

LA ORGANOGENESIS COMO ALTERNATIVA DE PROPAGACIÓN *in vitro* DE PLANTAS MEDICINALESYanet Aracely Estrella-Canul¹, Pedro Rogelio Catzim-Navarrete², Fidel Morales-Couoh² y Lilian Viviana Catzin-Navarrete²**Tecnológico Nacional de México.** Instituto Superior del Sur del Estado de Yucatán. Carretera Muna-Felipe Carrillo Puerto, tramo Oxkutzcab-Akil, km 41+400, 97880 Oxkutzcab, Yucatán. ¹Estudiante de Ingeniería Bioquímica. ²Docente del ITSSY.**Autor de correspondencia:** lcatzin@suryucatan.tecnm.mx (Lilian Viviana Catzin-Navarrete)

Recibido: 02/diciembre/2023

Aceptado: 15/diciembre/2023

Publicado: 31/diciembre/2023

RESUMEN

Las plantas medicinales son consideradas como uno de los recursos importantes desde tiempos remotos; no obstante, los métodos de conservación y producción convencionales tienen limitaciones o son insuficientes para satisfacer su demanda. El presente trabajo analiza investigaciones recientes sobre la aplicación de la organogénesis en ocho plantas medicinales, clasificadas como plantas importantes (*Tymus serpyllum* L., *Solanum viarum* Dunal), plantas subutilizadas (*Ledebouria revoluta* (L.f.) Jessop), plantas de gran demanda (*Phaseolus vulgaris* L., *Allium sativum* L.) y plantas en peligro (*Mondia whitei* (Hook.f.) Skeels, *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch y *Pogostemon cablin* Benth). La investigación de la aplicación del método de organogénesis se realizó mediante la búsqueda de artículos científicos pertenecientes al Journal Citation Reports con antigüedad no mayor a cinco años. Todas las especies analizadas tuvieron una respuesta positiva ante el método de organogénesis, aunque los estudios descritos difieren del método específico, los explantes y los inductores de crecimiento utilizados. La regeneración *in vitro* vía organogénesis puede ser empleada en estudios de transformación genética, producción en masa, obtención de plantas libres de virus y producción de semillas. Así mismo, ayuda a facilitar el aprovechamiento industrial y farmacéutico de las especies, agregándoles mayor valor a los recursos vegetales medicinales.

Palabras clave: *in vitro*, organogénesis, plantas medicinales, propagación, regeneración.

ORGANOGENESIS AS AN ALTERNATIVE FOR *in vitro* PROPAGATION OF MEDICINAL PLANTS

ABSTRACT

Medicinal plants have been considered one of the significant resources since ancient times; however, conventional conservation and production methods have limitations or are insufficient to meet their demand. The present work analyzes recent research on the application of organogenesis in eight medicinal plants, classified as essential plants (*Tymus serpyllum* L., *Solanum viarum* Dunal), underutilized plants (*Ledebouria revoluta* (L.f.) Jessop), plants with high demand (*Phaseolus vulgaris* L., *Allium sativum* L.) and endangered plants (*Mondia whitei* (Hook.f.) Skeels, *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch and *Pogostemon cablin* Benth). The application of the organogenesis method was investigated by searching for scientific articles belonging to the Journal Citation Reports no older than five years. All the species analyzed positively responded to the organogenesis method, although the studies described differ in the specific method, explants, and growth inducers used. *In vitro* regeneration via organogenesis can be used in genetic transformation studies, mass production, obtaining virus-free plants, and seed production. Furthermore, it helps facilitate the industrial and pharmaceutical use of the species, adding value to medicinal plant resources.

Keywords: *in vitro*, organogenesis, medicinal plants, propagation, regeneration

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional utiliza principalmente plantas con el fin de tratar enfermedades. El entendimiento de cómo las comunidades las utilizan brinda la posibilidad de explorar e indagar, cómo la flora se incorpora en su vida cotidiana. Numerosos estudios han evidenciado la variación que existe en la utilización de plantas, conocimientos y sistemas de curación medicinal en diferentes culturas (Teka et al., 2020).

Süntar (2019) advierte sobre la presencia de compuestos bioactivos, fundamentales para el desarrollo de fármacos utilizados para tratar dolencias que no cuentan con un medicamento específico. Asimismo, reporta la existencia de

ciertos impedimentos para realizar estudios, ya que algunas crecen solo en determinadas regiones, mientras que otras son amenazadas por el riesgo de extinción y sobreexplotación. En este sentido, dado que el estudio de las plantas medicinales puede ser difícil, se han desarrollado métodos modernos de propagación y conservación, como la organogénesis y la embriogénesis. Estos métodos tienen ventajas, ya que permiten un control completo del proceso, el crecimiento de las plantas es aséptico y se pueden multiplicar masivamente. Además, estos métodos permiten el estudio de plantas fuera de su lugar de origen (Deepak et al., 2019).

Diversos estudios científicos se han centrado en la organogénesis de plantas, examinando sus aplicaciones en

una variedad de especies vegetales. Los investigadores han empleado diferentes enfoques y técnicas según las necesidades específicas de las plantas estudiadas. La cantidad de especies de plantas regeneradas por este método es amplia, sin embargo, no en todas se utiliza el mismo método específico. Por ejemplo, en la especie *Solanum capsicoides* All. se analizó la regeneración de brotes a partir de explantes de plántulas, utilizando la organogénesis indirecta, formando órganos a partir de un callo que se origina en el explante e inducido por una combinación de reguladores de crecimiento (Dharman y Anilkumar, 2021). Para las especies *Ledebouria revoluta* (L.f) Jessop y *Pogostemon cablin* Benth, se utilizó la organogénesis directa, en la cual los órganos se formaron directamente a partir del explante sin pasar por una fase de callo (Haque et al., 2020; Lalthafamkimi et al., 2020). En el caso de *Phaseolus vulgaris* L., conocido popularmente como frijol común, se probó tanto la organogénesis directa como la indirecta (Yu et al., 2021). Otras especies como *Thymus serpyllum* L., *Solanum viarum* Dunal, *Mondia whitei* (Hook.f.) Skeels, *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch, el ajo (*Allium sativum* L.) y el coco (*Cocos nucifera* L.), fueron estudiadas por medio de shoot organogénesis, un caso particular de la organogénesis directa donde se produjo la formación de brotes (shoots) a partir del explante, sin pasar por una fase de callo (Khajuria et al., Kong et al., 2021; 2020; Pandey et al., 2020; Patricia et al., 2021; Sharma et al., 2018; Wen et al., 2020).

El método de organogénesis se ha vuelto uno de los métodos favoritos para la propagación rápida de plantas y, en especial, para la planta medicinal *Holostemma ada-kodien* Schult, especie nativa de la India y considerada en peligro de extinción; ya que su propagación de manera convencional, tanto por semillas como en esquejes, no logra satisfacer la demanda. Ante tal situación, se ha optado por aplicar la organogénesis, donde el origen del explante y el agente que promueve el crecimiento del callo tuvieron un impacto positivo en la formación de órganos (Martin, 2002). Asimismo, la organogénesis se ha utilizado en la especie *Arnebia euchroma*, planta medicinal en estado de peligro crítico, debido a que sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias y cicatrizantes han ocasionado su constante demanda. La respuesta de la planta ante el método de organogénesis fue buena, pero en menor medida comparado con el método de embriogénesis (Manjkhola, 2005).

La organogénesis es un método eficaz para propagar y conservar plantas medicinales sobre todo aquellas especies desconocidas, subutilizadas, en peligro o con gran demanda. Por tal motivo, el presente trabajo tiene el objetivo de recopilar, analizar y sintetizar información procedente de publicaciones científicas recientes sobre el método de organogénesis llevado a cabo en ocho plantas medicinales elegidas por medio de criterios enfocados a su estado actual de las especies. Estas fueron plantas importantes comercialmente y aromáticas: *Tymus serpyllum* L., *Solanum viarum* Dunal; plantas subutilizadas: *Ledebouria revoluta*

(L.f) Jessop; plantas de gran demanda: *Phaseolus vulgaris* L., *Allium sativum* L.; y plantas en peligro: *Mondia whitei* (Hook.f.) Skeels, *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch y *Pogostemon cablin* Benth.

MATERIAL Y MÉTODOS

La información de este trabajo fue recolectada por medio de la revisión exhaustiva de artículos de investigación con una antigüedad no mayor a cinco años, a excepción de dos trabajos citados, considerados como pioneros del área. Dichos artículos pertenecen al Journal Citations Reports. A partir del análisis de la información contenida en los artículos y el establecimiento de relaciones, se compararon los métodos específicos utilizados y se determinó la efectividad de la organogénesis en las plantas seleccionadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los métodos de propagación convencionales no son suficientes para producir la cantidad necesaria de plantas y satisfacer su demanda. Por el contrario, los métodos biotecnológicos modernos pueden garantizar una multiplicación exitosa de las plantas. La organogénesis como alternativa biotecnológica puede satisfacer la creciente demanda de la industria alimentaria y médica de determinadas plantas (Mitrofanova et al., 2021). Sin embargo, las razones de la aplicación del método de organogénesis pueden variar de acuerdo con las características de las especies. Por ejemplo, en la planta medicinal *S. viarum*, comercialmente importante, la propagación por semillas es ineficiente, ya que estas no germinan bajo condiciones comunes (Pandey et al., 2020). Así mismo, se ha comprobado que *L. revoluta* tiene potencial en medicina, sin embargo, es aún una planta subutilizada (Haque et al. 2020). Por otro lado, *M. whitei* cuenta con múltiples aplicaciones que aumentan su demanda, causando la implementado de métodos convencionales para conservarla, mismos que tienen muchas limitaciones para emplearlas (Patricia et al., 2021). Mientras que la planta aromática *T. serpyllum* es considerada medicinal con muchas aplicaciones (Khajuria et al. 2020). *P. vulgaris* al igual que *A. sativum* son reconocidas a nivel mundial por sus usos en gastronomía, aumentando su demanda y por consiguiente el cultivo acelerado, que trae consigo desbalances genéticos (Wen et al., 2020; Yu et al., 2021). Para *S. costus* disminuyeron las áreas de cultivo por propagación de semillas debido a su demanda, mismas que tienen poca disponibilidad, ya que se recolectan antes que maduren (Sharma et al., 2018). En cambio, la creciente demanda del aceite de *P. cablin* ha provocado su propagación por esquejes, pero se ha visto afectado por el virus del mosaico y otras plagas, que reducen la producción (Lalthafamkimi et al., 2020).

Dadas las condiciones de las ocho especies mencionadas, es relevante la utilización de los distintos tipos de organogénesis para conservar, propagar y satisfacer su

demanda de manera eficiente El método de organogénesis empleado y el explante utilizado fue específico para cada planta (Tabla 1).

Tabla 8. Método de organogénesis y explante utilizado en cada especie

Planta medicinal	Método específico	Explante
<i>Tymus serpyllum</i> L.	Shoot organogénesis	Segmento nodal
<i>Solanum viarum</i> Dunal	Shoot organogénesis	Hoja, pecíolo y entrenudo
<i>Ledebouria revoluta</i> (L.f) Jessop	Directa	Segmento rectangular de lámina foliar
<i>Mondia whitei</i> (Hook.f.) Skeels	Shoot organogénesis	Hoja
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Directa e indirecta	Nodos con uno y dos cotiledones, ejes embrionarios y segmentos de raíces de semillas.
<i>Allium sativum</i> L.	Shoot organogénesis	Inflorescencias
<i>Saussurea costus</i> (Falc.) Lipsch	Shoot organogénesis	Brotos de puntas
<i>Pogostemon cablin</i> Benth	Directa	Hojas con brotes

Fuente: Khajuria et al. (2020); Pandey et al. (2020); Haque et al. (2020); Patricia et al. (2021); Yu et al. (2021); Wen et al. (2020); Sharma et al. (2018); Lalthafamkimi et al. (2020).

A partir de la selección del tipo de explante se realizaron investigaciones en las diferentes especies. Para cada una de ellas se consideró el medio del cultivo y su enriquecimiento con distintas concentraciones de inductores, así como las condiciones para su crecimiento. Estos factores llevaron a la obtención de diferentes resultados en cada especie.

Thymus serpyllum L.

Especie comúnmente conocida como Banajwain o tomillo silvestre que crece en la región india del Himalaya, destaca por su característica aromática, así como por sus usos medicinales y mágico-religiosos tradicionales. Sobre el contenido de aceite esencial Khajuria et al. (2020) señala que es utilizado para tratar resfriado común, tos crónica, caída del cabello, reumatismo, así como afecciones veterinarias.

En el estudio realizado por Khajuria et al. (2020) sobre la regeneración *in vitro* de *T. serpyllum*, derivado de muestras recolectadas de su hábitat natural en cuatro regiones de la India, evitaron mediante enjuagues con agua destilada, jabón líquido y peróxido de hidrógeno la contaminación y pardeamiento. Asimismo, se esterilizaron (bajo campanas de flujo laminar) y se cultivaron en tubos de ensayo, para posterior 6 semanas, tomar datos de crecimiento, enraizar microbrotes y aclimatar las plantas. Los principales problemas del cultivo *in vitro*, reportado previamente en otras especies de *Tymus*, fueron el pardeamiento letal y la contaminación, que se intentaron evitar al principio del estudio.

Estos fueron tratados por medio de la inmersión de los explantes en ácido ascórbico, y se utilizó medio Murashige y Skoog (MS) fortificado con citoquininas para inocular las

plantas. A pesar de que hubo formación de brotes, la cantidad de estos no fue la esperada, por lo que se rescató la preferencia de organogénesis directa sobre la indirecta. La formación de raíces tuvo variaciones dependiendo de las auxinas utilizadas y la concentración de estas (Tabla 2). Se obtuvo un porcentaje de 66.67% con ácido indolbutírico (IBA), 43.33% con ácido indolacético (IAA) y 53.33% con ácido naftalenacético (NAA). El 90% de las plantas regeneradas bajo condiciones de laboratorio pudieron sobrevivir, sin embargo, las que fueron plantadas en condiciones ambientales murieron en su totalidad pasados dos días.

Tabla 9. Efecto del medio MS y la concentración de los reguladores del crecimiento en el enraizamiento

Tratamiento	Número de raíces por brote	Longitud de la raíz (cm)
Control	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
MS de potencia completa con 0.5 mg L ⁻¹ IAA	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
MS de potencia completa con 0.5 mg L ⁻¹ IBA	1.46 ± 1.88	0.96 ± 1.22
MS de potencia completa con 0.5 mg L ⁻¹ NAA	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
MS de potencia completa con 1.0 mg L ⁻¹ IAA	1.67 ± 1.82	1.12 ± 1.67
MS de potencia completa con 1.0 mg L ⁻¹ IBA	2.13 ± 1.71	1.87 ± 1.36
MS de potencia completa con 1.0 mg L ⁻¹ NAA	1.80 ± 2.17	1.32 ± 1.56
MS de media potencia con 0.5 mg L ⁻¹ IAA	2.93 ± 2.25	2.12 ± 1.45
MS de media potencia con 0.5 mg L ⁻¹ IBA	5.63 ± 3.13	3.21 ± 1.51
MS de media potencia con 0.5 mg L ⁻¹ NAA	2.83 ± 1.87	2.76 ± 1.63
MS de media potencia con 1.0 mg L ⁻¹ IAA	3.30 ± 1.93	2.34 ± 1.22
MS de media potencia con 1.0 mg L ⁻¹ IBA	11.67 ± 3.03	3.88 ± 0.71
MS de media potencia con 1.0 mg L ⁻¹ NAA	3.67 ± 1.59	2.52 ± 0.58

Fuente: Adaptado de Khajuria et al. (2020).

Solanum viarum Dunal

Pertenece a la familia *Solanaceae*, crece dentro del subcontinente asiático y aunque generalmente se refiere a ella como especie invasora en África occidental, se utiliza para tratar el dolor de muelas y la adolescencia temprana. En la India sirve para tratar enfermedades como lepra y diabetes mellitus (Pandey et al., 2020).

Un estudio llevado a cabo por Pandey et al. (2020) en *S. viarum*, se enfoca en la aplicación del método de shoot organogénesis. En él se utilizaron genotipos espinosos y sin espinas para su estudio cultivados en medios MS suplementados. A partir de plantas previamente cultivadas *in vitro*, se recolectaron entrenudos frescos, pecíolos y segmentos de hojas (Figura 1a). Los explantes se inocularon en medios MS suplementados con Thidiazuron (TDZ) y 6-Bencilaminopurina (BA), que fueron transferidos a otro medio al alcanzar de 2 a 3 cm de altura y se incubaron por 3 semanas con condiciones de humedad controladas. Todos los

explantos se convirtieron en brotes directamente, a excepción de los pecíolos, en donde hubo formación de callos e indujo a la diferenciación. Tanto el genotipo con espinas y sin espinas tuvieron buenos porcentajes de regeneración, sin embargo, la incubación en el medio TDZ fue mejor en comparación con el medio BA. Específicamente, los segmentos de hojas y pecíolos espinosos mostraron mayor frecuencia que las no espinosas, en cualquier medio (TDZ o BA). Los brotes regenerados del genotipo espinoso (Figura 1b) fueron cortados y transferidos a otro medio para la formación de raíces y posteriormente fueron aclimatados en invernadero en donde sobrevivieron alrededor del 92%. El 90% del genotipo no espinoso sobrevivió en el invernadero.

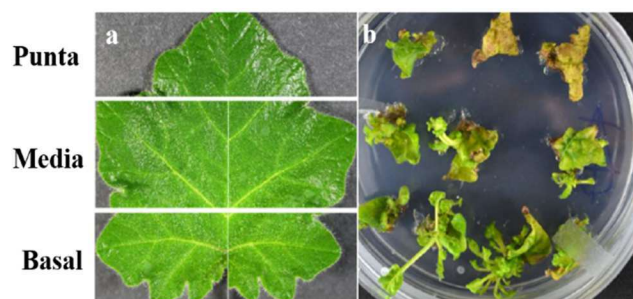


Figura 9. Regeneración de brotes del genotipo espinoso. a) porciones de hoja inoculadas en medio MS, b) desarrollo de brotes de las hojas. Fuente: Adaptado de Pandey et al. (2020).

Ledebouria revoluta (L.f.) Jessop

Es una planta monocotiledónea de la familia *Asparagaceae* conocida popularmente como esquila india o Jangali pnyaaj. Es utilizada en la India y Sudáfrica como medicina ya que reporta actividades cardioprotectoras, gastrointestinales, antiinflamatorias, antiasmáticas antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes y diuréticas, además el bulbo de la planta se utiliza como sustituto de cebolla (Haque et al. 2018; Haque et al. 2020).

Un estudio en *L. revoluta* llevado a cabo por Haque et al. (2020) utiliza la organogénesis como medio de propagación en *L. revoluta*. Las muestras se tomaron de plantas libres de infección previamente establecidas *in vitro*. Se utilizó medio MS con diferentes concentraciones de citoquininas kinetina (KIN), BAP y TDZ, tanto para la inoculación como para el enraizamiento. Se encontró que las tres citoquininas en altas concentraciones tienen capacidad para inducir brotes. Se demostró que las vías embrionarias cambiaron a organogénicas como resultado del retiro de las auxinas. BAP demostró ser mejor inductor que TDZ y KIN, sin embargo, con una concentración excedida la eficacia es menor. La efectividad de la inducción de raíces se debe a la concentración del medio MS, que va desde concentración completa hasta 1/4 de concentración, complementado con IBA (Figura 2). No se llevó a cabo la formación de callos y la diferenciación, por lo que se reduce el tiempo de regeneración y por consiguiente resulta eficiente para la propagación comercial (Haque et al., 2020).

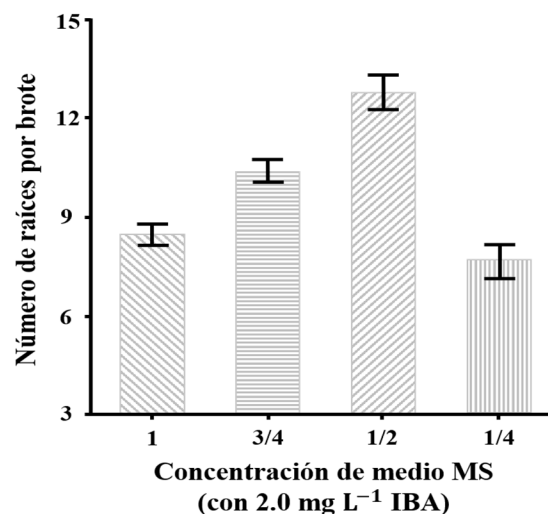


Figura 10. Efecto de las cuatro concentraciones del medio MS en el enraizamiento. Fuente: Adaptado de Haque et al. (2020).

Mondia whitei (Hook.f.) Skeels

También conocida como jengibre africano, es una planta trepadora medicinal que crece en los bosques subtropicales y tropicales de África. Destaca por su aplicación como antidepresivo y en el tratamiento de problemas gastrointestinales, anorexia y asma. Dado su potencial medicinal se ha generado una continua sobreexplotación, aumentando su demanda y, por consiguiente, ubicándola en situación de peligro (Patricia et al., 2021).

Un estudio sobre shoot organogénesis en *M. whitei*, fue llevado a cabo por Patricia et al. (2021), quienes recolectaron muestras del Jardín Botánico de Entebbe. Los explantes fueron hojas inmaduras procedentes de plántulas de cuatro meses de edad, que se lavaron, enjuagaron y esterilizaron. Se cortaron y cultivaron discos foliares en medio MS fortificado con ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) para la inducción de callos. Posteriormente, el callo se cultivó en medio MS fortificado con BAP, para formar yemas, las cuales también fueron transferidas a otro medio MS con BAP para enraizamiento. Pasadas 8 semanas, se trasplantaron a vasos de plástico con tierra de jardín, con condiciones de luz y humedad controladas. Conforme crecían se transferían a otros recipientes más grandes hasta ser plantados en campos de agricultores. Los resultados de la inducción de callos y el color de estos tuvieron variaciones de acuerdo con la concentración de 2,4-D; obteniendo un 100 % en la inducción a concentraciones mayores a 0.5 mg L⁻¹ y sin variaciones en su textura en concentraciones de 0.5 a 2.5 mg L⁻¹ (Tabla 3). La inducción de yemas tuvo mayor éxito en medios con concentración 0.5 mg L⁻¹ de BAP. Hubo formación de brotes en todos los experimentos, pero el porcentaje varió de acuerdo con la concentración de BAP. El enraizamiento fue 80% exitoso y durante la aclimatación de las plántulas sobrevivió el 70% de estas, de las cuales el 80% sobrevivió en el campo.

Tabla 10. Efectos de la concentración de 2,4-D (mg L⁻¹) en la inducción de callos

Concentración	Porcentaje de callos	Textura del callo	Color del callo
0.0	0.0	---	---
0.5	80	Compacto	Crema
1.0	100	Compacto	Crema
1.5	100	Compacto	Crema
2.0	100	Compacto	Café
2.5	100	Compacto	Café

Fuente: Adaptado de Patricia et al. (2021).

Phaseolus vulgaris L.

Mejor conocido como frijol común, se cultiva en diversas partes del mundo, aunque es originaria de América Central y del Sur. La variedad de este se clasifica en arbustivas y trepadoras de acuerdo con su crecimiento. Se considera como planta medicinal ya que su consumo a largo plazo puede reducir la aparición de enfermedades coronarias y diabetes tipo 2. Además, puede evitar el retraso del crecimiento en niños desnutridos (Abera et al., 2020; Yu et al., 2021).

La aplicación de la organogénesis en *P. vulgaris*, se analiza utilizando semillas maduras de frijol, lisas y sin enfermedades, obtenidas del Laboratorio de Horticultura del Instituto de Investigación de Cultivos Agrícolas de la Universidad de Heilongjiang. Para organogénesis directa se inocularon explantes en medio MS, adicionado con BAP, sacarosa, agar y carbón activado. Para organogénesis indirecta se utilizó inductor de callos, adicionado con TDZ, sacarosa, agar y carbón activado. Para la formación de callos en este método, los explantes se inocularon en medio MS con vitaminas B5 (MSB5) suplementado con BAP durante 6 semanas. Después de 12 semanas se transfirieron los callos a un nuevo medio MSB5, luego fueron inoculados para enraizar. El proceso de organogénesis en esta especie se constituyó de diferentes fases y explantes (Figura 3). Se encontró que en la organogénesis directa los explantes fueron estimulados por BAP, lo que provocó que los tejidos se agrandaran y dividieran, sin embargo, no se pudo inducir la formación de brotes. La organogénesis indirecta demostró diferentes formaciones de callo, y el número de brotes aumentó con BAP. La formación de callos fue variada, dependiendo de los medios de inducción. Además, en la organogénesis indirecta los brotes de callos podían generar raíces con mayor facilidad (Yu et al., 2021).

Allium sativum L.

El ajo es una planta que se cultiva a gran escala en muchas partes del mundo desde hace muchos años. Se trata de una hortaliza medicinal con efectos en el tratamiento de enfermedades como hipertensión, colesterol, así como la reducción del nivel de glucosa en la sangre. Se ha demostrado que tiene efectos antivirales, pues su extracto puede tratar el herpes simple, de la gripe B y parainfluenza. Así mismo, se considera como la especie vegetal más eficiente en el tratamiento de infecciones bacterianas (Magrys et al., 2021).

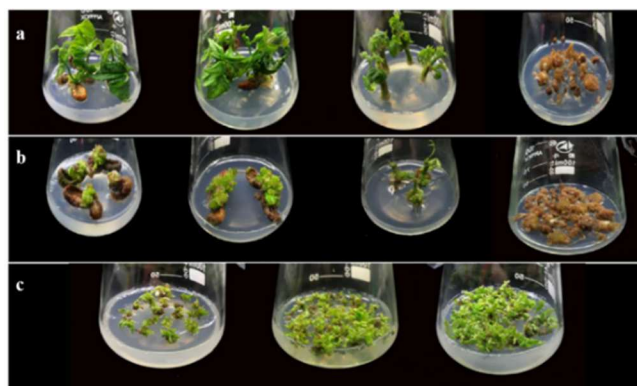


Figura 11. Fases de regeneración del frijol común. a) cuatro explantes diferentes en la formación de brotes, b) explantes en la formación de callos, c) brotes formados a partir de callos. Fuente: Adaptado de Yu et al. (2021).

En el estudio de Wen et al. (2020), se recolectaron inflorescencias de ajo de determinada longitud, las cuales se lavaron con agua, se desinfectaron con alcohol etílico y se sumergieron en hipoclorito de sodio. Seguidamente se inocularon cuatro explantes por cada 40 ml de medio contenidos en frascos de vidrio. Los explantes fueron cultivados en 3 tipos de medios: Murashige y Skoog (MS), Gamborg (B₅) y Linsmaier y Skoog (LS) suplementados. Se encontró que la regeneración de plántulas se vio altamente influenciada por el genotipo del explante y la composición del medio. Los porcentajes de regeneración de brotes de acuerdo con el tipo de medio y pH fueron variados (Tabla 4). El porcentaje de regeneración en los tres tipos de medio fue satisfactorio, y el valor del pH en un rango de 6 a 7.5 no generó variaciones significativas. El medio B₅ a un pH de 7 fue el que proporcionó un mayor porcentaje con el 97.1 %.

Tabla 11. Porcentaje de brotes de acuerdo al tipo de medio y pH

Tipo de medio	Regeneración de brotes (%)	Valor de pH	Regeneración de brotes (%)
MS	96.7	6.0	91.7
LS	88.8	6.5	95.0
B ₅	97.1	7.0	98.9
---	---	7.5	91.1

Fuente. Adaptado de Wen et al. (2020)

Saussurea costus (Falc.) Lipsch

Comúnmente conocida como Kuth, de la familia *Compositae* (*Asteraceae*) es una hierba perenne robusta del Himalaya occidental, distribuida en India y Pakistán. Es una especie endémica usada en la medicina tradicional china, tibetana y ayurvédica. Tiene un olor aromático fuerte y dulce con sabor amargo. Se utiliza como antiséptico, así como para tratar el asma bronquial, particularmente del tipo vagotónico. Sirve para el tratamiento de la inflamación de los pulmones, la tos, el resfriado, las úlceras, el reumatismo y se dice que su aceite es eficaz contra la lepra (Sharma et al., 2018).

En el estudio de Sharma et al. (2018), se recolectaron semillas de *S. costus* para el desarrollo del material de explante. De las plántulas resultantes se extrajeron puntas de brotes, que fueron cultivados en medio MS suplementados

con TDZ, BAP, IAA y NAA en diferentes concentraciones. Posteriormente, los microbrotes fueron trasladados a un nuevo medio MS suplementado con otras concentraciones de nuevos inductores, para después ser nuevamente transferidos y multiplicados en un nuevo medio. Los nuevos brotes formados serían los destinados al enraizamiento en macetas de plástico con una combinación de sustratos: mientras que los brotes extraídos de puntas de plántulas mostraron regeneración directa en un periodo de 4 a 5 semanas, aunque estos variaron de acuerdo con las concentraciones de los suplementos del medio. Los reguladores de crecimiento mostraron gran influencia en todo el proceso de regeneración, tanto en la inducción de yemas como en la proliferación de brotes. En el enraizamiento se determinó que IBA con concentración 2.46 μM fue el mejor medio, seguido de NAA que tuvo menor rendimiento, el porcentaje de supervivencia en la aclimatación de las plántulas enraizadas fue de 61.67 % (Tabla 5).

Tabla 12. Efecto de la combinación de medio MS con reguladores de crecimiento en el enraizamiento

Composición del regulador del crecimiento (μM)		Porcentaje de raíces	Número promedio de raíces	Longitud de raíces (cm)
IBA	NAA			
Control	Control	0.00	0.00	0.00
1.23		55.56	5.60	2.77
2.46		77.78	6.00	3.07
4.92		44.4	4.80	2.13
7.38		22.22	2.20	1.25
9.84		0.00	0.00	0.00
	1.34	13.33	1.83	1.00
	2.68	20.00	2.20	1.67
	5.37	26.67	3.00	2.25
	8.05	6.67	1.00	1.25
	10.74	0.00	0.00	0.00

Fuente: Adaptado de Sharma et al. (2018).

Pogostemon cablin Benth

Conocida de manera popular como Pachuli, es una herbácea arbustifera de la familia de las *Lamiáceas*, nativa de las zonas tropicales de Asia y apreciada por su potencial medicinal, así como en la industria del perfume. Tiene un efecto restrictivo sobre los dermatofitos junto con un fuerte efecto inhibidor sobre varios patógenos, por lo que es una alternativa para el tratamiento como neumonía y la meningitis crónica causadas por diversos tipos de infecciones (Lalthafamkimi et al., 2020).

El método de organogénesis aplicado por Lalthafamkimi et al. (2020) en *P. cablin*, consistió en recolectar hojas tiernas y brotes sanos de plantas ubicadas en el jardín del campus CSIR-NEIST de la India. Estas fueron lavadas, esterilizadas y posteriormente cortadas en tamaños uniformes. Los cortes extirpados se cultivaron en medios MS suplementados con diferentes concentraciones de citoquininas con el fin de inducir yemas. Los cultivos se monitorearon y transfirieron a otros medios de cultivo hasta enraizar, para posteriormente plantarlas en tierra y arena y mantenerlas en condiciones de invernadero. Se encontró que la citoquinina meta-Topolina

(mT) con concentración de 1.0 mg/l, genera una respuesta de propagación del 95%, la cual es mayor en comparación con los porcentajes de citoquininas como BAP y KN. De igual forma se demostró que, los explantes cultivados en medio MS sin suplementar no mostraron crecimiento. Esto confirma que, para la propagación de *P. cablin*, se requieren inductores de crecimiento y el mejor es mT.

Efectividad del método de organogénesis

Hubo variación en los resultados de los diferentes métodos empleados en cada una de las ocho especies descritas. En *T. serpyllum* se detectaron problemas relacionados con pardeamiento y contaminación que pudieron ser resueltos, y a pesar de que las plantas sometidas a condiciones ambientales murieron, las que fueron plantadas en condiciones controladas sobrevivieron en su mayoría. Esto hace necesario la obtención de un método replicable, ya que se reporta como el primer estudio de micropropagación en esta planta (Khajuria et al., 2020).

S. viarum (de ambos genotipos) a diferencia de *T. serpyllum*, tuvo una mejor respuesta en el proceso, pues no se reportó un problema durante el mismo. Además, las plántulas regeneradas tuvieron mayor capacidad de adaptación en condiciones de invernadero (Pandey et al., 2020). De igual forma, *L. revoluta*, tuvo una buena respuesta en el proceso de organogénesis, aunque el porcentaje de efectividad del método dependía de los inductores suplementados en el medio. En esta planta, se evaluaron dos métodos para su propagación, la organogénesis y la embriogénesis y, de acuerdo a los resultados del estudio analizado, la embriogénesis resultó ser mejor, por lo que se recomienda en *L. revoluta* (Haque et al., 2020).

Por otro lado, en *M. whitei*, no se presentaron problemas significativos. Se observó principalmente variaciones en los porcentajes de regeneración debido a la concentración de los medios fortificados. Sin embargo, se encontró una aclimatación favorable de las plántulas, lo que sugiere que la planta puede regenerarse y domesticarse mediante la replicación del método utilizado en la investigación presentada (Patricia et al., 2021). En *P. vulgaris* y *A. sativum* se tuvieron respuestas similares. Se encontró que los explantes de ejes embrionarios en *P. vulgaris* (frijol común) son ideales para mejorar su regeneración, al igual que las inflorescencias en *A. sativum* (ajo). En ambas especies se logró determinar un método que favorece mayor regeneración, no obstante, se sugiere repetir y mejorar los experimentos con el objetivo de establecer un método definitivo que sea capaz de replicarse muchas veces sin generar variaciones en los resultados, esto debido a que ambas plantas son importantes y tienen muchas aplicaciones (Wen et al., 2020; Yu et al., 2021).

En *S. costus* no se encontraron obstáculos mayores, más que la variabilidad de regeneración de acuerdo a la concentración de inductores y la composición del medio. A pesar de ello se

confirma una eficiente regeneración de *S. costus* (Sharma et al., 2018). Así mismo en *P. cablin*, no hubo problema o limitación durante el procedimiento, sino que se observó regeneración abundante de brotes y la supervivencia de las plántulas en condiciones modificadas (Lalthafamkimi et al., 2020).

La efectividad de los métodos se debe en gran parte de los tipos de explantes utilizados en el estudio. El explante más adecuado para la regeneración vía organogénesis depende de la especie vegetal y del objetivo del experimento, no obstante, muchos estudios han reportado que los explantes como la raíz e hipocótilos son materiales excelentes para la iniciación de organogénesis en comparación con tejidos como las hojas.

La fitohormona citoquinina ha sido conocida como un regulador principal del desarrollo de las plantas durante más de seis décadas. En la regeneración de brotes *in vitro*, las citoquininas son los principales candidatos para la señal que determina la identidad del brote (Smeringai et al. 2023).

La inducción de la organogénesis en los diferentes tipos de explantes generalmente se logra mediante reguladores de crecimiento, normalmente auxina en combinación citoquinina. El inductor citoquinina utilizado con mayor frecuencia en las investigaciones es de tipo convencional, mientras que el menos utilizado es de tipo aromático (Figura 4).

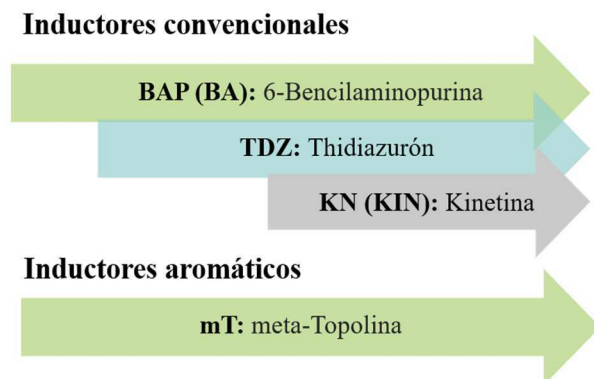


Figura 12. Inductores convencionales y aromáticos utilizados en las investigaciones.

En cada una de las investigaciones analizadas, se identificaron los distintos requerimientos de los medios de cultivo, de los procesos de producción y aclimatación, y otros aspectos cruciales. Estos requisitos variaron significativamente dependiendo del tipo y la especie de planta. Además, se concluye que cada especie de planta reaccionó de manera única a los diferentes métodos y condiciones experimentales, lo que produjo resultados específicos y particulares para cada una de ellas. Esto resalta la importancia de tener un entendimiento detallado de las características y necesidades de cada especie de planta, para poder adaptar y optimizar los métodos y condiciones de propagación.

Aplicaciones de la organogénesis

La organogénesis se ha utilizado para la clonación de individuos vegetales con características agronómicas deseables, la obtención de plantas libres de virus y la producción de semillas sintéticas. En tiempos recientes se ha prestado mayor atención al estudio de los taxones de *Thymus*. El riesgo creciente de extinción de la naturaleza y la necesidad de una producción rápida de material vegetal para fines comerciales han impulsado el desarrollo de técnicas de cultivo de tejidos vegetales para propagar y mantener las plantas *in vitro* (Tsoktouridis et al., 2019). La investigación en *T. serpyllum* es uno de los primeros informes sobre esta planta, lo que significa que se puede utilizar para la regeneración *in vitro* a gran escala con fines comerciales (Khajuria et al. 2020). Se ha observado que los segmentos basales en *S. viarum* tienen una capacidad de regeneración superior, lo que sugiere que la organogénesis en esta planta puede ser útil para la investigación de transformación genética y edición de genes (Pandey et al., 2020).

La buena productividad observada en el proceso de embriogénesis de *L. revoluta* sugiere que el método podría aplicarse en la producción a gran escala e independiente de la temporada del año. El estudio en *M. whitei* resultó favorable, aunque el método aplicado permanece abierto a modificaciones que permitan mayores frecuencias de regeneración de yemas y, por lo tanto, mejorar la producción en masa (Haque et al. 2020; Patricia et al., 2021).

En *P. vulgaris* y *A. sativum* el método de organogénesis del estudio fue altamente eficiente, por lo que se puede emplear para la propagación masiva del ajo y frijol común, así como otras variedades de esta última. De igual forma, sería una manera de disminuir la transformación genética (Yu et al., 2021; Wen et al., 2020).

El estudio en *S. costus* puede funcionar como medio alternativo de propagación para conservar esta planta medicinal, para la producción masiva y para estudios de transformación genética. Por último, la investigación en *P. cablin*, afirma que en esta planta el método tiene una tasa de regeneración alta, misma que se puede ampliar para la utilización disponible del germoplasma de las especies de plantas medicinales aromáticas (Sharma et al., 2018; Lalthafamkimi et al., 2020).

Las especies descritas poseen usos medicinales variados, sin embargo, diferentes problemas limitan su uso con amplitud y facilidad. El método de organogénesis se puede considerar como una solución ante tales problemas, y los resultados de su aplicación en especies vegetales específicas tienen aplicaciones comerciales e industriales que promueven el uso de dichas especies (Figura 5).

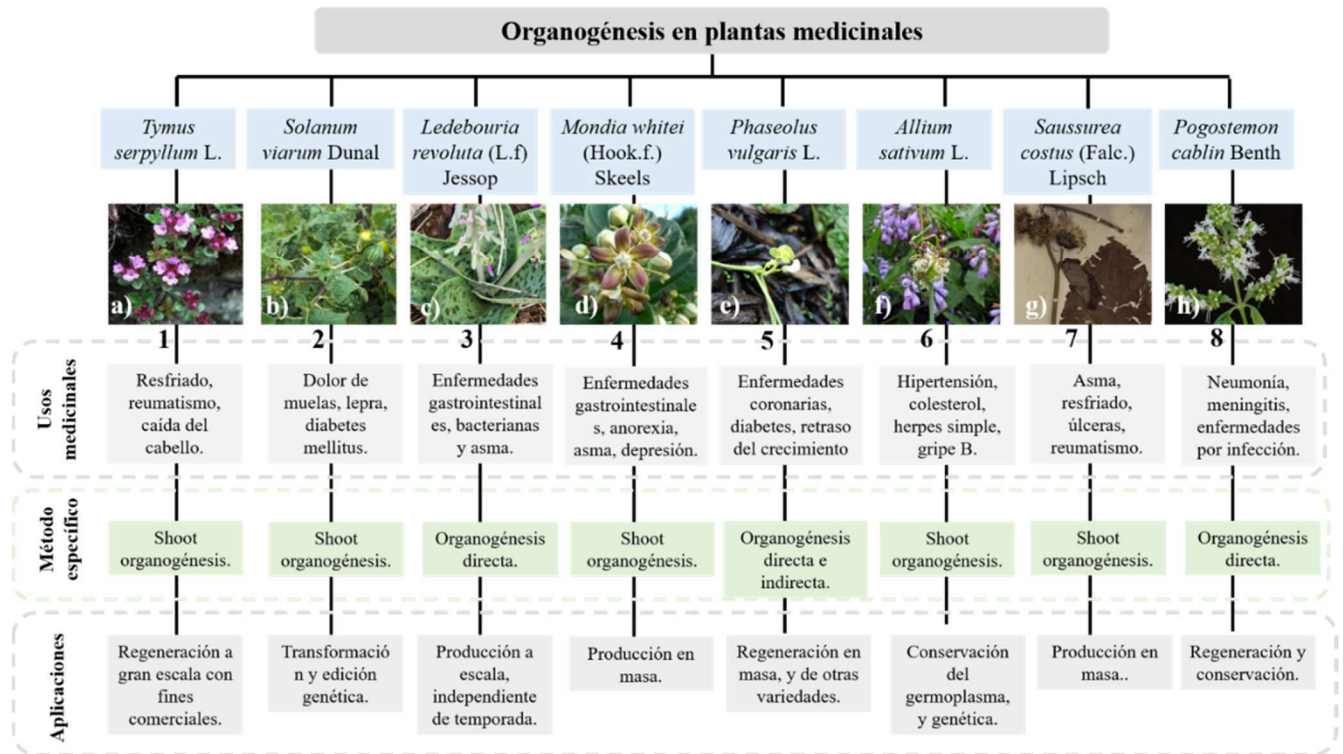


Figura 13. Plantas medicinales seleccionadas, usos medicinales, método específico de organogénesis y aplicaciones de dicho método. Fuente: Khajuria et al. (2020)¹; Pandey et al. (2020)²; Haque et al. (2020)³; Patricia et al. (2021)⁴; Yu et al. (2021)⁵; Wen et al. (2020)⁶; Sharma et al. (2018)⁷; Lalthafamkimi et al. (2020)⁸. Fotos obtenidas de Sistema Global de Información sobre Biodiversidad (GBIF). Acceso 27/10/2023. a) Vaernes (2007); b) De Somer (2017); c) Brown (2002); d) Baumann (2006); e) Braathen (2021); f) Hagström (2023); g) Royal Botanic Gardens (s.f.); h) Smithsonian Institution, NMNH, Botany (s.f.).

CONCLUSIONES

La organogénesis implica la regeneración de tejidos a partir de células individuales o grupos de células en un medio de cultivo, lo cual pudo efectuarse en la mayoría de las especies descritas. Las variaciones en la respuesta de la organogénesis se debieron al tipo de explante utilizado y al enriquecimiento del medio de cultivo con inductores como auxinas y citoquininas. No se puede establecer con certeza un explante e inductores específicos, pues esto depende de la planta y su forma de desarrollo. La efectividad de la organogénesis a escala de laboratorio no garantiza la adaptación de las plantas en condiciones ambientales o de campo, sin embargo, un alto porcentaje cultivado con estas condiciones sobrevive. La aplicación de los métodos de organogénesis directa, indirecta y shoot organogénesis, puede impulsar nuevas investigaciones enfocadas al mejoramiento y modificación de los métodos ya establecidos o el establecimiento de nuevos para otras especies. No obstante, resulta necesario la colaboración de otras disciplinas que puedan ayudar a conservar la fidelidad clonal, la resistencia ante plagas u otras posibilidades de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abera, B., Berhane, M., Nebiyu, A., Ruelle, M. L., McAlvay, A. C., Asfaw, Z., Tesfaye, A., y Woldu, Z. (2020). Diversity, use and production of farmers' varieties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae) in

southwestern and northeastern Ethiopia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67(2), 339-356. <https://doi.org/10.1007/s10722-019-00877-4>

Dharman, A. K., y Anilkumar, M. (2021). Micropropagation through indirect organogenesis in *Solanum capsicoides* all., and assessment of clonal fidelity using ISSR markers. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 57(3), 481-492. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10145-1>

Deepak, K., Ivin, J. J. S., Narayanan, G. S., Prakash, M., Murugan, S. B., y Anandan, R. (2019). Efficient plant regeneration and histological evaluations of regenerants through organogenesis and somatic embryogenesis in *Spermacoce hispida* L. - An underutilized medicinally important plant. *Industrial Crops and Products*, 134, 292-302. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.067>

Haque, S. M., Chakraborty, A., y Ghosh, B. (2018). Callus mediated shoot organogenesis and regeneration of cytologically stable plants of *Ledebouria revoluta*: an ethnomedicinal plant with promising antimicrobial potency. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 645-651. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.05.002>

Haque, S. M., y Ghosh, B. (2020). Productive method for commercial propagation through direct embryogenesis and organogenesis in *Ledebouria Revoluta* - an underutilized medicinal plant with cardioprotective properties. *Industrial Crops and Products*, 157, 112941. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112941>

- Khajuria, A. K., Bisht, N. S., y Bhagat, N. (2020). In vitro organogenesis and plant regeneration of *Thymus serpyllum* L.: an important aromatic medicinal plant. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 56(5), 652-661. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10094-9>
- Kong, E. Y. Y., Biddle, J., Foale, M. A., Panis, B., y Adkins, S. W. (2021). The potential to propagate coconut clones through direct shoot organogenesis: a review. *Scientia Horticulturae*, 289, 110400. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110400>
- Lalthafamkimi, L., Bhattacharyya, P., Bhau, B. S., Wann, S. B., y Banik, D. (2020). Direct organogenesis mediated improvised mass propagation of *Pogostemon cablin*: a natural reserve of pharmaceutical biomolecules. *South African Journal of Botany*, 140, 375-384. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.018>
- Magrys, A., Olender, A., y Tchórzewska, D. (2021). Antibacterial properties of *Allium sativum* L. against the most emerging multidrug-resistant bacteria and its synergy with antibiotics. *Archives of Microbiology*, 203(5), 2257-2268. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02248-z>
- Manjkhola, S., Dhar, U., y Joshi, M. (2005). Organogenesis, embryogenesis, and synthetic seed production in *Arnebia euchroma* - A critically endangered medicinal plant of the Himalaya. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 41(3), 244-248. <https://doi.org/10.1079/ivp2004612>
- Martin, K. P. (2002). Rapid propagation of *Holostemma adakodien* schult., a rare medicinal plant, through axillary bud multiplication and indirect organogenesis. *Plant Cell Reports*, 21(2), 112-117. <https://doi.org/10.1007/s00299-002-0483-7>
- Mitrofanova, I., Ivanova, N., Kuzmina, T., Mitrofanova, O., y Zubkova, N. (2021). In vitro regeneration of clematis plants in the Nikita Botanical Garden via somatic embryogenesis and organogenesis. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.541171>
- Pandey, S., Patel, P., Prasad, A., Sawant, S. V., y Misra, P. (2020). Assessment of direct shoot organogenesis and genetic fidelity in *Solanum viarum* Dunal - a commercially important medicinal plant. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 56(4), 538-547. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10073-0>
- Patricia, D., Stephen, B., y John, A. (2021). Shoot organogenesis from leaf discs of the African ginger (*Mondia whitei* (Hook.f.) skeels), an endangered medicinal plant. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 57(3), 493-498. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10146-0>
- Sharma, S., Sharma, R., Sharma, P., Thakur, K., y Dutt, B. (2018). Direct shoot organogenesis from seedling derived shoot tip explants of endangered medicinal plant *Saussurea costus* (Falc.) lipsch. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 89(2), 755-764. <https://doi.org/10.1007/s40011-018-0983-z>
- Smeringai, J., Schrumpfová, P., y Pernisová, M. (2023). Cytokinins—regulators of *novo* shoot organogenesis. *Frontiers in Plant Science*, 14(239133), 1-15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1239133>
- Süntar, İ. (2019). Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: Role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews*, 19(5), 1199-1209. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09629-9>
- Teka, A., Asfaw, Z., Demissew, S., y Van Damme, P. (2020). Medicinal plant use practice in four ethnic communities (Gurage, Mareqo, Qebena, and Silti), south central Ethiopia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00377-1>
- Tsoktouridis, G., Krigas, N., Sarropoulou, V., Kampouroupoulou, S., Papanastasi, K., Grigoriadou, K., Menexes, G., y Maloupa, E. (2019). Micropropagation and molecular characterization of *Thymus Sibthorpii* Benth. (Lamiaceae), an aromatic-medicinal thyme with ornamental value and conservation concern. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 55(6), 647-658. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-10000-y>
- Wen, Y., Liu, X., Liu, H., Wu, C., Meng, H., y Cheng, Z. (2020). High-frequency direct shoot organogenesis from garlic (*Allium sativum* L.) inflorescence and clonal fidelity assessment in regenerants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 141(2), 275-287. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01785-7>
- Yu, Y., Liu, D., Liu, C., Yan, Z., Yang, X., y Feng, G. (2021). In vitro regeneration of *Phaseolus vulgaris* L. via direct and indirect organogenesis. *Plant Biotechnology Reports*, 15(3), 279-288. <https://doi.org/10.1007/s11816-021-00681-6>