

CAPÍTULO I:

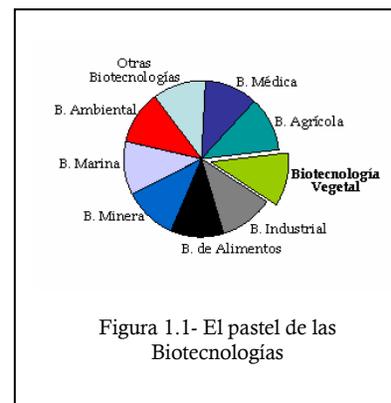
INTRODUCCIÓN

## 1 UNO

## ¿QUÉ ES EL CULTIVO DE CÉLULAS, TEJIDOS Y ÓRGANOS VEGETALES?

Para arribar a una definición simple y para entender la razón de ser del cultivo de células, tejidos y órganos vegetales es preciso tener presente que se trata de una disciplina perteneciente a la **Biotecnología**, en particular de aquella que tiene como objeto de estudio a las plantas, es decir, la biotecnología vegetal. Aunque muchas de las aplicaciones de dicha rama biotecnológica son en el campo de la agricultura, también sirve en otras áreas como la industria farmacéutica, de alimentos, de colorantes, etc.

Como puede verse en la figura 1.1 existen muchos campos de trabajo en biotecnología, por lo que es mejor referirse en plural a ellas: las biotecnologías. Por su parte la biotecnología vegetal o biotecnología de plantas se refiere a una serie de métodos y estrategias que hacen uso de organismos del reino vegetal<sup>1</sup> o partes de ellos para hacer o modificar un producto.



Ejemplos de productos de esta disciplina son los siguientes: un metabolito secundario producido por raíces transformadas con aplicación farmacéutica; una planta con resistencia viral obtenida mediante ingeniería genética; plantas genéticamente uniformes obtenidas por propagación masiva *in vitro*; microtubérculos obtenidos por tuberización *in vitro*; entre muchos otros. Siendo tan variadas las áreas de aplicación se necesitan varias herramientas en biotecnología vegetal, una de ellas es llamada Cultivo de Células, Tejidos y Órganos Vegetales. Es importante señalar que en la mayoría de las ocasiones –por facilidad– se la llama simplemente **Cultivo de Tejidos Vegetales**.

<sup>1</sup> Aunque la clasificación actual de los seres vivos se divide en “dominios”, las plantas y todos los organismos eucarióticos que fotosintetizan pertenecen al Reino Vegetal (Dominio *Eukarya*).

Podemos definir entonces –de la manera más sencilla y generalizada- al cultivo de tejidos vegetales como una herramienta de la biotecnología vegetal que aísla partes de una planta y las hace crecer en un medio de cultivo artificial *in vitro* en condiciones de asepsia para obtener metabolitos, tejidos, órganos o plantas completas.

Por supuesto, se pueden hacer precisiones a esta definición amplia dado que existe un sinnúmero de variantes en cultivo de tejidos vegetales. A continuación se explicarán algunos conceptos importantes para entender a cabalidad la definición previa. Los conceptos críticos probablemente sean: *in vitro*, medio de cultivo artificial, explante y condiciones de asepsia.

### ¿Qué significa *in vitro*?

Reiteradamente se menciona este concepto en los reportes de biotecnología de plantas como una forma de indicar que las plantas o partes de plantas estudiadas fueron cultivadas dentro de un contenedor de vidrio (del latín *in*: adentro, *vitro*: vidrio), es decir, en un frasco de vidrio, en una placa Petri, en un matraz Erlenmeyer, etc. La utilización del término ayuda a entender que las plantas no fueron estudiadas en la naturaleza o en el campo, para lo cual se utiliza el término *in situ* (en el sitio).

Este concepto es flexible, ya que desde hace unas décadas –en muchos casos- se ha sustituido el vidrio de los utensilios de laboratorio por otros materiales igualmente eficientes, como el plástico, el polipropileno, el poliestireno, entre otros, todos total o parcialmente transparentes; cuando se utilizan contenedores de estos materiales para cultivo artificial, también se les nombra medios *in vitro*. Algunos ejemplos de estos

#### RECUADRO 1

##### Ejemplo puntual: Producción de microtubérculos de papa

La papa (*Solanum tuberosum*) se encuentra entre los productos agrícolas más importantes a nivel global. Aunque los cientos de variedades de papa son nativas de los altos americanos, especialmente del Alto Perú, actualmente se cultivan en todo el mundo.

Existen factores biológicos y agronómicos que limitan la producción de este cultivo. Las enfermedades bacterianas y fungosas, particularmente el Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*), incrementan los costos de producción al tener que utilizar una gran cantidad de fungicidas; cuando no se controla la enfermedad la cosecha puede perderse hasta en un 100%. El principal método por el que se propaga la papa es el vegetativo, lo cual se logra sembrando los tubérculos enteros o seccionados directamente al suelo –a estos tubérculos se les llama papa-semilla. También es posible propagar la planta a través de la vía sexual haciendo almárgicos de semillas verdaderas (llamada semilla-botánica); este último método es eficiente, pero demandante de mayor tiempo y labor, por lo que casi no se utiliza.

La papa-semilla proveniente de una plantación infectada por el Tizón Tardío o por cualquier otro patógeno, contiene propágulos del agente infeccioso. Esto ocasiona que los nuevos sembradíos tengan alta probabilidad de contaminación. Para solucionar la problemática se opta por la siembra de papa-semilla certificada proveniente de parcelas limpias especialmente dedicadas a tal fin; sin embargo, el costo se eleva. Otra alternativa es el uso de microtubérculos producidos *in vitro*.

Esta biotecnología consiste en el cultivo de nudos de plantas jóvenes en medios con alto contenido de azúcares (6-8% de sacarosa), con citoquinina (2-10ppm) y en oscuridad. No hay desarrollo de la planta, sino de las raíces y por lo tanto de micropapas.



La microtuberización presenta ventajas relacionadas con su fácil almacenamiento, alta calidad fitosanitaria, conveniencia para el transporte; además los microtubérculos no requieren pasar por una etapa de aclimatación previa a su siembra en campo.

contenedores son los frascos Magenta®, Phytakon® y PhytaTray® (Figura 1.2). Otra característica del medio *in vitro* es que se trata de contenedores cerrados que sólo permiten el paso del aire, por ejemplo: a los matraces Erlenmeyer se les coloca un tapón de algodón y gasa, o a las placas Petri se les sella con cinta autoadhesiva de PVC o con cinta Parafilm®. Una cuestión importante a tener en cuenta en la nomenclatura que se ha de aplicar a las plantas micropropagadas es que una vez que las plantas han salido de la fase *in vitro* (aclimatación y crecimiento inicial en invernadero y vivero) se dice que han entrado a la etapa *ex vitro*, *extra vitrum* o *post vitro*, y se les llama vitroplantas; no obstante cuando salen finalmente al campo o la naturaleza están nuevamente en condiciones *in situ*.



Figura 1.2.- Fotografías de distintos contenedores utilizados para el cultivo *in vitro* de plantas.

### Medios de cultivo artificiales.

Es bien conocido que las plantas *in situ* necesitan de varios factores para su crecimiento y desarrollo. A continuación se enlistan algunos de ellos:

- Soporte. Proporcionado por el suelo, las piedras (plantas litofíticas) u otras plantas (plantas epífitas neutralistas y parásitas).
- Agua. La cual es obtenida de la solución del suelo o directamente de la lluvia en el caso de las plantas epífitas, p. ej. las orquídeas y las bromelias<sup>2</sup>.
- Nutrimientos. Estos pueden dividirse en minerales (macro y microelementos), esenciales (carbono, hidrógeno y oxígeno); los primeros son tomados de la

<sup>2</sup> La mayoría de las plantas epífitas de la familia *Bromeliaceae* captan y almacenan agua en estructuras llamadas "tanques".

solución del suelo y los últimos del aire (por lo que también se les llama atmosféricos) y del agua.

- Aire. Este proporciona principalmente oxígeno para la respiración celular y CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) para la síntesis de enlaces carbono-carbono de los precursores de azúcares durante la fotosíntesis.
- Condiciones ambientales adecuadas. En el aspecto macroambiental requieren de cierta intensidad luminosa, fotoperíodo y temperatura, mientras que en el nivel microambiental necesitan rangos particulares de pH, de potencial redox, de intercambio iónico, así como de la interacción con seres vivos simbióticos, como los microorganismos.

Por lo tanto, un medio de cultivo artificial debe proveer a la planta estos elementos en cantidad y calidad adecuadas. De esta forma, los medios nutritivos utilizados en cultivo de tejidos vegetales contienen:

1. Sustancias nutritivas: sales minerales –macro y micronutrientes; además una fuente de carbono (usualmente sacarosa) para soportar una tasa de crecimiento elevada y debido a que los tejidos vegetales *in vitro* no cuentan con un sistema fotosintético bien desarrollado, es decir, son parcialmente heterótrofos.
2. Promotores del crecimiento: aminoácidos, vitaminas del complejo B y fitoreguladores (principalmente de tipo auxinas y citoquininas). La necesidad de

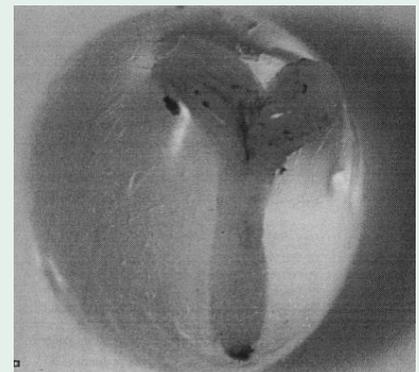
RECUADRO 2

**Ejemplo puntual: Producción de semillas sintéticas de *Sphatoglottis plicata* (Orchidaceae)**

Las orquídeas representan a uno de los grupos de plantas más importantes en la floricultura internacional, ya que desde hace cientos de años existe gran tradición en su cultivo, sobretodo en Europa, aunque actualmente existen empresas dedicadas a la producción de orquídeas de corte y plantas en maceta en muchas partes del mundo. Como todas las plantas de la familia botánica Orchidaceae, la *Sphatoglottis plicata* produce miles y hasta millones de pequenísimas semillas cada año. Sin embargo, sólo algunas de ellas germinan en condiciones de campo, ya que la semilla es incompleta: sólo posee un proembrión de unas cuantas células y sin endospermo para nutrirse; necesita de la asociación simbiótica mutualista con un hongo micorrízico (generalmente del grupo de los deuteromycetes), lo cual es poco probable de darse en la naturaleza, sobretodo porque se ha visto que la asociación es bastante específica, es decir, cada especie de orquídea con una cepa en específico de hongo.

La propagación de *S. plicata* por semillas puede hacerse sólo de manera asimbiótica mediante germinación *in vitro*. Sin embargo, una de las limitantes es la baja habilidad de las vitroplantas resultantes para adaptarse eficientemente a condiciones de campo.

Una alternativa es la encapsulación de semillas en una matriz de alginato cubierta por quitosán, lo cual permite incluir en la cápsula al hongo micorrízico adecuado. De esta manera se favorece la interacción entre los dos organismos y se promueve la germinación y crecimiento inicial. A esta cápsula se le llama semilla sintética o semilla artificial. Se pueden manipular las concentraciones de los polímeros, de manera que la humedad interna sea adecuada para la germinación; la mayoría de los métodos utilizan la gelificación ionotrópica del alginato de sodio por iones de calcio, pero en este caso, el quitosán es un polícatión que provee una cubierta impermeable, evitando la deshidratación de la semilla sintética. Esta tecnología surgió en los 1980's buscando construirle un endospermo artificial a los embriones somáticos obtenidos por cultivo de tejidos, pero se ha ido extendiendo de manera que se pueden encapsular semillas verdaderas, embriones cigóticos, meristemas y puntas de crecimiento.



Además, se pueden añadir a la matriz capsular otras sustancias que promuevan el crecimiento de la plántula, por ejemplo: auxinas / citoquininas o pequeñas cantidades de azúcares. Esta tecnología que relativamente es de bajo costo, está en vías de consolidarse y existe mucho campo para la investigación.

agregar estos componentes se debe a que se manipula el crecimiento y desarrollo, y no basta con los promotores del crecimiento que las mismas células vegetales producen.

3. Soporte inerte: todos los componentes del medio de cultivo están disueltos en agua y generalmente contienen agar o agentes gelificantes sintéticos como el Phytigel® para formar un gel que sirve de soporte al tejido. Por supuesto también se cultivan tejidos vegetales en medios líquidos.
4. Otros ingredientes: se refiere a componentes opcionales –algunos complejos– como el agua de coco, hidrolizado de caseína, extracto de levadura, carbón activado y sustancias naturales diversas.
5. Reguladores microambientales: el medio de cultivo debe ajustarse a un pH adecuado para la especie vegetal que se está cultivando. Lo usual es que sean ligeramente ácidos (5.5 a 6.5). También se debe ajustar el potencial redox en aquellas especies que tienen problemas de oxidación rápida, agregando sustancias como PVP, L-cisteína, ácidos orgánicos quelantes, carbón activado, etc. Para prevenir la precipitación de cationes (como el  $\text{Fe}^{++}$ ) se debe añadir un quelante como el EDTA.

El tipo y concentración de los ingredientes varía de acuerdo al fin buscado, a la especie de planta, al tipo de tejido cultivado y a los fines que se persigan.

### **El explante.**

El concepto de explante se refiere a cualquier parte vegetal que ha sido separada de la planta, que puede ser un tejido (fragmentos de hojas, tallos, raíces, pétalos, etc.), un órgano (semillas, anteras, ovarios, botones florales, hojas y raíces completas, etc.), estructuras como las anteras y los ovarios, o bien células individuales (como en el caso de los protoplastos<sup>3</sup>). Con excepción de los óvulos y el polen, los explantes están constituidos por tejidos y/o células somáticos.

---

<sup>3</sup> Ver Capítulo 5 y Glosario.

El nombre “explante<sup>4</sup>” es una versión castellanizada del vocablo inglés “*explant*”; acuñado especialmente para identificar a los tejidos vegetales cultivados *in vitro* y sin otro significado. La selección del explante es un aspecto clave para tener éxito en el cultivo de tejidos, ya que dependiendo de su ubicación en la planta, del tipo de tejido que contiene, de su edad cronológica y fisiológica, de su contenido endógeno de hormonas, entre otros, se comportará de una manera o de otra.

### **Cultivo aséptico.**

Debido a que las células vegetales presentan largos tiempos de duplicación comparadas con las células microbianas, se hace necesario mantener los cultivos exentos de contaminación por microorganismos. Una sola célula bacteriana puede invadir y matar rápidamente a un tejido cultivado. Adicionalmente, se menciona como una de las ventajas del cultivo de tejidos vegetales la obtención de plantas sanas libres de enfermedades, por lo cual se deben extremar las condiciones de asepsia.

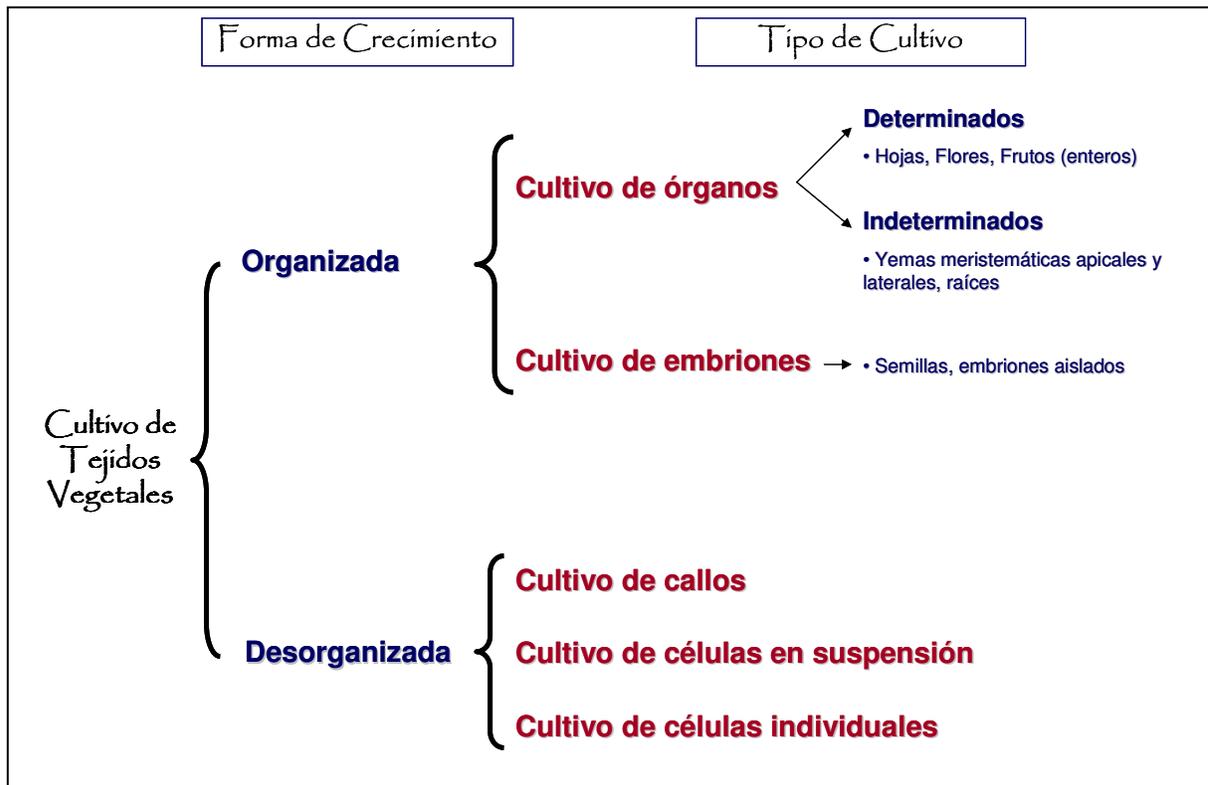
### **TIPOS DE CULTIVO.**

Los tejidos vegetales pueden cultivarse de varias maneras, independientemente de la finalidad buscada. Bajo esta concepción, no se considera a la embriogénesis o a la organogénesis como tipos de cultivo. Así tenemos que se realizan cultivo de tejidos organizados y desorganizados, de células individuales, de órganos, de plantas enteras, etc. En la Figura 1.3 se muestra una clasificación de los tipos de cultivos vegetales *in vitro*, con base en la forma de crecimiento.

Un aspecto importante es que los tipos de cultivo no necesariamente dependen del tejido inicial o explante, ya que no se considera dentro de esta clasificación al cultivo de segmentos de hojas, de raíz, de tallo, etc. Esto se debe a que a partir de cualquier explante se puede hacer cultivo de callos, de células en suspensión o individuales. Se describen los elementos de esta clasificación.

---

<sup>4</sup> También se le puede encontrar en la literatura en español como “explanto”.



**Forma de Crecimiento Organizada.** Se refiere al cultivo de explantes diferenciados (especializados) que continúan su crecimiento *in vitro*, manteniendo su estructura normal<sup>5</sup> durante el tiempo de cultivo. Evidentemente, los explantes que presentan esta forma de crecimiento son los órganos (primordios de frutos, yemas vegetativas, yemas florales, raíces, primordios foliares, etc.), no obstante, cualquier otro tejido (como un fragmento de pétalo) puede dar origen a una forma organizada, como un embrión.

**Forma de Crecimiento Desorganizada.** Como su nombre lo señala, los tejidos que exhiben esta forma de crecimiento *in vitro* no tienen una estructura definida, son amorfos (de aspecto tumoral) y agrupan a células de muchos tipos (alargadas, redondas, isodiamétricas) y tamaños. Los callos celulares muestran crecimiento desorganizado, cuyas células no están bien adheridas entre sí, por lo que muchas veces pueden disgregarse, es decir, presentan friabilidad. Los callos pueden surgir a partir de

<sup>5</sup> Aquel arreglo de tejidos que caracteriza a la especie vegetal en cuestión.

## RECUADRO 3

**Ejemplo puntual: Obtención de plantas transgénicas de tabaco y papaya tolerantes al aluminio**

El aluminio es el metal más abundante de la corteza terrestre, y la mayoría de las plantas son sensibles a concentraciones micromolares de la forma  $Al^{+3}$  de este elemento. En suelos ácidos, como los del trópico, hay un aumento en la solubilización de aluminio a sus formas tóxicas. Debido a que los suelos ácidos comprenden grandes extensiones cultivables en las regiones tropicales (850 millones de hectáreas en la América tropical), la fitotoxicidad por aluminio es un problema importante. Aunque dicho problema fue identificado desde hace más de 70 años, es muy escaso nuestro conocimiento sobre los sitios primarios de toxicidad y sobre la cadena de eventos que conducen a la inhibición del crecimiento de la planta.

No obstante, varios estudios han mostrado la existencia de cierta resistencia natural de algunas especies vegetales hacia los factores adversos del suelo, incluyendo la toxicidad por aluminio. Entre los mecanismos propuestos para explicar la tolerancia al aluminio en las plantas, hay fuerte evidencia que apoya la hipótesis de la exclusión del aluminio de las células de la punta de la raíz, a través de varias vías: a) inmovilización del metal en la pared celular, b) permeabilidad selectiva de la membrana plasmática, y c) exudación de sustancias quelantes de metales, tales como ácidos cítrico y málico. Este último mecanismo es el que más se correlaciona con la tolerancia al aluminio. En experimentos de hidroponía, el citrato ha mostrado ser el agente quelante externo que mejor protege a las raíces vegetales contra los efectos tóxicos del aluminio. El citrato se sintetiza en las mitocondrias de las células vegetales (como parte del ciclo de Krebs), donde es rápidamente convertido a otros compuestos.

Para probar si la sobreproducción de ácido cítrico puede conferir tolerancia al aluminio, en el CINVESTAV-Irapuato se produjeron plantas transgénicas con elevados niveles de la enzima **citrato sintetasa**. Para alcanzar la sobreproducción de citrato, se decidió expresar una citrato sintetasa bacteriana en el citoplasma de las células vegetales. Se escogió el citoplasma para evitar que el citrato fuese convertido en otro compuesto en la mitocondria, y así estuviera disponible para ser excretado.

Se encontró que la presencia de la citrato sintetasa en el citoplasma produce un marcado incremento en la exudación de citrato por las células de la raíz, e incrementa significativamente la tolerancia de las plantas transgénicas al aluminio. Las plantas que se utilizaron fueron tabaco (*Nicotiana tabacum*) y papaya (*Carica papaya*).

cualquier tipo de explante, sobretodo cuando se exponen a altas concentraciones de hormonas del tipo auxínico. En muy pocos casos se presenta en la naturaleza el crecimiento desorganizado, pero algunas veces es causado por el proceso de cicatrización de heridas o por enfermedades como la agalla de la corona, cuyo agente etiológico es la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*.

### Cultivo de órganos.

Existen esencialmente dos tipos de órganos en las plantas: aquellos que tienen un alto grado de especialización y los que modifican su forma y funciones conforme crecen y se desarrollan. Al fenómeno que establece la adquisición de especialización se le llama **determinación**, el cual se basa en la expresión diferencial de genes. Todas<sup>6</sup> las células de una planta poseen la misma carga genética (nuclear, mitocondrial y de plastos), de la cual sólo una parte se expresa constantemente (genes constitutivos que producen proteínas<sup>7</sup> constitutivas o enzimas del metabolismo primario, por ejemplo, la hexoquinasa de la glucólisis); sin embargo, otra parte del genoma se expresa sólo bajo la influencia de ciertos estímulos ambientales. Entendidos éstos no sólo como las condiciones externas a la planta (que ciertamente están involucradas, p. ej. cantidad y calidad de luz, humedad, temperatura, patógenos, plagas, etc.), sino también los que

<sup>6</sup> Son excepciones las células vegetales que han muerto y perdido su citoplasma, como las del xilema o las del esclerénquima (leñosas), y otras que a pesar de ser parte del simplasto o parte viva, no tienen núcleo, como las células cribosas del floema.

<sup>7</sup> Algunos genes son transcritos para producir distintos tipos de ARN que no son traducidos a proteínas, sino que ejercen funciones catalíticas, son parte de los ribosomas, etc.

están presentes en el microambiente inmediato a la célula, como las sustancias producidas por las células vecinas y aún por las más lejanas, las cuales muchas veces son inductores o represores génicos. Existe pues una interacción intrincada ambiente-genoma, bastante –pero no suficientemente- entendida a la fecha. En síntesis, conforme el número celular se incrementa, la interrelación se complica, se van formando tejidos y órganos con patrones de expresión diferenciados unos de otros, es decir, los tejidos y sus células se van diferenciando (adquiriendo una función puntual) o determinando. De este modo, los tejidos tienen encendidos o apagados ciertos *programas genéticos* (grupos de genes). El resultado es que las proteínas no constitutivas o las enzimas del metabolismo secundario – y por lo tanto sus metabolitos- se producen sólo en ciertos tejidos de la planta (p. ej. la enzima ribulosa bifosfato carboxilasa oxigenasa se produce sólo en las hojas y partes fotosintéticas de la planta) o sólo en ciertos momentos del ciclo de vida del vegetal. Por supuesto, existen genes que no se expresan nunca. La determinación es responsable de la diversidad fenotípica de los seres vivos.

Un aspecto importante del fenómeno de la determinación es que impone restricciones al crecimiento de los órganos (limita la división celular), de manera que llegan a tener un tamaño “normal” característico de la especie.

Cuando se cultivan órganos *in vitro*, se debe tener en cuenta el grado de determinación del explante, ya que de esto dependerá el crecimiento y desarrollo exhibidos durante el período de cultivo.

- Órganos determinados. Son ejemplos de éstos los frutos, las flores, las hojas; siempre que se utilice como explante los primordios de ellos, crecerán y se desarrollarán hasta formar órganos típicos, lo cual se debe a que la determinación es un fenómeno epigenético, es decir, que hereda de célula a célula la expresión de los programas genéticos y esto se mantiene durante períodos prolongados de tiempo aún cuando se modifiquen las condiciones de

cultivo. En este sentido, contrasta con los fenómenos fisiológicos, que se suprimen al cambiar las condiciones ambientales.

- Órganos indeterminados. Son ejemplos de éstos los ápices del tallo y ramas, yemas axilares y puntas de raíces; los tres primeros crecerán hasta dar origen a un nuevo tallo completo con hojas y sus propias yemas, y mientras el espacio y los nutrimentos los permitan continuarán su crecimiento de manera indefinida. Igualmente, las raíces se alargarán y producirán raíces secundarias y pelos absorbentes. Cabe aclarar que estos órganos son indeterminados (o más precisamente, poco determinados) desde la planta *in situ*, por lo que el crecimiento mostrado no es producto del cultivo *in vitro*.

### **Cultivo de embriones.**

Se utiliza esta técnica cuando se mantienen en cultivo embriones o embriodes hasta que alcanzan el estado de plántula, es decir, cuando se ha diferenciado por completo la primera hoja y desarrollado el sistema radical. Existen en cultivo de tejidos tres tipos de embriones: aquellos provenientes de la semilla sexual, los que son producto de la apomixis, y los obtenidos por embriogénesis somática. En los dos primeros casos se pueden aislar (extraer) los embriones de las semillas o bien se puede cultivar la semilla entera, en cuyo caso se nombra germinación *in vitro*. Por su parte, los embriones somáticos se originan directamente de un explante o a partir de un callo celular y no están acompañados de cotiledones ni el resto de la semilla.

Una aplicación importante de este tipo de cultivo es el rescate de embriones, ya que algunas cruza interespecíficas no prosperan porque el ovario rechaza al embrión formado y lo aborta, lo cual impide que se puedan obtener híbridos de especies emparentadas; mientras que esta técnica permite rescatar al embrión antes de que sea abortado.

**Cultivo de callos.**

Un callo celular es una masa amorfa de células que puede tener una variedad de colores, aspectos y grado de compactación, entre otras características, sus células están en constante mitosis y no tienen mucha diferenciación.

Regularmente no existen callos en la naturaleza, pero existen casos donde se presentan; la forma más usual de obtenerlos *in vitro* es exponiendo a un explante a altas concentraciones de auxinas. La utilidad de los callos en cultivo de tejidos es también variada, ya que son un paso intermedio en la propagación *in vitro* por embriogénesis somática, pueden utilizarse para producir metabolitos de interés o bien para estudios básicos.

**Cultivo de células en suspensión.**

Derivado de los callos celulares está el cultivo de células en suspensión, el cual se realiza en medio líquido utilizando como inóculo un callo celular, aunque en algunos casos específicos es posible obtener una suspensión de células a partir de un explante recién extraído de la planta. La utilidad más grande de este tipo de cultivo es la producción de metabolitos secundarios importantes, por ejemplo: fármacos, colorantes, aromas, etc.

**Cultivo de células individuales.**

Es posible cultivar células aisladas por completo del tejido de origen y tener un crecimiento parecido al de las colonias microbianas (aunque con una velocidad de reproducción muchas veces menor). Se utiliza este tipo de cultivo cuando se desean lograr líneas celulares clonales o cepas celulares vegetales, las cuales tendrán un grado de pureza muy alto. Otra utilidad es la obtención de protoplastos (células sin la pared celular), para hacer fusión de protoplastos entre distintas especies con el fin de mejorar genéticamente a un cultivo.