núcleos grandes y nucléolos muy prominentes, gránulos de proteína vacuolar y gotitas de lípidos citoplasmáticos en una mayor proporción de células. En los tejidos establecidos en medios de cultivo con alta concentración de sacarosa, fue posible identificar las protuberancias inducidas como embriones somáticos, que muestra semejanza al embrión cigótico maduro de girasol que acumulaba lípidos y proteínas como productos de almacenamiento. En el hipocótilo del explante inicial, alrededor de los embriones somáticos, las capas corticales externas acumulan lípidos y proteínas, pero sin estar involucradas en las divisiones celulares.

Embriogénesis somática

A partir de protoplastos o células somáticas aisladas es posible inducir que asuman divisiones celulares formando grupos de células organizadas en estructuras celulares que se asemejan a los embriones cigóticos (Duarte *et al.*, 2017; Sanchez *et al.*, 2019). Los embriones somáticos son estructuras multicelulares bipolares que en un extremo de su estructura presentan el ápice del brote, y en el extremo opuesto el ápice de la raíz. Entre numerosas células del explante que se establece *in vitro*, solo unas pocas células somáticas se denominan competentes en estado intermedio entre somático y células embriogénicas, estas células competentes muestran sensibilidad a los estímulos físicos y químicos que inducen el proceso de embriogénesis somática que es la formación de un embrión a partir de una célula o grupo de células no sexuales. Los embriones somáticos se originan de células vegetativas, de tejidos reproductivos, de embriones cigóticos o de callos producidos de cualquier parte de la planta (Monja-Mio y Robert, 2013; Tamayo-Torres y Monja-Mio, 2021).

Radice (2014) y Fehér (2019) indican que a partir de diferentes explantes obtenidos de una planta, y dependiendo de las condiciones de medio de cultivo e incubación, puede inducirse la formación de nuevos órganos, raíces o flores. Necesariamente deben ocurrir divisiones celulares, pero cuando la cantidad de divisiones es limitada, no ocurre la formación de callo que es una masa desdiferenciada de células. A esta ruta de morfogénesis se le conoce como organogénesis directa y los órganos que se forman ya sean brotes o raíces se denominan adventicios. También ocurre la formación de embriones somáticos, sin que ocurra la formación de callo, este proceso se denominará embriogénesis directa. Si, por el contrario, a partir de la siembra de un explante *in vitro* ocurre la proliferación de células en forma desordenada y sin ninguna función predeterminada, se iniciará la producción de callos o suspensiones celulares. La diferenciación de órganos a partir de callos, denominada morfogénesis indirecta, estará condicionada a la previa formación de los meristemoides (Sanchez-Calvo y Alvarenga-Venutolo, 2014). Ibañez *et al.* (2020) mencionan que la morfogénesis a partir de callo implica un origen de células y tejidos no organizados. A esta ruta se le denomina morfogénesis *de novo*.

El desarrollo *in vitro* de células y tejidos depende de diferentes factores (Smith, 2013) como: genotipo (Larson *et al.*, 2017), tipo de planta (George y Debergh, 2008), edad (Rahmani *et al.*, 2016) etapa de desarrollo de un explante (Mohammed *et al.*, 2015), estado fisiológico de la planta donante de explante (Levitus *et al.*, 2010) y ambiente externo que incluye la composición del medio de cultivo (Miguel-Luna *et al.*, 2013), el estado físico líquido o semisólido del medio de cultivo (Chávez-García *et al.*, 2018); concentración de reguladores de crecimiento (Miguel-Luna *et al.*, 2014), pH (Hussain *et al.*, 2012), calidad y cantidad de luz o ausencia de luz (Rodríguez-Sahagún *et al.*, 2011), la temperatura (Cardoza, 2008) y el potencial osmótico (Cardenas y Villegas, 2002).

Efecto de los reguladores de crecimiento en la morfogénesis

Los reguladores de crecimiento (RC) son compuestos orgánicos diferentes de los nutrientes que incluyen fitohormonas (productos naturales de las plantas) y sustancias sintéticas (Weaver, 1976), estos RC afectan la función de diferentes tipos celulares, tejidos u órganos y en pequeñas cantidades fomentan, inhiben o modifican cualquier proceso fisiológico vegetal. Ocurre síntesis de algún tipo de RC en todos los tejidos de la planta, ejerciendo su función en ese lugar o en alguna otra parte, siendo los tejidos más jóvenes los de mayor actividad (Garay-Arroyo *et al.*, 2014).

Las citocininas son RC que agregadas al medio de cultivo promueven la formación de brotes adventicios, inhibiendo la formación de raíces y retardando la senescencia (Suarez y Quintero, 2014). Las citocininas como la kinetina en concentraciones de 1.0 a 10 mg l⁻¹, estimula la división celular, crecimiento y desarrollo. La citocinina N6-bencilaminopurina activa la división celular en el embrión promoviendo la germinación (Moradi y Otrshy, 2012). Los RC del grupo de las auxinas participan en diversos procesos de

desarrollo de las plantas y muestran efectos para: alargamiento celular, expansión de los tejidos, formación del callo, la formación de raíces adventicias, la inhibición de los brotes axilares y adventicios (Weiss y Ori, 2007).

La capacidad regenerativa de los tejidos que se usan como explantes es alta si éstos se obtienen de plantas jóvenes, mientras que la capacidad regenerativa de los explantes es menor a medida que las plantas envejecen (Zhang *et al.*, 2015). Se evaluó el enraizado *in vitro* de brotes de *Quercus robur* obtenidos del mismo árbol (similar genotipo) pero de diferente estado ontogenético: 1. Brotes de la base del tallo, que mostraban características juveniles. 2. Brotes de la copa del árbol, con características de mayor edad. Los brotes recibieron tratamientos similares con auxina, pero los obtenidos de las partes basales tuvieron mejor respuesta de enraizado en comparación a brotes obtenidos de la copa (Vidal *et al.*, 2003). En el caso de brotes de *Pisum sativum* en etapas diferentes de desarrollo, se observó que la transición vegetativa a reproductiva está relacionada con la reducción de la capacidad de regeneración de raíces y esto se debe a la pérdida de la capacidad de respuesta a las auxinas (Rasmussen *et al.*, 2012).

Las auxinas promueven la iniciación de raíces, aumentan la uniformidad del enraizamiento, reducen el tiempo del proceso e inducen la formación de mayor número y calidad de raíces (Della-Rovere *et al.*, 2013). Brotes de *Agave americana* var. *Oaxacensis* que se establecieron en diversos medios de cultivo que variaban en concentración, en el rango de 0 a 2 mg l⁻¹ de la auxina ácido indolbutírico, la cantidad de brotes que formaron raíces, y la cantidad de raíces en cada brote se incrementó en relación positiva a la concentración de esta auxina (Miguel-Luna *et al.*, 2013). El nivel de respuesta al estímulo de morfogénesis es dependiente de la condición fisiológica de la planta donadora del tejido, ya que Ríos-Ramírez *et al.* (2017) sometieron a varios grupos de plantas de *Agave angustifolia* de dos años de edad, a diversos tipos de riego en vivero: solo agua, o fertirriego a niveles diferentes de abastecimiento nutrimental, durante siete meses. Transcurrido ese tiempo las plantas no fertilizadas y las plantas que recibieron la dosis mayor de fertilización tuvieron respectivamente 282 y 453 g de materia seca foliar, así como 7,225 y 14,957 mg de N; 3,017 y 6,719 mg de P; 7,827 y 18,847 mg de Mg kg⁻¹ de materia seca foliar. Ríos-Ramírez *et al.* (2018) describieron que las plantas que recibieron diferentes dosis de fertirriego se obtuvieron tejidos de tallo que se establecieron en condiciones similares de medio de cultivo e incubación, para inducir la formación de brotes adventicios. En los tejidos de tallo provenientes de las plantas con mejor condición nutrimental, y en los tejidos de plantas no fertilizadas se formaron 8 y 3.8 brotes, respectivamente.

El desarrollo y crecimiento de las plantas depende de factores externos e internos que varían constantemente. Las fitohormonas son reguladores de crecimiento (RC) sintetizadas endógenamente que integran los estímulos internos para llevar a cabo las respuestas fisiológicas y de desarrollo. Cuando un tejido u órgano vegetal se separa de la planta y se usa como explante estableciéndolo en un medio de cultivo que contiene RC de tipo citocininas, estos RC inducen que células del explante se dividan mitóticamente, y den origen a grupos de células desdiferenciadas, algunas de las cuales se organizarán en meristemoides para desarrollar brotes (Martín *et al.*, 2015).

Los RC son captados a nivel de receptores de tipo proteína ubicados en la membrana celular. Esta señal de RC-receptor ejerce su estímulo en la información genética del núcleo, induciendo la expresión de genes específicos relacionados a la respuesta. Y el nivel de respuesta está relacionado con la sensibilidad de los tejidos (Trewavas, 1981). Acosta *et al.* (2000) indican que la sensibilidad, que se relaciona a la abundancia relativa de receptores hormonales específicos para cada tipo de RC que presenta un tejido u órgano variaría respecto a la edad de las células, su condición fisiológica y a las condiciones ambientales. Por lo que, la condición fisiológica de los tejidos a usar en propagación es un factor importante a considerar.

El medio de cultivo

El medio de cultivo es una combinación de sales inorgánicas tanto macronutrientes como micronutrientes, compuestos orgánicos como carbohidratos, vitaminas, aminoácidos y reguladores del crecimiento disueltos en agua. El medio de cultivo se puede usar líquido, o con consistencia semisólida cuando se agrega alguna sustancia gelificante, con el propósito de soporte físico. La composición del medio de cultivo a usar depende de la especie vegetal y de la etapa del proceso de micropropagación (Alcantara-Cortes *et al.*, 2017). Una de las características del medio de cultivo es el potencial osmótico (PO), su determinación se basa en el cambio de las propiedades físicas y químicas debido a la presencia de solutos que al aumentar su concentración en la solución la presión osmótica toma valores más negativos (Martínez-Villegas *et al.*, 2015).

El PO del medio de cultivo tiene efecto directo en los explantes; conforme sea más negativo menor será la absorción de agua y por consecuencia dificultará el crecimiento y organogénesis, la multiplicación de brotes axilares *in vitro*, por la baja disponibilidad de los nutrientes del medio (Pierik y Steegmans, 1975). Molinos-da Silva *et al.* (2004) evaluaron el efecto del PO y contenido de Ca^{2+} en el medio de cultivo sobre la distribución de Ca^{2+} y K^+ en la producción de brotes y necrosis apical en *Vitis vinifera* indicando que en muchos medios de cultivo utilizados para propagar vid hay mayor proporción de K^+ y esto ocasiona una menor calidad en los brotes. También encontraron que los índices de brotes sanos sin necrosis fueron aquellos en los que se acumularon mayores concentraciones de Ca^{2+} en los explantes.

Formación de raíces en tejidos obtenidos *in vitro*

En una sección transversal de raíz, se observa el periciclo que es un tejido situado entre la endodermis y la estela y que rodea al cilindro vascular. El periciclo tiene el potencial de producir nuevas raíces laterales (Beeckman y De Smet, 2014). Las células del periciclo, junto con el parénquima vascular o las células procambium sirven como fuente primaria para la regeneración de los brotes y la embriogénesis somática *in vitro* además que son las que dan origen a las raíces laterales (Bellini *et al.*, 2014). Las raíces adventicias tienen su origen a partir de tejidos no radicales como tallos u hojas (da Rocha-Correa *et al.*, 2012). Su origen endógeno es cerca de los tejidos vasculares y crecen a través de tejidos situados por fuera del punto de origen. Este tipo de raíces se producen en respuesta a estímulos externos (Vidoz *et al.*, 2010). En tallos jóvenes de dicotiledóneas y gimnospermas las raíces adventicias se forman en el parénquima interfascicular, y en los tallos más viejos en el radio vascular cerca del cambium (García *et al.*, 2011). En tallos de *Chrysobal anusicaco* L. Vargas *et al.* (1997) describieron que el origen de las raíces adventicias ocurrió en células del cambium vascular, mientras que las raíces laterales se originaron en el periciclo.

Cano *et al.* (2014) describieron una secuencia de tres etapas que llevan a la formación de raíces adventicias en estacas de tallo: 1. La fase de inducción en que algunas células que cumplen una función de diferenciación, tienen capacidad de reiniciar divisiones celulares dando origen a grupos de células desdiferenciadas que son iniciadoras de los nuevos primordios de raíces. 2. La fase de iniciación en que ocurre la proliferación celular formando grupos de células meristemáticas que dan origen a los primordios de raíz. 3. La fase de la expresión o fase de alargamiento, comprende el crecimiento macroscópico de los primordios y la emergencia de las raíces nuevas, incluyendo la ruptura de otros tejidos del tallo, y se establecen las conexiones vasculares con los tejidos conductivos de la estaca. Mientras que De Klerk *et al.* (1999) describen el proceso de formación de raíces adventicias en cuatro etapas: desdiferenciación celular, inducción, desarrollo de primordio de raíz y emergencia de la raíz.

CONCLUSIONES

La propagación asexual de plantas se usa ampliamente en especies forestales, frutales, ornamentales y alimenticias, al producir individuos que conserven las características genéticas de la planta seleccionada. En la propagación asexual realizada en condiciones de campo, vivero o laboratorio, se busca que en el

material vegetal ocurran respuestas de morfogénesis y los niveles de éxito de propagación que se obtengan depende del control de diversos factores: el material vegetal (genotipo, sanidad, condición fisiológica, edad de la planta donadora) y control del ambiente de propagación. Esta información sirve para proyectos de conservación de germoplasma de especies endémicas, y en la propagación clonal de numerosas especies de importancia económica. Los estudios de la morfogénesis y los factores que influyen sobre este proceso son condiciones importantes para innovar en los procedimientos de propagación, para aumentar su eficiencia en cantidad y calidad de las plantas a obtener.

LITERATURA CITADA

- Acosta, E.M., B.J. Sánchez y A.M. Bañón. 2000. Auxinas fundamentos de fisiología vegetal. Azcon-Bieto y Talón (Eds.) Interamericana-McGraw-Hill. 323 p.
- Acosta, C.C. 2012. La micropropagación en especies forestales. *Ciencia Actual*. Vol 1. No. 2 Julio/Diciembre de 2011.
- Adobkar, I.M.S. and M.E. Ahmed. 2012. Plant tissue culture media. (Chapter 2) Annarita Leyva and Laura M.R. Rinaldi (ed) *In: Recent advances in plant in vitro culture*.
- Alcántara-Cortés, J.S., M.G., Castilla-Pérez y R.M. Sánchez-Mora. 2017. Importancia de los cultivos vegetales *in vitro* para establecer bancos de germoplasma y su uso en investigación. *Biociencias*. Vol. 1:71-83.
- Alcántara-Cortés, J.E., J. Acero-Godoy, J.D. Alcántara-Cortés y R.M. Sánchez-Mora. 2019. Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA* 17(32): 109-129.
- Alvarez-Aragon, C., A.M. Arzate-Fernandez, S.Y. Martinez-Martinez e I. Martinez-Velasco. 2020. Regeneración de plantas de *Agave marmorata* Rozevia embriogénesis somática. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 23 (2020): 1-13.
- Angulo, B.P.I. and L.O. Paredes. 2011. Development of a regeneration protocol through indirect organogenesis in prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica* L. Mill). *Sci. Hortic*. 128:283-288.
- Arzate-Fernández, A.M. y R. Mejía-Franco. 2011. Capacidad embriogénica de callos inducidos en ejes embrionarios cigóticos de *Agave angustifolia* Haw. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34:101-106.
- Arzate-Fernández, A., M. Piña-Escutia, J.L. Norman-Mondragón, T.H. Reyes-Díaz, J.I. Guevara-Suárez, K.L. y L.M. Vázquez-García. 2016. Regeneración de agave mezcalero (*Agave angustifolia* Haw.) a partir de embriones somáticos encapsulados. *Revista Fitotecnia Mexicana* 39(4): 359-366.
- Beeckman, T. e I.P. De Smet. 2014. *Currentbiology*. 24 (10) R378-R379.
- Bellini, C., D.I. Pacurar and I. Perrone. 2014. Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. *Annu Rev Plant Biol*. 65: 639-666.
- Bertrand-García, R., L.L. Walling and T. Murashige. 1992. Analysis of polypeptides associated with shoot formation in tobacco callus cultures. *American Journal of Botany* 79 (5): 481-487.
- Blanco-Valdés, Y. 2019. Importancia de la calidad de la luz entre las plantas arvenses-cultivo. *Cultivos Tropicales*. 40(4):.e09.
- Bronner, R., G. Jeannin and G. Hahne. 1994. Early cellular events during organogenesis and somatic embryogenesis induced on immature zygotic embryos of sunflower (*Helianthus annuus*). *Canadian Journal of Botany* 72(2): 239-248.
- Cano, E., J.M. Pérez-Pérez and M. Acosta. 2014. Adventitious root development in ornamental plants: insights from carnation stem cuttings. *Soil Biology Series: Root Engineering* 40: 423-441.
- Cardenas. L.M.A. y M.A. Villegas. 2002. Potencial osmótico del medio de cultivo con diferentes componentes para la propagación *in vitro*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(2):213-117.
- Cardoza, V. 2008. Tissue culture: The manipulation of plant development. En: Neal C. Stewart. Jr. (eds) *Plant Biotechnology and Genetics: Principles, Techniques and Applications*. John Wiley and Sons, Inc. pp 113-132.
- Chávez-García, J.A., M. Andrade-Rodríguez, P. Juárez-López, O.G. Villegas-Torres, H. Sotelo-Nava y F. Perdomo-Roldan. 2018. Evaluación de tres sistemas de cultivo *in vitro* para la multiplicación de microcormos de gladiolo. *Rev. Fitotec. Mex.* 41(4a):551-554.

- Da Rocha-Correa, L., J. Troleis, A.A. Mastroberti, J.E. Mastroberti and A.G. Fett-Neto. 2012. Distinct modes of adventitious rooting in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biol. (Stuttg)* 14:100–109.
- De Almeida, M., É.M. Graner, G.E. Brondani, L.S. de Oliveira, F.A. Artioli, L.V. de Almeida and K.D. Batagin-Piotto. 2015. Plant morphogenesis: theoretical bases. *Advances in Forestry Science* 2(1): 13-22.
- De Klerk, G.J., W. Van der-Krieken and J.C. de Jong. 1999. The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 35:189-199.
- Della-Rovere, F., L. Fattorini, S.D. Angeli, A. Velocchia, G. Falasca and M.M. Altamura. 2013. Auxin and cytokinin control formation of the quiescent centre in the adventitious root apex of *Arabidopsis*. *Annals of Botany* 112(7): 1395–1407.
- Duarte, E.R., S.P. Rocha y F.O. Niella. 2017. Cultivo *in vitro* de embriones cigóticos: una estrategia de conservación para *Austrochthamalia teyucuaensis* H.A. Keller. *Yvyaretá* 24(5):51-56.
- 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.
- Ferl, R. and Paul A. L. 2000. Genome organization and expression. En: Buchanan B., Gruissem W., Jones R. (eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (pp. 312-357), USA: American Society of Plant Physiologists.
- García, Y., J.M. Ramos y J. Becerra. 2011. Semillas forestales para la restauración ecológica. *Biodiversitas* 94: 12-15.
- Garay-Arroyo A., M. de la Paz-Sánchez, B. García-Ponce, E.R. Álvarez-Buylla y C. Gutiérrez. 2014. La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *REB Rev Educ Bioquímica.* 33(1):13-22.
- George, E.F. and P.C. Debergh. 2008. Micropropagation: Uses and methods. En: George, EF, Hall M. A. and De Klerk G.J. (Eds) *Plant propagation by tissue culture.* 3rd Edition. pp. 29-64. Springer.
- Greb, T. y J.U. Lohmann. 2016. Plant stem cells. *Current Biology* 26(17); 816-821.
- Guevara, Y., I. Suárez y J. Salgado. 2012. Inducción y proliferación *in vitro* de tejidos celulares de bata (*Ipomoea batatas* L.Lam.) en medio con 2,4-D. *Temas Agrarios* 17(2):9-17.
- Gurdon, J.B. 1974. The control of gene expression in animal development. Cambridge Mass: Harvard University Press.
- Hernandez-Marroquin, V.R. 2021. La falsa promesa de la clonación. *Revista de la Universidad de Mexico.* Disponible en: <https://www.revistadelauniversidad.mx/articles/7f8ebb3e-fe28-49bf-b751-33accee878cd/la-falsa-promesa-de-la-clonacion>.
- Hussain, A., I.A. Qarshi, H. Nazir and I. Ullah. 2012. Plant tissue culture: current status and opportunities. En: A. Levay L. M. Rinaldi, *Recent Advances in Plant in vitro Culture.* pp. 1-28.
- Ikeuchi, M., Y. Ogawa, A. Iwase and K. Sugimoto. 2016. Plant regeneration: Cellular origins and molecular mechanisms. *Development* 143:1442–1451.
- Ibañez, S., E. Carneros, P.S. Testillano and J.M. Perez-Perez. 2020. Advances in plant regeneration: Shake, Rattle and Roll. *Plants* 2020, 9, 897. doi:10.3390/plants9070897.
- Larson, A., Z.C.G. Hasbún, V.R. Jofré, M.P.M. Sánchez-Olate y L.D. Ríos 2017. Efecto del genotipo y fuente de citoquinina en la etapa de iniciación de cultivo *in vitro* de tejido adulto de *Castanea sativa* Mill. *Gayana. Botánica* 74(1):30-40.
- Lema, R.J. and D. Kulus. 2014. Micropropagation of cacti-A review. *Haseltonia.* 19:46-63.
- Levitus, G., V. Echenique, C. Rubinstein, E. Hopp y L. Mroginski. 2010. Biotecnología y mejoramiento vegetal II. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina. 258 p.
- Martín, R., B. Chong-Pérez y N. Pérez-Alonso. 2015. Organogénesis *in vitro* en el género *Digitalis*. *Biotecnología Vegetal* 15(4):195-206.
- Martínez-Villegas, Y.M., M. Andrade-Rodríguez, M.T. Colinas-León, Ó.G. Villegas-Torres, A. Castillo-Gutiérrez e I. Alía-Tejacal. 2015. Efecto de las sales inorgánicas del medio de cultivo en el crecimiento de pascuíta (*Euphorbia leucocephala* Lotsy). *Revista Fitotecnia Mexicana* 38(4):369-374.

- Miguel-Luna, M.E., J.R. Enríquez-del Valle, V.A. Velasco-Velasco, Y. Villegas-Aparicio, J.C. Carrillo-Rodríguez y G. Rodríguez-Ortíz. 2013. Composición del medio de cultivo y la incubación para enraizar brotes de agaves. *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas* 4(6):1151-1159.
- Miguel-Luna, M.E., J.R. Enríquez-del Valle, V.A. Velasco-Velasco, Y. Villegas-Aparicio y J.C. Carrillo-Rodríguez. 2014. Concentración de benciladenina, tipo y dosis de carbohidratos en el medio de cultivo para proliferación de brotes de *Agave americana*. *UNCUYO* 46(1):97-107.
- Mohammed, A., B. Yücesan, Ö. Demir-Ordu, C. Cihangir, I. Eker, W. Kreisand E. Gürel. 2015. *In vitro* regeneration and cardenolide determination of an endemic foxglove, *Digitalis cariensis*. *In Vitro Cell DevBiol-Plant* 51:438-444.
- Monja-Mio, K.M. and M.L. Robert. 2013. Direct somatic embryogenesis of *Agave fourcroydes* Lem. through thin cell layer culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 49:541-549.
- Molinos-da Silva, C. Villegas-Monter, A. Sanchez-Garcia, P. Alcantar-Gonzalez, G. Rodriguez-Mendoza, M. Ruiz-Posadas y L. del Mar. 2004. Efecto del potencial osmótico y contenido de Ca en el medio de cultivo sobre la distribución de Ca²⁺ y K⁺, producción de biomasa y necrosis apical de VID "R110". *Interciencia* 29(7):384-388.
- Moradi, K. and M. Otrushy. 2012. A combination of chemical scarification and 6-Benzylaminopurine (BAP) treatment promote seed germination in *Dracocephalum kotschy* seeds. *Trakia Journal of Sciences* 10(3):26-29.
- Morales-Rubio, M.E., C. Espinoza-Leal y R.A. Garza-Padron. 2016. Cultivo de tejidos vegetales y su aplicación en productos naturales. En: Rivas-Morales, C., M.A. Oranday-Cardenas y M.J. Verde-Star (Eds.). *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona, España: Omni-science. 351-410. <http://dx.doi.org/10.3926/oms.315>.
- Pierik, R.L.M. and H.H.M. Steegmans. 1975. Analysis of adventitious root formation in isolated stem explants of rhododendron. *Scientia Hort.* 3:1-20.
- Radice, S. 2014. Parte II morfogenesis *in vitro*. National Scientific and Technical Research Council pp. 1-8.
- Rahmani, M.S, P.M. Pijut and N. Shabanian. 2016. Protoplast isolation and genetically true-to-type plant regeneration from leaf- and callus-derived protoplasts of *Albizia ju librissin*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 127:475-488. <https://doi.org/10.1007/s11240-016-1072-8>.
- Rasmussen, A., M.G. Mason, C. De Cuyper, P.B. Brewer, S. Herold, J. Agustí, D. Geelen, T. Greb, S. Goormachtig, T. Beeckman and C.A. Beveridge. 2012. Strigolactones suppress adventitious rooting in *Arabidopsis* and pea. *Plant Physiol* 158: 1976-1987.
- Ríos-Ramírez, S.C., J.R. Enríquez-del Valle, G. Rodríguez-Ortiz and J. Ruíz-Luna. 2017. Benzylaminopurine and indol-3-acetic acid concentrations in *in vitro* proliferation of *Agave angustifolia* adventitious shoots. *Cien. Inv. Agr.* 44(3):285-294.
- Ríos-Ramírez, S.C., J.R. Enríquez-del Valle, G. Rodríguez-Ortiz, J. Ruíz-Luna and V.A. Velasco-Velasco. 2018. *In vitro* formation of adventitious shoots on caulinary tissue of physiologically contrasting *Agave angustifolia* plants. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 30(1): 49-56. doi: 10.9755/ejfa.2018.v30.i1.1584.
- Rodríguez-Sahagún, A, J.M. Rodríguez, B. Rodríguez-Garay and G. Acevedo-Hernandez. 2011. Effect of light quality and culture medium on somatic embryogenesis of *Agave tequilana* Weber var. Azul. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 104(2):271-275.
- Rueda-Sánchez, A., J. de D. Benavides-Solorio, J.T. Saenz-Reyez, H.J., Muñoz-Flores, J.A. Prieto-Ruiz y G. Orozco-Gutiérrez. 2013. Calidad de planta producida en los viveros forestales de Nayarit. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 5(22):58-73.
- Sadhu, M.K. 1989. *Plant propagation*. New Delhi. Wiley Eastern Limited. 287 p.
- Sanchez-Calvo, L. and S. Alvarenga-Venutolo. 2014. Callogenesis y establecimiento del cultivo de células en suspensión de *Uncaria tomentosa* (Willd). D.C. (uña de gato). *Tecnología en Marcha* 28(1):105-120.
- Sanchez, J., R. Cabrera-Pintado y D.J. Jimenez. 2019. Inducción de embriogénesis somática a partir de explantes foliares en tres variedades de café. *Scientia Agropecuaria* 10(2):259-264.

- Smith, R. 2013. Plant tissue culture. Techniques and Experiments. 3rd edition. USA. 46-67.
- Suarez, I.E. e I.R. Quintero. 2014. Micropropagación de *Stevia rebaudiana* Bertoni, un endulzante natural a través de explantes con meristemos pre existentes. *Revista Colombiana de Biotecnología* 16(1):29-33.
- Tamayo-Torres, L.G. y K.M. Monja-Mio. 2021. El destino *in vitro* de una célula vegetal. *Ciencia* 72(2): 56-63.
- Trewavas, A. 1981. How do plant growth substances work? *Plant, Cell and Environment* 4: 203-228.
- Vacca-Molina, M., M.L.C. Bonomo, Z. Aviles y L. Diaz. 2014. Imduccion de callos embriogénicos y formación de proembriones somáticos en *Pterogynenitens* TULI tipa colorada. *Revista Colombiana de Biotecnología* 16(2):194-203.
- Vargas, G., G. Arellano y E. García. 1997. Propagación por estacas con hojas de icaco (*Chrysobalanus icaco* L.) y anatomía del enraizamiento. *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.* 41:264-269.
- Verma, S., B. Yücesan, G. Sahin, S. Gürel and E. Gürel. 2011. Indirect somatic embryogenesis and shoot organogenesis from cotyledonary leaf segments of *Digitalis lamarckii* Ivan, an endemic medicinal species. *Turk J Biol.* 35:743-750.
- Vidal, N., G. Arellano, M.C. San-José, A.M. Vieitez and A. Ballester. 2003. Development stages during the rooting of *in vitro* cultured *Quercus robur* shoots from material of juvenile and mature origin. *Tree Physiol.* 23:1247-1254.
- Vidal, J., A.M. Sabaja, D. Rios-Leal, A. Lara-Aguilar, P.J. Donoso, M.E. Gonzalez y B. Escobar. 2011. Potencial de la organogénesis como estrategia para la masificación *in vitro* de *Fitzroya cupressoides* en Sudamerica Austral. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 17(3): 423-433.
- Vidoz, M.L., E. Loreti, A. Mensuali, A. Alpi and P. Perata. 2010. Hormonal interplay during adventitious root formation in flooded tomato plants. *The Plant Journal* 63:551-562.
- Weaver, R.J. 1976. Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura. Editorial Trillas S.A. México. 622 p.
- Weiss, D. and N. Ori. 2007. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones *Plant Physiol.* 144:1240-1246.
- Zhang, T.Q., H. Lian, H. Tang, K. Dolezal, C.M. Zhou, S. Yu, J.H. Chen, Q. Chen, H. Liu and K. Ljung. 2015. Un temporizador de microARN intrínseco regula la disminución progresiva de la capacidad de regeneración de los brotes en las plantas. *Célula Vegetal* 27: 349-360.