

Figura 1. Cultivo de tejidos y células vegetales. Mediante estas técnicas biotecnológicas es posible establecer cultivos in vitro a partir de cualquier planta para producir compuestos de interés.



El tema del mes

Cultivo de tejidos y células vegetales para la producción de compuestos bioactivos

Hypatia Arano Varela

Depto. Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Lerma
h.arano@correo.ler.uam.mx

Las plantas superiores tienen la capacidad de fabricar una gran variedad de productos orgánicos de bajo peso molecular (como compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides) a partir de precursores inorgánicos simples. Esa capacidad de síntesis ha sido esencial para su reproducción, la colonización de diferentes ambientes, el establecimiento de relaciones simbióticas y especialmente para su supervivencia. Comúnmente, esos compuestos son referidos como: **metabolitos secundarios o especializados, fitoquímicos o productos naturales** [2].

En términos generales, los productos naturales, engloban a todos los compuestos derivados de algún organismo vivo (animales, microorganismos y plantas). Estos organismos producen metabolitos primarios (como polisacáridos y proteínas) y secundarios que poseen diversas actividades biológicas (como antibióticos y antifúngicos), razón por la cual se mantienen como fuente principal de **compuestos bioactivos** [1].

Industrialmente, los **metabolitos secundarios (ms)** son valiosos para la elaboración de insecticidas, cosméticos, productos nutracéuticos y combustibles. Además, por siglos estos compuestos han sido de gran interés para el Hombre: son útiles para el tratamiento de diversas enfermedades humanas y su aplicación como fármacos terapéuticos en la **medicina tradicional** de diferentes culturas está bien documentada. En la actualidad, su uso representa la principal estrategia para combatir importantes problemas de salud, por lo que son la base para un considerable número de **medicamentos** [2, 4].

En la actualidad, los **ms** son obtenidos directamente de plantas silvestres o cultivadas, y esto se debe principalmente a que, su síntesis

química, por un lado, no es viable económicamente hablando, ya que, debido a su complejidad estructural y estereoquímica, en muchos casos involucra múltiples reacciones, algunas muy costosas. Por otro lado, la síntesis completa no se ha logrado para muchos compuestos. Además, con frecuencia los sustitutos sintéticos no exhiben la misma eficacia y/o especificidad farmacobiológica. Asimismo, el uso de microorganismos para obtener **ms** vía semi-síntesis no es muy común, mientras que el uso de biorreactores híbridos es más común en vegetales. En este tipo de biorreactores, las raíces primero son crecidas en “reactores en fase líquida”, es decir, en medio de cultivo es líquido, posteriormente son retiradas del medio líquido, y pasan a la fase conocida como “fase gaseosa”, es decir, las raíces pasan a los “reactores de fase gaseosa” donde continúan recibiendo los nutrientes por medio de aspersiones o por medio de nebulizaciones [5, 7].

Aún la extracción de estos compuestos a partir de recursos naturales, es per se complejo por factores como: i) baja concentración de metabolitos, ii) recursos naturales limitados (en algunos casos podría conducir a su extinción), iii) lenta velocidad de crecimiento, iv) restricción de producción a algunos órganos, especies y/o géneros, v) producción condicionada a etapas de crecimiento y desarrollo o sólo bajo ciertas condiciones estacionales y/o nutricionales. También importan cuestiones como la adecuada identificación botánica, la calidad del material vegetal y su composición química (la cual puede variar entre individuos aun perteneciendo a la misma especie) [4, 7].

Situaciones como el cambio climático



Figura 2. Callo vegetal.

y otras causas antropogénicas, también han contribuido a la disminución y/o extinción de especies, que, junto con el excesivo uso de las plantas y sus productos, han generado una brecha importante entre su oferta y su demanda. Por tales razones, es importante el desarrollo de estrategias sustentables y económicas para la obtención de **compuestos bioactivos** [4].

En ese sentido, el **cultivo de tejidos vegetales (CTV)**, representa una herramienta biotecnológica fundamental para la obtención de algunos de esos metabolitos pero que también es esencial para la investigación básica y aplicada. El **CTV** se refiere al **cultivo aséptico in vitro de células, tejidos y/o órganos vegetales bajo condiciones físicas y químicas definidas**. Esta técnica data de 1902, cuando el botánico australiano Gottlieb Haberlandt, reportó la formación de **callos** y por vez primera logró la regeneración total de una planta en condiciones de laboratorio (ver Figura 2). Gracias a que sentó las bases teóricas para el uso de CTV, y a que introdujo el concepto de **totipotencia**, a Gottlieb se le reconoce como el fundador del **CTV**.

Posteriormente, durante las primeras décadas del siglo pasado fueron establecidos los primeros cultivos *in vitro*, se desarrollaron medios de cultivo y métodos, cuyo uso ha trascendido [6, 7].

El uso de **CTV** como tecnología para el análisis y la producción de **ms**, se estableció a finales de 1960. Desde entonces, su uso se ha incrementado a nivel mundial para obtener y/o incrementar la producción de metabolitos de interés farmacéutico valiosos como el taxol, berberina, vinblastina, ácido rosmarínico y resveratrol. Además, el uso de CTV ha impactado en campos como la citología, mejoramiento genético, genética funcional, conservación de germoplasma, micropropagación y producción heteróloga de metabolitos y proteínas. Adicionalmente, se intensificó el uso de cultivos celulares indiferenciados en suspensión y de tejidos diferenciados, como embriones somáticos, raíces adventicias y brotes [7, 8].

Hoy día, los cultivos pueden ser originados a partir de prácticamente cualquier especie vegetal (incluyendo especies medicinales no modelo como hierba de San Juan, cóleo, planta de té y ashwagandha) y de cualquier

tejido. Inicialmente, los **explantes** deben ser desinfectados y posteriormente colocados en un medio de cultivo estéril (usualmente enriquecido con una fuente de carbono, nutrientes orgánicos, minerales y **reguladores de crecimiento vegetal**, todos ellos necesarios para dirigir respuestas de desdiferenciación y/o diferenciación celular) bajo condiciones físicas de cultivo in vitro controladas, como luz y temperatura (ver Figura 3) [3, 7, 8].

La obtención de **ms** a partir de **CTV** se basa en la premisa de que: 'cualquier célula es metabólicamente totipotente', es decir, que a nivel genómico y bioquímico poseen las piezas necesarias para producir los mismos compuestos que los presentes en la planta origen [8]. A menudo, el **CTV** es la única fuente rentable para suministrar compuestos activos en abundancia y aunque los rendimientos de producción son predominantemente bajos, estos pueden ser mejorados biotecnológicamente [4].

La producción de **ms** mediante **CTV** es renovable y ecológica. Además: la producción de compuestos es ajena a condiciones ambientales externas; las células de cualquier especie de interés pueden ser clonadas con el propósito de aumentar la obtención de metabolitos específicos, 'bio-fabricas'; es posible seleccionar cultivos altamente productores de compuestos; la obtención de productos puede lograrse en periodos cortos de cultivo (de 2 a 4 semanas); los costos de producción son reducidos y la productividad alta [3, 7].

Es importante mencionar que un conjunto de problemas inherentes al cultivo celular como las **variaciones somaclonales**, aunado al limitado conocimiento sobre las rutas de biosíntesis y de los mecanismos moleculares tras la producción de estos compuestos, ha resultado con frecuencia en bajos rendimientos de producción, razón por la cual pocos compuestos bioactivos son obtenidos a nivel industrial vía **CTV**. No obstante, se ha reportado que el **CTV** en conjunto con la aplicación expansiva de tecnologías 'ómicas' así como el desarrollo de técnicas de manipulación genética, ingeniería metabólica, expresión heteróloga de genes y técnicas de edición de genomas, podrían ser estrategias ventajosas para incrementar los rendimientos de producción, pero, en este sentido, aún queda mucho por explorar, especialmente en especies no modelo [3, 4, 8]. 

Glosario

Callo: masa desorganizada de células no diferenciadas.

Totipotencia: es el potencial que tiene una célula, para dar lugar a un individuo completo, independientemente de que la célula sea de raíz, hoja, flor, tallo, etc.

Explante: tejido vegetal aislado que dará origen a los cultivos como embriones, hojas, tallos, raíces y/o meristemas.

Reguladores de crecimiento vegetal: compuestos que regulan el crecimiento, desarrollo y las respuestas de defensa vegetal. Erróneamente llamadas fitohormonas.

Variaciones somaclonales: variaciones en el genoma inducidas por el cultivo con repercusiones fenotípicas.

Referencias

- [1] Baker DD, Chu M, Oza U, Rajgarhia V (2007) The value of natural products to future pharmaceutical discovery. *Nat Prod Rep.* 24:1225-1244. <https://doi.org/10.1039/b602241n>
- [2] Forni C, Facchiano F, Bartoli M, Pieretti S, Facchiano A, D'Arcangelo D, Norelli S, Valle G, Nisini R, Beninati S, Tabolacci C, Jadeja NR (2019) Beneficial role of phytochemicals on oxidative stress and age-related diseases. *BioMed Res Int.* 8748253:1-16. <https://doi.org/10.1155/2019/8748253>
- [3] Hussain MS, Fareed S, Ansari S, Rahman M, Ahmad IZ, Saeed M (2012) Current approaches toward production of secondary plant metabolites. *J Pharm Bioall Sci.* 4:10-20. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.92725>
- [4] Marchev AS, Yordanova ZP, Georgiev MI (2020) Green (cell) factories for advanced production of plant secondary metabolites. *Crit Rev Biotechnol.* 40:443-458. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1731414>
- [5] Oksman-Caldentey K-M, Inze D (2004) Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. *Trends Plant Sci.* 9:433-440. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.07.006>
- [6] Thorpe TA (2007) History of plant tissue culture. *Mol Biotechnol.* 37:169-180. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0031-3>
- [7] Wilson SA, Roberts SC (2012) Recent advances towards development and commercialization of plant cell culture processes for synthesis of biomolecules. *Plant Biotechnol J.* 10:249-268. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00664.x>
- [8] Yue W, Ming Q, Lin B, Rahman K, Zheng C-J, Han T, Qin L (2016) Medicinal plant cell suspension cultures: pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites. *Crit Rev Biotechnol.* 36:215-232. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.923986>

Figura 3. Cultivos vegetales. Los cultivos vegetales pueden ser originados a partir de prácticamente cualquier especie vegetal, bajo condiciones de crecimiento controladas, como temperatura, luz y nutrientes.



"Nadie comprende todavía la misteriosa inteligencia que hay en el seno de las plantas, o el alcance de la idea de que la naturaleza comunica, en un lenguaje básicamente químico, lo que es inconsciente pero profundo"
-Terrence McKenna